



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA
DOUTORADO EM FITOTECNIA

EMANOELA PEREIRA DE PAIVA

GERMINAÇÃO E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM SEMENTES DE CHIA
(*Salvia hispanica* L.) SOB CONDIÇÕES ABIÓTICAS

MOSSORÓ-RN

2017

EMANOELA PEREIRA DE PAIVA

GERMINAÇÃO E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM SEMENTES DE CHIA
(*Salvia hispanica* L.) SOB CONDIÇÕES ABIÓTICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Orientador: Prof. D. Sc. Salvador Barros Torres

MOSSORÓ - RN

2017

EMANOELA PEREIRA DE PAIVA

GERMINAÇÃO E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM SEMENTES DE CHIA
(*Salvia hispanica* L.) SOB CONDIÇÕES ABIÓTICAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Doutora em Agronomia: Fitotecnia.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Sementes

Defendida em: 09/02/2017

BANCA EXAMINADORA



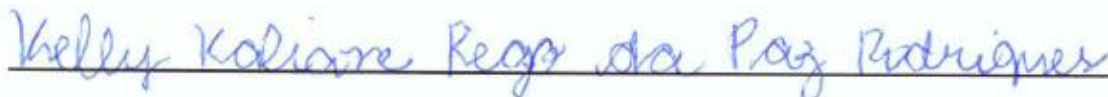
Salvador Barros Torres, Prof. Dr. (EMPARN/UFERSA)
Presidente



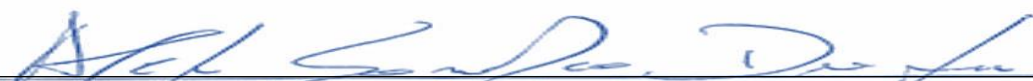
Clarisse Pereira Benedito, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro examinador



Danielle Marie Macedo Sousa, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro examinador



Kelly Kaliane Rego da Paz Rodrigues, Profa. Dra. (UFERSA)
Membro examinador



Alek Sandro Dutra, Prof. Dr. (UFC)
Membro examinador

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

P338g Paiva, Emanoela Pereira de .
GERMINAÇÃO E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS EM SEMENTES
DE CHIA (*Salvia hispanica* L.) SOB CONDIÇÕES
ABIÓTICAS / Emanoela Pereira de Paiva. - 2017.
110 f. : il.

Orientador: Salvador Barros Torres.
Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural
do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Fitotecnia, 2017.

1. Chia. 2. Lamiaceae. 3. Teste de germinação.
4. Estresse hídrico. 5. Estresse salino. I.
Torres, Salvador Barros , orient. II. Título.

*À minha família, minha mãe Maria de Fátima,
meu pai Hildo Cipriano, ao meu esposo Vanies
Sá. Sem vocês não seria possível alcançar mais
essa vitória.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e a Nossa Senhora por tudo, principalmente pelo amor e proteção em todos os momentos da minha vida e da minha família.

A toda a minha família, em especial aos meus pais (Maria de Fátima e Hildo Cipriano), por torcerem e estarem ao meu lado em todos os momentos.

A Vanies Sá, pelo amor, companheirismo, dedicação, por todo o incentivo para realizar meus objetivos. Eu só tenho que agradecer a Deus por ter me presenteado com o teu amor.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao meu orientador Salvador Barros Torres, pelos ensinamentos, pelas orientações, amizade construída, as críticas construtivas que me fizeram crescer muito. Mil vezes muito obrigada!!!

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) e ao programa de Pós-Graduação em Fitotecnia.

Aos bolsistas de iniciação científica Moadir Leite, Jéssica Regiane de Oliveira, Tatianne Alves e Renata Oliveira, tenho muito a agradecer pela ajuda e dedicação nas análises. Vocês com certeza serão excelentes profissionais.

Aos meus grandes amigos desde a graduação para toda a vida, João Paulo Nobre e Daniela Marques, muito obrigada por estarem sempre presentes na minha vida.

A todos os membros da banca examinadora, professoras Clarisse Pereira Benedito, Danielle Marie Macedo Sousa, Kelly Kalliane Rego da Paz Rodrigues e Alek Sandro Dutra, obrigada pela disponibilidade e pelas contribuições.

À família do Laboratório de Análise de Sementes, Francisco César de Góis (Cezôca), Raimundo Nonato Monteiro e Sara Monaliza Costa Carvalho, pela ajuda sempre que requisitada.

À secretária do Pós-graduação em Fitotecnia, Camila Diógenes, por sempre estar disposta a auxiliar no dia a dia dos alunos.

RESUMO

A chia (*Salvia hispanica* L.) é uma espécie que apresenta considerável importância econômica, por estar sendo utilizada como alimento funcional e pela indústria farmacêutica. A padronização do teste de germinação de determinada espécie nos laboratórios de Análises de Sementes, assim como conhecer os fatores que influenciam o seu processo, é de fundamental importância na definição das respostas das espécies aos fatores intrínsecos e extrínsecos à semente. Neste sentido, foram realizados quatro experimentos com sementes de chia, objetivando determinar os procedimentos adequados à condução do teste de germinação e verificar os efeitos do estresse hídrico e salino sobre a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas desta espécie sob diferentes temperaturas. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA, Campus Mossoró - RN). O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições. No primeiro experimento, avaliou-se a influência de dois substratos e seis níveis de umedecimento na germinação de sementes de chia. Para isso, utilizaram-se os substratos papel toalha (Germitest[®]) e papel mata-borrão e seis volumes de água (1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0) vezes a massa do substrato seco. Para o segundo experimento, avaliaram-se os efeitos de diferentes regimes de luz e temperaturas sob a germinação de sementes de *S. hispanica*, utilizando-se três condições de luminosidade (luz constante, escuro constante e alternância luz/escuro com 8 h de luz e 16 h de escuro) e seis temperaturas (20; 25; 30; 35; 20-30 e 25-30 °C). No terceiro experimento, as concentrações salinas avaliadas foram as de 0,0 (controle); 4,5; 9,0; 13,5 e 18,0 dS m⁻¹ e quatro temperaturas: 20, 25, 30 e 20-30 °C. No quarto experimento, avaliaram-se cinco níveis de polietilenoglicol (PEG 6000) (0,0; -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa) e quatro temperaturas (20, 25, 30, 20-30 °C). Em todos os experimentos, foram avaliados o teste de germinação, vigor e bioquímicas de plântulas. O teste de germinação de sementes de *S. hispanica* deve ser conduzido no substrato mata-borrão (sobre papel) com quantidade de água entre 2,5 a 4,0 vezes o peso do substrato seco. As sementes germinadas no papel mata-borrão obtiveram maior germinação crescimento e acúmulo de matéria seca das plântulas de *S. hispanica* comparadas às plântulas germinadas no papel toalha Germitest[®]. O teste de germinação de sementes de *S. hispanica* pode ser conduzido sob temperaturas constante de 25 °C e alternada de 25-30 °C. A germinação das sementes de *S. hispanica* é indiferente à luminosidade (fotoblástica neutra). No entanto, o maior crescimento e acúmulo de massa seca ocorrem na presença de luz. Níveis de salinidade superiores a 4,5 dS m⁻¹, associados às temperaturas de

30 ou 20-30°C, afetam negativamente a germinação, o vigor, o crescimento e os componentes bioquímicos de plântulas. A temperatura de 25 °C proporciona as melhores condições para o desenvolvimento das plântulas de *S. hispanica*. O nível de polietilenoglicol de -0,4 MPa para todas as temperaturas estudadas e -0,3 MPa nas temperaturas de 30 °C e 20-30 °C inviabilizam a germinação e vigor das plântulas de *S. hispanica*, que são capazes de realizar ajuste osmótico sob condições de estresse hídrico até os níveis de -0,3MPa, quando provenientes de sementes germinadas em temperaturas de até 25 °C.

Palavras-chave: Chia. Lamiaceae. Teste de germinação. Substrato. Temperatura. Estresse hídrico. Estresse salino.

ABSTRACT

Chia (*Salvia hispanica* L.) is a species that presents considerable economic importance because it is being used as functional foods and by the pharmaceutical industry. The standardization of the germination test of a particular species in the Laboratories of Seeds Analysis, as well as knowing the factors that influence its process, has fundamental importance in the definition of the responses of the species to the intrinsic and extrinsic factors to the seed. In this sense, four experiments with chia seeds were carried out, aiming to determine the appropriate procedures for conducting the germination test and to verify the effects of water and saline stress on the germination and initial development of the seedlings of this species under different temperatures. The experiments were conducted in the Laboratory of Seed Analysis (LAS) of the Federal Rural Semi-Arid University (UFERSA, Mossoró Campus–RN). The statistical design was completely randomized, with four replications. In the first experiment, the influence of two substrates and six levels of wetting on the germination of chia seeds was evaluated. For this, the paper towel substrates (Germitest[®]) and blotting paper and six volumes of water (1.5; 2.0; 2.5; 3.0; 3.5; 4.0) were multiplied by the dried substrate's mass. For the second experiment, the effects of different light regimes and temperatures under the germination of *S. hispanica* seeds were evaluated using three conditions of light (constant light, dark constant and light / dark alternation with 8 hours of light And 16 h dark) and six temperatures (20; 25; 30; 35; 20-30 and 25-30 °C). In the third experiment, the saline concentrations evaluated were 0.0 (control); 4.5; 9.0; 13.5 and 18.0 dS m⁻¹ and four temperatures: 20, 25, 30 and 20-30 °C. In the fourth experiment, five levels of polyethylene glycol (PEG 6000) (0.0; -0.1; -0.2; -0.3; -0.4 MPa) and four temperatures (20, 25, 30, 20-30 °C). In all the experiments, the germination, vigor and biochemical tests of seedlings were evaluated. The *S. hispanica* seed germination test should be conducted on the blotting substrate (on paper) with the amount of water between 2.5 and 4.0 times the weight of the dry substrate. The seeds germinated in the blotter paper obtained greater germination growth and accumulation of dry matter of the *S. hispanica* seedlings in relation to the germinated seedlings in the Germitest[®] towel paper. The *S. hispanica* seed germination test can be conducted at constant temperatures of 25 °C and alternating 25-30 °C. The germination of the seeds of *S. hispanica* is indifferent to the luminosity (neutral photoblastic), however, the greatest growth and accumulation of dry mass occur in the presence of light. Salinity levels greater than 4.5 dS m⁻¹ associated with temperatures of 30 or 20-30 °C affect negatively germination, vigor, growth and biochemical components of

seedlings. The temperature of 25 °C provides the best conditions for the development of *S. hispanica* seedlings. The level of polyethylene glycol of -0.4 MPa for all temperatures studied, and -0.3 MPa at temperatures of 30 °C and 20-30 °C made the germination and vigor of *S. hispanica* seedlings unfeasible. The *S. hispanica* seedlings are able to perform osmotic adjustment under water stress conditions up to -0.3MPa when coming from germinated seeds at temperatures up to 25°C.

Keywords: Chia. Lamiaceae. Germination test. Substrate. Temperature. Water stress. Saline stress.

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 2

- Gráfico 1** – Percentagem de germinação, PG (A) e tempo médio de germinação, TMG (B) de sementes de *S. hispanica* germinadas nos substratos de papel Germitest® (G) e mata-borrão (MB) em diferentes volumes de água. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....41
- Gráfico 2** – Comprimento da parte aérea, CPA (A), radícula, CR (B), massa seca da parte aérea, MSPA (C), da radícula, MSR (D), total, MST (E) e da relação raiz/parte aérea, RRPA (F) de plântulas de *S. hispanica* L. germinadas nos substratos de papel Germitest® (G) e mata-borrão (MB) em diferentes volumes de água. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....43

CAPÍTULO 4

- Gráfico 1** – Germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de *Salvia hispanica* L., germinadas sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....75
- Gráfico 2** – Comprimento da parte aérea (A) e da radícula (B) de plântulas de *S. hispanica*, sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....77
- Gráfico 3** – Teor de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e de carotenoides totais (C) de plântulas de *S. hispanica*, sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....79
- Gráfico 4** – Teor de aminoácidos livres (A), prolina (B), açúcares solúveis totais (C) e massa seca total, MST (D) de plântulas de *S. hispanica*, germinadas sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....81

CAPÍTULO 5

- Gráfico 1** – Percentagem de Germinação (A), índice de velocidade de germinação (B),

	comprimento da parte aérea-CPA (C) e comprimento da radícula-CR (D) de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000, em diferentes temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	94
Gráfico 2	– Teores de clorofila <i>a</i> (A), clorofila <i>b</i> (B) e carotenoides (C) de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	98
Gráfico 3	– Teores de clorofila <i>b</i> (A) e carotenoides (B) de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.), submetidas a diferentes temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	99
Gráfico 4	– Teores de aminoácidos (A), prolina (B) e açúcares (C) de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000 e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	100
Gráfico 5	– Massa seca total de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	102

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3

Tabela 1	– Germinação de sementes de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	56
Tabela 2	– Tempo médio de germinação de sementes de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	57
Tabela 3	– Valores médios de comprimento da parte aérea de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	58
Tabela 4	– Valores médios de comprimentos radiculares de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	60
Tabela 5	– Massa seca da parte-aérea de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	61
Tabela 6	– Massa seca da raiz de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	62
Tabela 7	– Relação raiz/parte aérea de plântulas de chia (<i>Salvia hispanica</i> L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.....	62

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO	14
1	INTRODUÇÃO GERAL.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	ORIGEM E DESCRIÇÃO DA CULTURA.....	17
2.2	GERMINAÇÃO.....	18
2.3	SUSTRATO E UMEDECIMENTO NA GERMINAÇÃO.....	19
2.4	TEMPERATURA E LUZ NA GERMINAÇÃO.....	21
2.5	ESTRESSE SALINO NA GERMINAÇÃO.....	22
2.6	ESTRESSE HÍDRICO NA GERMINAÇÃO.....	24
	REFERÊNCIAS	26
	 CAPÍTULO 2 - GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CHIA (<i>Salvia hispanica</i> L.) EM DIFERENTES SUBSTRATOS E VOLUMES DE ÁGUA.....	 35
	RESUMO.....	35
	ABSTRACT	36
1	INTRODUÇÃO.....	37
2	MATERIAL E MÉTODOS	39
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4	CONCLUSÕES.....	46
	REFERÊNCIAS	47
	 CAPÍTULO 3 – REGIMES DE LUZ E TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CHIA (<i>Salvia hispanica</i> L.).....	 50
	RESUMO.....	50
	ABSTRACT.....	51
1	INTRODUÇÃO	52
2	MATERIAL E MÉTODOS	54
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4	CONCLUSÕES.....	63

REFERÊNCIAS	64
-------------------	----

CAPÍTULO 4 – GERMINAÇÃO E COMPONENTES BIOQUÍMICOS DE SEMENTES DE CHIA (*Salvia hispanica* L.) SOB DIFERENTES SALINIDADES E TEMPERATURAS

	RESUMO.....	68
	ABSTRACT	69
1	INTRODUÇÃO	70
2	MATERIAL E MÉTODOS	71
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4	CONCLUSÕES.....	82
	REFERÊNCIAS	83

CAPÍTULO 5 - GERMINAÇÃO E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE CHIA (*Salvia hispanica* L.) SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO E TEMPERATURA.....

	RESUMO	87
	ABSTRACT.....	88
1	INTRODUÇÃO	89
2	MATERIAL E MÉTODOS	91
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	94
4	CONCLUSÕES.....	102
	REFERÊNCIAS	103
	ANEXOS.....	107

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL E REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO GERAL

A chia (*Salvia hispanica* L.) é uma planta herbácea que pertence à família das Lamiáceas, da qual também fazem parte hortelã, tomilho, alecrim e orégano (GARCÉZ, 2013). É propagada por sementes, tendo estas consideráveis quantidades de antioxidantes, proteínas, fibra alimentar e ácidos graxos α -linolênico (SANDOVAL-OLIVEROS; PAREDES-LÓPEZ, 2013). A espécie é estudada principalmente devido à qualidade do óleo presente nas sementes, tendo cerca de 30 g de óleo para 100 g de semente, sendo ácidos alfa-linolênico (50-57%) e linoleico (17-26%) os principais constituintes (IXTAINA et al., 2011; RODEA- GONZÁLEZ et al., 2012).

Os atributos das sementes de *S. hispanica* têm provocado interesse pelo seu cultivo, comercialização e industrialização, o que proporcionou sua introdução em vários países (GÔMEZ; COLÍN, 2008). A indústria alimentícia dos Estados Unidos, Canadá, Austrália, Nova Zelândia, Chile e México têm utilizado fortemente sementes de *S. hispanica* ou seu óleo para diversos fins, como: cereais matinais, barras energéticas, sucos, bolos e iogurtes (COMPANY, 2010; BORNEO et al., 2010). Contudo, a produção ainda é pequena e para suprir a demanda mundial, as áreas produtivas necessitam de elevado crescimento. No cenário brasileiro, as dificuldades encontradas pelos produtores estão relacionadas à colheita das sementes e sua comercialização. Por se tratar de uma cultura pouco explorada no país, o mercado comprador não está estabelecido. O destino das sementes acaba sendo o do fornecimento para mercados e lojas de produtos naturais (MIGLIAVACCA et al., 2014).

Em decorrência da demanda comercial, há necessidade de aumento na área de cultivo, o que exige tecnologia de produção. O uso de sementes de qualidade é de grande importância para a propagação e produção de mudas, sendo o teste de germinação o principal parâmetro de avaliação da qualidade fisiológica das sementes (MARTINS et al., 2008a). No entanto, não há conhecimento suficiente sobre o manejo e análise de sementes da maioria das espécies, de modo a fornecer dados que possam caracterizar seus atributos físicos e fisiológicos. Também há necessidade de se obter informações sobre a germinação, cultivo e potencialidades dessa

espécie, visando à utilização para os mais diversos fins, tais como a propagação, o melhoramento genético e a fisiologia da produção (ARAÚJO NETO et al., 2003).

A germinação envolve uma série de atividades metabólicas, durante as quais ocorre uma sequência programada de reações químicas, cada uma dessas apresentando exigências próprias quanto à temperatura, à água e a luminosidade, que influenciam em atividades de sistemas enzimáticos específicos (MARCOS FILHO, 2015). No entanto, há poucos trabalhos disponíveis na literatura abordando as alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes expostas a distintas condições ambientais, de modo que o teste de germinação é uma ferramenta importante para avaliação dessas alterações fisiológicas, haja vista que cada espécie exige condições específicas, nas quais as sementes conseguem expressar o máximo potencial (MENEZES, 2014).

A germinação, bem como a expressão do vigor das sementes, depende tanto de fatores intrínsecos à planta (tais como maturação fisiológica e dormência) quanto de fatores extrínsecos (por exemplo, faixa adequada de temperatura, substrato adequado, luz, quantidade e qualidade de água) (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Portanto, é fundamental obter conhecimento de como esses fatores influenciam a germinação das sementes e, desta forma, poder controlá-los para se otimizar a porcentagem, velocidade e uniformidade de germinação das sementes.

A sensibilidade da semente ao efeito da luz varia de acordo com a qualidade, a intensidade luminosa e tempo de irradiação, bem como com o período e temperatura de embebição (LABOURIAU, 1983). A temperatura é um fator importante que afeta tanto a porcentagem quanto a velocidade de germinação, pois atua diretamente na absorção de água pela semente e nas reações bioquímicas que regulam o metabolismo envolvido neste processo (MARCOS FILHO, 2015). Em trabalho realizado por Menezes et al. (2004) sobre germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz, observou-se que as sementes de *Salvia* comportam-se como indiferentes à luz, e que temperaturas de 15 °C retardam o processo germinativo.

No processo de germinação, além da luz e temperatura, o substrato atua como suporte onde se condicionam as sementes para germinar, pois influencia a embebição de maneira a permitir uma germinação mais regular, rápida e completa de sementes de determinada espécie (DIAS et al., 2011). Assim, a escolha deve ser feita levando-se em consideração o tamanho da semente, sua exigência com relação à quantidade de água, sua sensibilidade ou não à luz e a

facilidade que oferece para a realização das contagens e avaliação das plântulas (BRASIL, 2009; HONÓRIO et al., 2011).

A absorção de água resulta na reidratação dos tecidos com a consequente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários à retomada de crescimento do eixo embrionário (REGO et al., 2011). Dessa forma, a falta de água ou o excesso de sais presentes na água reduzem o potencial osmótico, ocasionando o déficit hídrico, consequentemente limitando absorção de água pela semente; além disso, esta absorção excessiva de sais ocasiona toxicidade e alterações fisiológicas, afetando o desenvolvimento da plântula (germinação, emergência e crescimento inicial) (FLOWERS; FLOWERS, 2005; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Com isso, objetivou-se estudar a germinação e as alterações fisiológicas em sementes de *S. hispanica* sob distintas condições de luz, temperaturas, substratos, disponibilidade e qualidade de água.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ORIGEM E DESCRIÇÃO DA CULTURA

S. hispanica L. pertence à família Lamiaceae, com cerca de 170 gêneros e 3.000 espécies, com ampla distribuição em regiões tropicais e temperadas e, somente na Argentina, existem aproximadamente 26 gêneros. O Gênero *Salvia* é considerado o mais numeroso dessa família, incluindo 900 espécies que se distribuem extensamente por várias regiões do mundo, incluindo o Sul da África, América Central, América do Norte, América do Sul e Ásia Sul-Oriental (BUENO et al., 2010).

É uma cultura herbácea, anual, com 1 a 1,5 m de altura, talos quadrangulares, acanelados, com vilosidades; folhas opostas, pecioladas, serrilhadas e flores hermafroditas reunidas em espigas auxiliares ou terminais. Cada fruto contém quatro sementes bem pequenas de forma oval, lisas, brilhantes, de cor cinzenta com manchas avermelhadas. Na maior parte das variedades, as flores são azuis (BUENO et al., 2010).

É nativa da região que se estende do centro-oeste do México ao norte da Guatemala. Suas sementes foram amplamente utilizadas por tribos astecas, principalmente como alimento e também na medicina. Em nível comercial, a *S. hispanica* é cultivada no México, Argentina, Bolívia, Guatemala, Equador e Austrália. O maior centro produtor no México está nas cidades de Acatic e Jalisco, de onde se exportam quantidades crescentes para Japão, EUA e Europa (IXTAINA et al., 2008). Desde 1991, esta cultura tem sido desenvolvida com sucesso na Argentina, principalmente no norte do país, onde se transformou em uma atividade econômica muito importante (CAPITANI et al., 2012; MARTÍNEZ et al., 2012).

No Brasil, as regiões do oeste paranaense e noroeste do Rio Grande do Sul começaram a investir no cultivo de *S. hispanica*, cuja espécie vem apresentando bons resultados, por encontrar condições favoráveis ao desenvolvimento, atingindo produtividades de 800 kg ha⁻¹ (MIGLIAVACCA et al., 2014). As produtividades médias da cultura estão em torno de 500 a 600 kg ha⁻¹, embora alguns produtores tenham obtido até 1200 kg ha⁻¹ (COATES, 2011).

O consumo de *S. hispanica* é destinado à alimentação humana e animal, sendo encontrada no mercado na forma de grãos, farinha ou óleo. E, nos últimos anos, suas sementes têm sido objeto de investigação, sendo-lhes reconhecidos efeitos benéficos à saúde humana (SANDOVAL-OLIVEROS; PAREDES-LÓPEZ, 2013), como, por exemplo, a redução de doenças cardiovasculares, obesidade, regulação do intestino, colesterol e triglicerídeos, bem

como a prevenção de doenças como a diabetes do tipo II e alguns tipos de câncer (JIN et al., 2012; POUDYAL et al., 2012).

A forma mais conhecida e ingerida no Brasil da *S. hispanica* é o grão *in natura* ou pós-maceração, que pode ser consumido com frutas, saladas, iogurtes ou como ingrediente em pães, bolos e alimentos em geral. Essa vem se popularizando como alimento, salientando-se que, no ano de 2011, se verificou que 72 produtos à base deste grão chegaram ao mercado em diversos países.

Segundo dados do Diario Oficial de la Unión Europea - EUR (2016), os teores de proteínas, lipídios, fibras e energia em sementes de *S. hispanica* são maiores do que os encontrados em grãos de outras culturas, como arroz, cevada, aveia, trigo e milho. Observa-se que, embora a *S. hispanica* seja conhecida, principalmente, como importante fonte de ácidos graxos essenciais, contém também outros compostos importantes para nutrição. As partes da planta utilizadas como ingredientes para a formulação de medicamentos em geral são as sementes. No entanto, outras partes, como os ramos, folhas e raízes, são utilizadas em menor quantidade para combater infecções respiratórias (JIMÉNEZ, 2010).

2.2 GERMINAÇÃO

A avaliação da germinação das sementes é efetuada pelo teste de germinação, conduzido em laboratório sob condições controladas e por meio de métodos padronizados visando principalmente a avaliar o valor das sementes para a semeadura e comparar a qualidade de diferentes lotes, servindo como base para a comercialização (MARCOS FILHO 2015). O processo germinativo envolve várias etapas e cada uma exige determinada temperatura, luz e disponibilidade de oxigênio para processamento mais rápida e eficiente. A metodologia ideal para realização do teste de germinação da maioria das espécies cultivadas pode ser encontrada nas Regras para Análise de Sementes nacionais (BRASIL, 2009) e internacionais (ISTA, 2016). No entanto, para espécie *Salvia hispanica* praticamente não há informações com relação à temperatura, substrato e regime de luz adequados à realização do teste de germinação.

Durante a germinação de sementes, há uma sequência de eventos fisiológicos influenciados por fatores intrínsecos e extrínsecos (MARCOS FILHO, 2015). Entre os fatores extrínsecos, a luz, temperatura, disponibilidade de água e o substrato são de grande importância, ao passo que os fatores intrínsecos envolvem dormência, maturidade fisiológica e genótipo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Cada fator influi de forma específica,

atuando sozinho ou em conjunto; no entanto, deve-se levar em consideração a sensibilidade de cada espécie (CARDOSO, 2004).

2.3 SUSTRATO E UMEDECIMENTO NA GERMINAÇÃO

O substrato influencia o comportamento germinativo das sementes durante a condução dos testes de germinação (CETNARSKI FILHO; CARVALHO, 2009). Tal influência na germinação é decorrente de características como estrutura, grau de aeração, potencial hídrico, capacidade de retenção de água e grau de infestação de patógenos, dentre outros, que podem variar de acordo com o substrato (MARCOS FILHO, 2015). Assim, a escolha deve ser feita levando-se em consideração o tamanho da semente, sua exigência com relação à quantidade de água, sua sensibilidade ou não à luz e a facilidade que oferece para realização das contagens e avaliação das plântulas. Em função do tamanho e exigências ecofisiológicas das sementes quanto à umidade e luz, cada substrato é utilizado de maneira que ofereça maior praticidade nas avaliações, mantendo a capacidade de suprir as condições ideais no decorrer do teste de germinação (BRASIL, 2009; HONÓRIO et al., 2011).

Para a escolha do substrato de germinação, devem ser observadas algumas características do material a ser utilizado, tais como composição, capacidade de retenção de água, estrutura dos poros, pH, pureza microbiológica, resistência, toxicidade, tamanho e textura (BRASIL, 2009), pois é no substrato que as sementes serão condicionadas para germinarem e este tem a função de manter as condições adequadas para que o processo germinativo ocorra (FIGLIOLIA et al., 1993). Em laboratório, os substratos mais utilizados são papel (toalha, filtro e mata-borrão) e areia. Embora não esteja prescrita nas Regras para Análise de Sementes, Piña-Rodrigues; Vieira (1988) sugeriram ainda os substratos carvão e vermiculita. O substrato ideal para condução de teste de germinação de sementes de *S. hispanica* ainda é desconhecido, pois não está padronizado nas Regras para Análise de Sementes nacionais (BRASIL, 2009) nem nas internacionais (ISTA, 2016), tornando difícil a avaliação da qualidade de suas sementes pela inexistência de métodos padronizados para esta espécie.

Outra condição especificada nas Regras para Análise de Sementes nacionais (BRASIL, 2009) e internacionais (ISTA, 2016) para a condução do teste de germinação é a quantidade de água no substrato, que deve ser umedecido suficientemente para que a semente inicie a germinação e se desenvolva; isso é necessário para a hidratação da semente que perdeu umidade durante os processos de maturação e para que ocorra, também, o início das

atividades metabólicas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). A água está envolvida direta e indiretamente em todas as etapas do metabolismo da semente (LABORIAU, 1983) por promover o aumento do volume do embrião e dos tecidos de reserva, além de iniciar as atividades enzimáticas para a realização da digestão, da translocação e da assimilação dos nutrientes e o rompimento do tegumento, que vem a facilitar a emergência do eixo hipocótilo-radicular do interior da semente (MARCOS FILHO, 2015) e termina com a emissão da raiz primária ou a germinação (ALBUQUERQUE et al., 2013).

Devido à importância da utilização da quantidade adequada de água para a germinação, as Regras para Análise de Sementes nacionais (BRASIL, 2009) e internacionais (ISTA, 2016) passaram a normatizar o umedecimento do substrato, recomendando para o teste de germinação em papel a adição de um volume de água equivalente a 2,0 até 2,5 vezes (gramínea) ou 2,5 a 3,0 vezes (leguminosa) o peso do substrato. Em areia, é recomendado o umedecimento com até 50% e 60% da capacidade de retenção do substrato em água, para sementes de cereais e de leguminosas, respectivamente. Quase totalidade dos trabalhos de pesquisa que estudam diferentes substratos na germinação de sementes não faz referências à quantidade de água adicionada aos diferentes substratos, o que pode resultar em conclusões equivocadas sobre o assunto.

A germinação plena acontece na ausência de estresse hídrico, na qual pode variar de acordo com a espécie. No entanto, há relatos de que diferentes quantidades de água no substrato não influenciam a germinação (VARELA; RAMOS; MELO, 2005; RAMOS et al., 2006). Outros autores citam que os níveis de umidade mais elevado no substrato apresentam efeito positivo no desempenho germinativo (REGO et al., 2009; AZEREDO et al., 2010; GUEDES et al., 2010). Por outro lado, alguns estudos relatam que ocorreu melhoria na germinação em substratos com menor nível de umidade (ARAÚJO et al., 2014; AMARO et al., 2014).

No epicarpo da semente de *S. hispanica*, encontram-se células que produzem mucilagem quando umedecidas. Ao entrar em contato com a água, o epicarpo intumescce, a cutícula se rompe ao esgotar sua elasticidade e o conteúdo das células verte como mucilagem circundando toda a superfície do fruto (IXTAINA et al., 2010). Além disso, Capitani et al. (2012) afirmaram que as frações fibrosas dessa espécie evidenciam grande capacidade de reter e absorver água, sendo importante usar a quantidade de água adequada para a realização do teste de germinação, considerando que se que a quantidade de água não for suficiente para

o umedecimento das sementes e formação da mucilagem, as sementes têm sua germinação comprometida.

2.4 TEMPERATURA E LUZ NA GERMINAÇÃO

As sementes, em geral, apresentam desempenho variável, quanto à germinação, em diferentes temperaturas e luminosidade, componentes básicos do teste de germinação. Assim, o conhecimento da influência desses fatores na germinação de cada espécie é de fundamental importância (MONDO et al., 2008).

A temperatura é um dos fatores mais importantes que afetam tanto a porcentagem quanto a velocidade de germinação, pois atua diretamente na absorção de água pela semente e nas reações bioquímicas que regulam o metabolismo envolvido neste processo (MARCOS FILHO, 2015). O período de germinação pode mudar completamente em resposta à temperatura, devido à complexidade do processo germinativo (COPELAND; MCDONALD, 1995). A germinação será mais rápida e o processo mais eficiente quanto maior for a temperatura, dentro de certos limites, assim como em temperaturas abaixo da temperatura ótima há redução da velocidade do processo, o que pode também levar à redução no total de germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A temperatura é considerada ótima para a germinação das sementes quando estas expressam seu potencial máximo de germinação em menor tempo, havendo prejuízos quando as temperaturas estão acima ou abaixo desse valor ótimo. Para as espécies cultivadas, a temperatura ótima de germinação situa-se entre 20 °C e 30 °C, a qual está relacionada, normalmente, às temperaturas da região de origem da espécie na época favorável para a germinação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Dessa forma, existem espécies cujo processo germinativo é favorecido por temperatura constante (PEREIRA et al., 2013; NOGUEIRA et al., 2014), por alternância de temperatura (MARTINS et al., 2008b; OLIVEIRA et al., 2014) e por um intervalo amplo de temperatura (GUEDES et al., 2010; GUEDES; ALVES et al., 2011).

Em sementes de *S. hispanica*, Stefanello et al. (2015a) utilizaram as temperaturas de 20, 25 e 30 °C durante o teste de germinação, verificando que os resultados da germinação e dos obtidos na primeira contagem do teste de germinação foram maiores para a temperatura de 20 °C. Na temperatura de 30 °C, a maioria das plântulas obtidas foi anormal, apresentando a raiz primária pouco desenvolvida, epicótilo curto e necrosado.

A luz é outro fator que influencia o processo da germinação das sementes de várias espécies. A ativação das sementes pela luz está ligada ao sistema de pigmentos denominado fitocromo, o qual está associado ao funcionamento das membranas biológicas, regulando, provavelmente, sua permeabilidade e controlando o fluxo de inúmeras substâncias dentro das células e entre estas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A sensibilidade da semente ao efeito da luz varia de acordo com a qualidade, a intensidade luminosa e tempo de irradiação, bem como com o período e temperatura de embebição (LABOURIAU, 1983). Menezes et al. (2004), trabalhando com germinação de sementes de *S. splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz, verificaram que as temperaturas de 15, 20 e 25 °C afetaram a velocidade de germinação das sementes, sendo que 15 °C retarda o processo germinativo; porém, quanto à qualidade de luz, esta espécie apresentou comportamento indiferente. Através da análise dos dados de germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação de sementes e massa seca de plântulas de *S. hispanica*, observou-se que não houve diferença significativa nas duas condições de luz utilizadas. Pode-se afirmar que a germinação de sementes desta espécie ocorre tanto na presença quanto na ausência de luz (STEFANELLO et al., 2015a).

2.5 ESTRESSE SALINO NA GERMINAÇÃO

Normalmente, a salinidade do substrato é fator limitante para a germinação e crescimento inicial de plântulas. Para Tobe et al. (2000), a inibição do crescimento devido à salinidade se deve ao efeito osmótico e também ao efeito tóxico, resultante da concentração de íons no protoplasma. Segundo Hu e Schmidhalter (2005), estes efeitos se devem ao desequilíbrio na absorção de nutrientes minerais, bem como à fitotoxicidade causada pela acumulação excessiva de íons Na^+ e Cl^- nos tecidos, que desenvolverão alterações morfológicas e de crescimento, além de processos fisiológicos e bioquímicos.

As sementes também sofrem influência significativa da condição de salinidade dos solos. Altas concentrações de sais, especialmente de cloreto de sódio (NaCl), podem inibir a germinação devido à diminuição do potencial osmótico, ocasionando prejuízos às demais fases do processo (LIMA et al., 2005). Deste modo, a sobrevivência das plantas em condições de salinidade pode exigir processos adaptativos envolvendo a absorção, o transporte e a distribuição de íons nos vários órgãos da planta (GARCIA et al., 2010). As alterações no metabolismo induzidas pela salinidade são resultado de várias respostas fisiológicas da planta,

dentre as quais se destacam as modificações na germinação, crescimento, comportamento estomático e capacidade fotossintética (JAMIL et al., 2007).

A tolerância das plantas à salinidade é descrita como a habilidade de evitar a absorção excessiva de sais e que estes alcancem o protoplasma, além de tolerar os efeitos tóxicos e osmóticos associados ao aumento da concentração de sais no substrato (LARCHER, 2000). Dentre os mecanismos de tolerância, pode-se destacar o aumento das concentrações de compostos como prolina, polióis e açúcares, atuando no ajustamento osmótico em condições de estresse hídrico ou salino, proporcionando reduções na perda da atividade enzimática ou da integridade da membrana por meio da manutenção do potencial osmótico da célula (FREIRE, 2000).

Um dos métodos mais difundidos para determinação da tolerância das plantas ao excesso de sais é a observação da porcentagem de germinação das sementes em substrato salino. A redução do poder germinativo, comparada ao controle, serve como um indicador do índice de tolerância da espécie à salinidade. Nesse método, a habilidade para germinar indica também a tolerância da planta aos sais em estádios subsequentes de desenvolvimento (OLIVEIRA, et al., 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013).

As plantas de *S. hispanica* estão sujeitas condições de estresses que limitam seu crescimento, desenvolvimento e sobrevivência, onde quer que elas cresçam. Em estudos realizados em *S. aegyptiaca*, Gorai et al. (2011) verificaram que essas sementes são sensíveis à salinidade, sendo a germinação inibida em presença do sal (NaCl). Além disso, Rosa et al. (2015) observaram que as sementes de *S. splendens* apresentaram limite de tolerância aos sais de NaCl até aproximadamente -0,85 MPa, sendo que abaixo deste potencial ocorreu a inibição tanto da viabilidade quanto do vigor das sementes. Stefanello et al. (2015b) verificaram que a *S. hispanica* submetida a diferentes níveis de salinidade teve a germinação e vigor das sementes reduzidos, classificando a espécie como moderadamente tolerante à salinidade.

Diversas espécies das famílias Asteraceae, Lamiaceae, Brassicaceae, Plantaginaceae e de outras famílias que ocorrem frequentemente em habitats desérticos apresentam uma camada externa de mucilagem nas sementes, capaz de fornecer alguns benefícios ecológicos nessas condições extremas (HUANG et al., 2008). Possivelmente a mucilagem atua como uma espécie de filtro, que previne o efeito prejudicial das condições de salinidade durante a germinação (YANG et al., 2010).

2.6 ESTRESSE HÍDRICO NA GERMINAÇÃO

A primeira condição para a germinação de uma semente viável e não dormente é a disponibilidade de água para sua reidratação, e da absorção de água resulta a reidratação dos tecidos com a consequente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários à retomada de crescimento do eixo embrionário (REGO et al., 2011). Dessa forma, a redução da disponibilidade de água dificulta o processo de embebição das sementes e com isso a germinação e, conseqüentemente, as demais fases de desenvolvimento das plantas (TAIZ; ZAIGER, 2013).

O processo de embebição de água pelas sementes é dependente da temperatura e da água disponível e a capacidade de retenção da água absorvida determinará o sucesso do processo de germinação (PEREZ; MORAES, 1991). Mudanças de temperatura podem afetar os processos que controlam a germinação das sementes (MARAGHNI et al., 2010). A redução gradativa da temperatura provoca decréscimo acentuado da velocidade de germinação e a embebição nessas condições pode provocar redução do crescimento das plântulas, mesmo quando a temperatura retorna a níveis favoráveis (MARCOS FILHO, 2015).

A temperatura e a água são algumas das condições ambientais que afetam a germinação das sementes e o estabelecimento e a sobrevivência de plântulas (GORDIN et al., 2014). Na medida em que o teor de água do solo ou do substrato diminui, verifica-se inicialmente a redução da velocidade de germinação e restrições mais severas passam a prejudicar a porcentagem e a velocidade de germinação (MARCOS FILHO, 2015). O estresse hídrico, portanto, está associado à redução da disponibilidade de água e à desidratação celular, sendo que para cada espécie existe um valor de potencial hídrico no solo, abaixo do qual a germinação não ocorre (ÁVILA et al., 2007; MARAGHNI et al., 2010).

O efeito dos potenciais osmóticos sobre as sementes e as plântulas depende da qualidade inicial da semente e do tipo de soluto utilizado quando estas são submetidas ao mesmo grau de déficit hídrico (MORAES; MENEZES, 2003). Uma das técnicas utilizadas em laboratório para simular condições de baixa umidade no substrato tem sido o uso de soluções aquosas com diferentes potenciais osmóticos (HARDEGREE; EMMERICH, 1994). Na condução desse procedimento, diversos compostos químicos têm sido utilizados na simulação de estresse hídrico, dentre eles o polietilenoglicol, agente osmótico sem efeitos adversos para as sementes, por ser quimicamente inerte, atóxico, de elevado peso molecular e, portanto, de

difícil absorção, de forma que tem proporcionado restrição hídrica às sementes, dependendo da concentração, simulando, desta forma, a seca (MORAES; MENEZES, 2003).

Nesse sentido, pesquisas têm sido conduzidas utilizando soluções com diferentes potenciais osmóticos para verificar o comportamento ao estresse hídrico na fase de germinação. Observou-se em sementes de soja (*Glycine max* (L.) Meer.) (COLETE et al., 2007) que potenciais abaixo de $-0,6$ e $-0,9$ MPa foram considerados críticos à germinação. Por outro lado, as sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) demonstraram resistência ao estresse hídrico, cujo limite máximo de tolerância foi de $-0,4$ MPa de PEG (CARNEIRO et al., 2011). Para sementes de gergelim (*Sesamum indicum* L.), houve redução na germinação e vigor quando submetida a potencial hídrico a partir de $-0,2$ MPa, chegando a 52% nas temperaturas de 25 e na de 35 °C (MEDEIROS et al., 2015).

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A. N.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; MARIANO, D. C.; OKUMURA, R. S.; NASCIMENTO, D. S. Umedecimento do substrato na emergência e desenvolvimento de plântulas de sucupira-preta. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 20-51, 2013.
- AMARO, H. T. R.; DAVID, A. M. S. S.; CANGUSSÚ, L. V. S.; RODRIGUES, B. R. A.; ASSIS, M. O.; VELOSO, C. S. Umedecimento do substrato e temperatura na germinação e vigor de sementes de melão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1119-1130, 2014.
- ARAÚJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, V. M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasileira de Botânica**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 249-256, 2003.
- ARAÚJO, P. C.; ALVES, E. U.; URSULINO, M. M.; ARAÚJO, L. R.; SILVA, R. S. Different water volumes in the substrate and temperatures for germination of cabacinha seeds. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 367-370, 2014.
- ÁVILA, M. R.; BRACCINIII, L. A.; SCAPIMII, C. A.; FAGLIARII, J. R.; SANTOS, J. L. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 98-106, 2007.
- AZEREDO, G. A.; SILVA, B. M. S.; SADER, R.; MATOS, V. P. Umedecimento e substratos para germinação de sementes de repolho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 1, p. 77-82, 2010.
- BORNEO, R.; AGUIRRE, A.; LEÓN, A. E. Chia (*Salvia hispanica* L) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. **Journal of the American Dietetic Association**, New York, v. 110, n. 6, p. 946-949, 2010.
- BUENO, M.; SAPIO, O.; BAROLO, M.; BUSILACCHI, H.; QUIROGA, M.; SEVERIN, C. Análisis de la calidad de los frutos de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae) comercializados en la ciudad de Rosario, Santa Fe, Argentina. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, Santiago, v. 9, n. 3, p. 221-227, 2010.

CAPITANI, M. I.; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS M. C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 94-102, 2012.

CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 95-108.

CARNEIRO, M. M. L. C.; DEUNER, S.; OLIVEIRA, P. V.; TEIXEIRA, S. B.; SOUZA, C. P.; BACARIN, M. A.; MORAES, D. M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 752-761, 2011.

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

CETNARSKI FILHO, R.; CARVALHO, R. I. N. Massa da amostra, substrato e temperatura para teste de germinação de sementes de *Eucalyptus dunni* Maiden. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 19, n. 3, p. 257-265, 2009.

COATES, W. Whole and Ground Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds, Chia Oil- Effects on Plasma Lipids and Fatty Acids. In PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. (org.). **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. San Diego: Academic Press, 2011. p. 309-314.

COLETE, J. C. F.; VIEIRA, R. D.; PANABIANCO, M.; DUTRA, A. S. Condutividade elétrica da solução de embebição de sementes e emergência de plântulas de soja. **Revista Científica**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, p. 10-16, 2007

COMPANY, THE CHIA. **Request for Scientific Evaluation of Substantial Equivalence Application for the Approval of Chia seeds (*Salvia hispanica* L.) from The Chia Company for use in bread**. Leederville: The Chia Company, 2010.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. **Principles of seeds science and technology**. New York: Chapman Hall, 1995.

DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. **Autorización de la comercialización de semillas de chía (*Salvia hispanica*) como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) nº 258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo.** Disponível em: < <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=CELEX%3A32009D0827> >. Acesso em: 20 nov. 2016.

DIAS, M. A.; LOPES, J. C.; SOUZA NETO, J. D.; HEBERLE, H. Influência da temperatura e substrato na germinação de sementes de jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg.). **Idesia**, Arica, v. 29, n. 1, p. 23-27, 2011.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (org.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, p. 137-174, 1993.

FLOWERS, T. J.; FLOWERS, S. A. Why does salinity pose such a difficult problem for plant breeders? **Agricultural Water Management**, Oxford, v. 78, n. 1, p. 15-24, 2005.

FREIRE, A. L. O. **Fixação do nitrogênio, crescimento e nutrição mineral de leucena sob condições de salinidade**. 2000. 92p. (Tese Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal-SP.

GARCÉZ, Y. J. **La chía (*Salvia hispanica* L.), una fuente de nutrientes para el desarrollo de alimentos Saludables**. (Trabalho de Especialização). Alimentación y Nutrición. Corporación Universitaria Lasallista, Facultad de Ingenierías, 2013. 43p.

GARCIA, G. O.; NAZÁRIO, A. A.; MORAES, W. B.; GONÇALVES, I. Z.; MADALÃO, J. C. Respostas de genótipos de feijoeiro à salinidade. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 18, n.4, p. 330-338, 2010.

GÔMEZ, J. A. H.; COLÍN, S. M. Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispanica*). **Revista Fitotecnia Mexicana**, Cidade do México, v. 31, n. 2, p. 105-113, 2008.

GORAI, M.; GASMI, H.; NEFFATI, M. Factors influencing seed germination of medicinal plant *Salvia aegyptica* L. (Lamiaceae). **Saudi Journal of Biological Sciences**, Kingdom, v. 18, n. 3, p. 255-260, 2011.

- GORDIN, C. R. B.; MARQUES, R. F.; MASETTO, T. E.; SCALON, S. P. Q.; SOUZA, L. C. F. Temperaturas e disponibilidades hídricas do substrato na germinação de sementes de niger. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, supplement 1, p. 112-118, 2014.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; BRAGA, J. M. J. R.; VIANA, J. S.; COLARES, P. N. Q. Substratos e temperaturas para testes de germinação e vigor de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 57-64, 2010.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U. Substratos e temperaturas para o teste de germinação de sementes de *Chorisia glaziovii* (O. Kuntze). **Cerne**, Lavras, v. 17, n. 4, p. 525-531, 2011.
- HARDEGREE, S. P.; EMMERICH, W. E. Seed germination in response to polyethylene glycol solution. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 22, n. 1, p. 1-7, 1994.
- HONÓRIO, I. C. G.; PINTO, V. B.; GOMES, J. A. O.; MARTINS, E. R. Influência de diferentes substratos na germinação de jambu (*Spilanthes oleracea* L. – Asteraceae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 24, n. 2, p. 21-25, 2011.
- HU, Y.; SCHMIDHALTER, U. Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, Rostock, v. 168, n. 4, p. 541-549, 2005.
- HUANG, Z.; BOUBRIAK, I.; OSBORNE, D. J.; DONG, M.; GUTTERMAN, Y. Possible role of pectin-containing mucilage and dew in repairing embryo DNA of seeds adapted to desert conditions. **Annals of Botany**, Oxford, v. 101, n. 2, p. 277–283, 2008.
- ISTA. **International Rules for Seed Testing**. The International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland: ISTA, 2016.
- IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZC, M. L.; SPOTORNOD, V.; MATEOB, C. M.; MAESTRIC, D. M.; DIEHLE, B. W. K.; NOLASCOB, S. M. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, n. 24, n. 2, p. 166–174, 2011.

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Industrial Crops and Products**, New York, v. 28, n. 3, p. 286-293, 2008.

IXTAINA, V. Y. **Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos**. Aplicación en tecnología de alimentos. 2010. 301f. Tese (Doutorado). Universidad Nacional de La Plata, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Buenos Aires, 2010.

JAMIL, M.; REHMAN, S.; LEC, K. J.; KIM, J. M.; KIM, H. S.; RHA, E. S. Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 64, n. 2, p. 111- 118, 2007.

JIMÉNEZ, F. E. G. **Caracterización de compuestos fenólicos presente en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispanica* L.), mediante electroforesis capilar**. 2010. 101f. Tese (Mestrado em Ciências em Alimentos). Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Cidade do México, 2010.

JIN, F.; NIEMAN, D. C.; SHA, W.; GUOXIANG XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women. **Plant Foods for Human Nutrition**, Kannapolis, v. 67, n. 2, p. 105-110, 2012.

LABORIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora RIMA, 2000.

LIMA, M. G. S.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; ABREU, C. M. Qualidade fisiológica de sementes de arroz submetidas a estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 54-61, 2005.

MARAGHNI, M.; GORAI, M.; NEFFATI, M. Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Ziziphus lotus*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 76 n. 3, p. 453–459, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015.

MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; FALLER, C. M. S.; REVOL, J.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Extração do óleo de chia (*Salvia hispanica* L.): estudo de parâmetros de processamento. *LTW – Ciência dos Alimentos e Tecnologia*, Campinas, v. 47, n. 1, p. 78-82, 2012.

MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae)). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 4, p. 633-639, 2008a.

MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; CAVASINI, R. Temperatura e substrato para o teste de Germinação de sementes de pinhão-manso. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 863-868, 2008b.

MEDEIROS, D. S.; ALVES, E. U.; SENA, D. V. A.; SILVA, E. O.; ARAÚJO, L. R. Desempenho fisiológico de sementes de gergelim submetidas a estresse hídrico em diferentes temperaturas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3069-3076, 2015.

MENEZES, N. L.; FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T.; NUNES, E. P. Germinação de sementes de salvia splendens sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 26, n. 1, p.32-37, 2004.

MIGLIAVACCA, R. A.; VASCONCELOS, A. L. S.; SANTOS, C. L.; BAPTISTELLA, JOÃO L. C. Uso da cultura da chia como opção de rotação no sistema de plantio direto. In: ENCONTRO NACIONAL DE PLANTIO DIRETO NA PALHA, 14, 2014, Bonito. **Anais ... Brasília: Embrapa**, 118 p.

MONDO, V. H. V.; BRANCALION, P. H. S.; CICERO, S. M.; NOVENBRE, A. D. L. C.; DOURADO NETO, D. Teste de germinação de sementes de *Parapiptadenia rigida* (Benth.) Brenan (Fabaceae), **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p.177-183, 2008

MORAES, G. A. F.; MENEZES, N. L. Desempenho de sementes de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 219-226, 2003.

NOGUEIRA, F. C. B.; GALLÃO, M. I.; BEZERRA, A. M. E.; MEDEIROS FILHO, S. Efeito da temperatura e luz na germinação de sementes de *Dalbergia cearensis* Ducke. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 4, p. 997-1007, 2014.

OLIVEIRA, A. K. M.; RIBEIRO, J. W. F.; PEREIRA, K. C. L.; SILVA, C. A. A. Germinação de sementes de paineira-do-campo (*Eriotheca gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns) em diferentes temperaturas. **Científica**, Jaboticabal, v. 42, n. 4, p. 316–324, 2014

OLIVEIRA, A. M. de; LINHARES, P. C. F; MARACAJÁ, P. B; RIBEIRO, M. C; BENEDITO, C. P; Salinidade na germinação e desenvolvimento de plântulas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* FR ALL). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 2, p. 39-42, 2007.

PEREIRA, D. S.; PEREIRA, M. S.; BEZERRA, A. M. E. Efeito da Luz e da Temperatura na Germinação de Sementes de *Cochlospermum vitifolium* (Will.) Sprengel. **Floresta e Ambiente**, Seropédica, v. 20, n. 3, p. 391-397, 2013.

PEREZ, S. C. J. A.; MORAES, J. A. P. V. Influência do estresse hídrico e do pH no processo germinativo da algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 7, p. 981-8, 1991.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. & VIEIRA, J.D. Teste de germinação. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. (ed.). **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 70-90.

POUDYAL, H.; PANCHAL, S.; WAANDERS, J.; WARD, L.; BROWN, L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearyl CoA desaturase-1 and induces cardiac and hepatic protection in diet induced obese rats. **Journal Nutrition Biochemistry**, Stoneham, v. 23, n. 2, p. 153-162, 2012.

RAMOS, M. B. P.; VARELA, V. P.; MELO, M. F. F. Influência da temperatura e da quantidade de água no substrato sobre a germinação de sementes de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban (pau-de-balsa). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 1, p. 103-106, 2006.

REGO, S. S.; FERREIRA, M. M.; NOGUEIRA, A. C.; GROSSI, F.; SOUSA, R. K.; BRONDANI, G. E.; ARAÚJO, M. A.; SILVA, A. L. L. Estresse Hídrico e Salino na

Germinação de Sementes de *Anadenanthera colubrina* (Velloso) Brenan. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 2, n. 4, p. 37-42, 2011.

REGO, S. S.; NOGUEIRA, A. C.; KUNIYOSHI, Y. S.; SANTOS, A. F. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperaturas, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 212-220, 2009.

RODEA-GONZÁLEZ, D. A.; CRUZ-OLIVARES, J.; ROMAN-GUERRERO, A.; PÉREZ-ALONSO, C. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. **Journal of Food Engineering**, London, v. 111, n. 1, p. 102-109, 2012.

ROSA, D. C. J.; SOARES, J. S.; MORENO, L. B.; MICHELS, G. M.; C. S. R.; SCALON, S. P. Q.; ROSA, Y. B. C. J. Germinação de *Salvia splendens* L. submetida à salinidade. **Advances in Ornamental Horticulture and Landscaping**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 105-112, 2015.

SANDOVAL-OLIVEROS, M. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Isolation and Characterization of Proteins from Chia Seeds (*Salvia hispanica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 61, n. 1, p. 193-201, 2013.

STEFANELLO, R.; NEVES, L. A. S.; ABBAD, M. A. B.; VIANA, B. B. Germinação e vigor de sementes de chia (*Salvia hispanica* L. - Lamiaceae) sob diferentes temperaturas e condições de luz. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 17, n. 4, supl. III, p. 1159-1168, 2015a.

STEFANELLO, R.; NEVES, L. A. S.; ABBAD, M. A. B.; VIANA, B. B. Resposta fisiológica de sementes de chia (*Salvia hispanica* – Lamiales: Lamiaceae) ao estresse salino. **Biotemas**, Florianópolis, v. 28, n. 4, p. 35-39, 2015b.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: Cummings, 1991.

TOBE, K.; LI, X.; OMASA, K. Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium caspicum* (Chenopodiaceae). **Annals of Botany**, Oxford, v. 85, n. 3, p. 391-396, 2000.

VARELA, V. P.; RAMOS, M. B. P.; MELO, M. F. F. Umedecimento do substrato e temperatura na germinação de sementes de angelim-pedra (*Dinizia excelsa* Ducke). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 130-145, 2005.

YANG, X.; DONG, M.; HUANG, Z. Role of mucilage in the germination of *Artemisia sphaerocephala* (Asteraceae) achenes exposed to osmotic stress and salinity. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 48, n. 2-3, p. 131–135, 2010.

CAPÍTULO 2

GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CHIA (*Salvia hispanica* L.) EM DIFERENTES SUBSTRATOS E VOLUMES DE ÁGUA

RESUMO

O umedecimento e o tipo de substrato são fatores essenciais para a condução do teste de germinação em sementes, por influenciarem na embebição e no desenvolvimento das plântulas. Objetivou-se avaliar a influência de dois substratos e volume de água sob a germinação e vigor das sementes de *S. hispanica*. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 6, sendo dois substratos (papel toalha Germitest[®] e papel mata-borrão) e seis volumes de água (1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0) vezes a massa do papel seco, com quatro repetições de 50 sementes. Avaliou-se a percentagem e tempo médio de germinação, comprimento da parte aérea e da radícula, massa seca da parte aérea, radícula e total (plântula) e a relação raiz/parte aérea. O teste de germinação de sementes de *S. hispanica* deve ser conduzido no substrato mata-borrão (sobre papel) com quantidade de água entre 2,5 a 4,0 vezes o peso do substrato seco. As sementes germinadas no papel mata-borrão obtiveram maior germinação crescimento e acúmulo de matéria seca das plântulas de *S. hispanica* em relação às plântulas germinadas no papel toalha Germitest[®].

Palavras-chave: Lamiaceae. Análise de sementes. Crescimento de plântulas. Disponibilidade hídrica. Teste de germinação.

CHIA SEED GERMINATION (*Salvia hispanica* L.) IN DIFFERENT SUBSTRATES AND QUANTITIES OF WATER

ABSTRACT

Moistening and substrate type are essential factors for conducting the germination test in seeds, since they influence the imbibition and development of the seedlings. The objective of this study was to evaluate the influence of two substrates and water volume under the germination and vigor of *S. hispanica* seeds. The experimental design was a completely randomized design, in a 2 x 6 factorial scheme, with two substrates (Germitest[®] towel paper and blotting paper) and six volumes of water (1.5, 2.0, 2.5, 3.0 , 3.5 and 4.0) times the dry paper mass, with four replicates of 50 seeds. The percentage and average time of germination, shoot length and radicle, shoot dry mass, radicle and total (seedling) and root/shoot ratio were evaluated. The seed germination test of *S. hispanica* should be conducted on the blotting substrate (on paper) with the amount of water between 2.5 and 4.0 times the weight of the dry substrate. The germinated seeds in the blotter paper obtained greater germination growth and accumulation of dry matter of the *S. hispanica* seedlings compared to germinated seedlings in paper towel Germitest[®].

Keywords: Lamiaceae. Germination test. Seed analysis. Seedling growth. Water availability.

1 INTRODUÇÃO

Salvia hispanica L., conhecida como chia, é uma planta herbácea pertencente à família Lamiaceae. Suas sementes possuem altos teores de ácidos graxos essenciais, potentes antioxidantes, proteínas, fibra alimentar e importantes compostos fenólicos que agem como antioxidantes naturais, possuindo propriedades anti-inflamatórias, antitrombóticas e anti-tumorais (CHICCO et al., 2009; BUENO et al., 2010; JEONG et al., 2010; ALI et al., 2012). No entanto, apesar da expressão econômica e alimentar dessa espécie, poucos estudos são encontrados no tocante aos aspectos agrônômicos, principalmente no que diz respeito à tecnologia de sementes.

Neste sentido, a determinação das condições adequadas à germinação de sementes de determinada espécie é importante devido à divergência de respostas que pode ocorrer sob a influência de vários fatores, tais como dormência, substrato, volume de água, luz, temperatura e oxigênio. Sendo assim, o conhecimento das condições ideais para a germinação é importante na padronização dos testes em diferentes laboratórios, evitando discrepâncias entre os resultados (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2015).

Dentre os fatores que afetam a germinação de sementes, destacam-se o substrato e a disponibilidade de água por terem influência direta durante o processo de germinação. No teste de germinação, o substrato adequado deve fornecer quantidade de água suficiente para embebição das sementes, além de servir como suporte para as plântulas germinadas (SCHMIDT, 2007). Deste modo, a escolha do tipo de substrato a ser utilizado deve levar em consideração o tamanho da semente, sua exigência quanto à quantidade de água, sensibilidade ou não à luz e facilidade que ele proporciona ao desenvolvimento e avaliação das plântulas (BRASIL, 2009).

Além do substrato, a quantidade de água disponibilizada neste deve seguir os padrões descritos nas Regras para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), de maneira que os substratos à base de papel sejam umedecidos em função da relação entre o volume de água e o peso do substrato seco, recomendando volumes de água 2,0 a 3,0 vezes o peso do substrato, independentemente da espécie. No entanto, Azeredo et al. (2010) para sementes de *Brassica oleracea* e Guedes et al. (2010) para sementes de *Amburana cearensis* observaram percentagem de germinação satisfatória com volume de água 3,5 e 4,0 vezes o peso do papel.

A padronização do volume de água no substrato que favoreça a germinação, conforme a espécie, provavelmente contribui para a minimização das variações nos resultados dos

testes, uma vez que as recomendações das RAS não atendem a todas as espécies, necessitando de estudos que ajustem as reais respostas da germinação em função do volume de água utilizado (AMARO et al., 2014).

Normalmente, o excesso de umidade no substrato causa a redução da germinação, dificultando a respiração e reduzindo todo o processo metabólico resultante, levando a uma diminuição da viabilidade, além de contribuir para a proliferação de agentes patogênicos (PACHECO et al., 2007). Por outro lado, a deficiência de água impossibilita a retomada do crescimento do eixo embrionário, dificultando a sequência dos processos bioquímicos, físicos e fisiológicos, necessários para desencadear o processo germinativo (FLORES et al., 2013).

Neste sentido, objetivou-se avaliar a influência de dois substratos e volume de água sobre a germinação e vigor das sementes de *S. hispanica*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análises de Sementes (LAS) do Departamento de Ciências Vegetais (DCV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, utilizando sementes de *S. hispanica* com grau de umidade inicial de 6,8%, adquiridas junto aos produtores de Santana do Livramento, Rio Grande do Sul (30° 53' 27" S, 55° 31' 58" W e 208 m de altitude), safra 2013/2014. No momento da recepção, as sementes foram homogeneizadas, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria sob temperatura de 10 °C e 50% de umidade relativa do ambiente até a realização do experimento.

Os substratos de papel toalha (tipo Germitest[®]) e mata-borrão foram umedecidos inicialmente em seis volumes de água equivalentes a 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0 vezes a massa do papel seco para a germinação de sementes de *S. hispanica*. Para o substrato de papel toalha, este foi organizado na forma de rolo e umedecido com os respectivos volumes de água, sendo utilizadas três folhas por rolo, ao passo que para o substrato mata-borrão utilizaram-se duas folhas, onde as sementes foram semeadas sobre e em seguida foram acondicionadas em caixas plásticas transparentes (11 x 11 x 3,5 cm), tipo “gerbox”. Após o umedecimento dos substratos, os rolos de papel e as caixas plásticas foram acondicionados em sacos de plástico transparentes, de 0,04 mm de espessura, com a finalidade de evitar a perda de água por evaporação durante a condução do teste. Em seguida, foram colocados em câmara de germinação do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.) com fotoperíodo de oito horas, sem adição posterior de água.

Após a semeadura, o teste de germinação foi acompanhado por oito dias, considerando-se como plântulas normais a emissão da raiz primária e parte aérea da plântula (BRASIL, 2009), com resultados expressos em porcentagem. Para a determinação do tempo médio de germinação, realizaram-se, no mesmo horário, contagens diárias, durante o período do teste de germinação, contabilizando-se as sementes germinadas que atenderam aos mesmos padrões de normalidade do teste de germinação. Para os cálculos do tempo médio de germinação, adotou-se a equação proposta por Schuab et al. (2006), utilizando-se a seguinte fórmula: $t = \frac{(\sum n_i t_i)}{\sum n_i}$, onde: t = tempo médio de germinação, n_i = número de sementes germinadas por dia, t_i = tempo de germinação (dias).

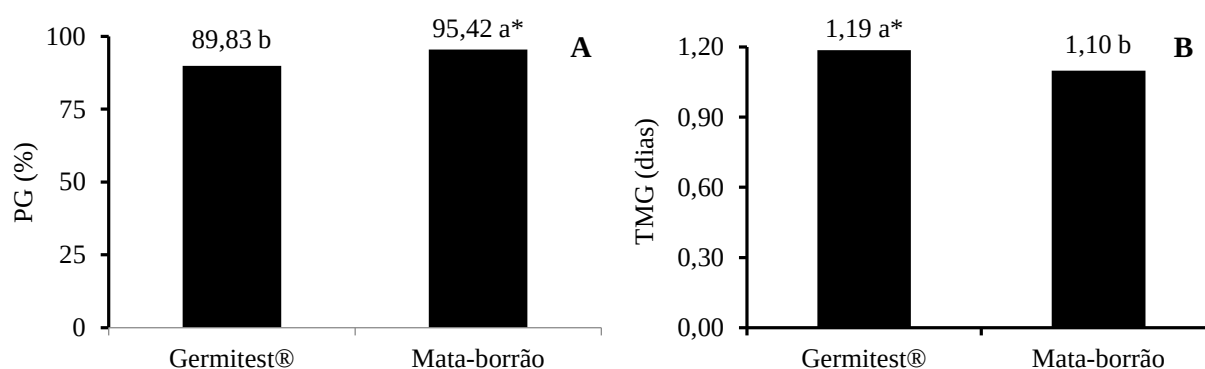
No final do teste de germinação, as plântulas normais de *S. hispanica* foram avaliadas quanto ao crescimento, determinando-se o comprimento de plântula da parte aérea (medição

do colo ao ápice da plântula com auxílio de régua graduada em cm) e da raiz primária (medição da base do colo à extremidade da raiz). Após as mensurações das plântulas, destacou-se a parte aérea da raiz, que foram acondicionadas em sacos de papel tipo Kraft e postas para secar em estufa de circulação de ar forçada, a 65 °C, até o peso constante. Em seguida, foram pesadas em balança analítica (0,0001 g), obtendo-se os dados de massa seca da parte aérea e da raiz. Com isso, determinou-se a relação raiz/parte aérea através do acúmulo de biomassa do sistema radicular em relação à parte aérea da plântula.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 6, sendo dois tipos de substratos (papel toalha do tipo Germitest® e mata-borrão) e seis volumes de água (1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 e 4,0) vezes a massa do papel seco, com quatro repetições de 50 sementes. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste 'F', com auxílio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR® (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as variáveis percentagem de germinação e tempo médio de geminação, verificou-se influência significativa ($p<0,05$) dos substratos, em que as sementes germinadas no substrato mata-borrão obtiveram maior percentagem de germinação e o menor tempo médio de germinação, em comparação com o substrato papel toalha do tipo Germitest[®], denotando que o substrato mata-borrão é mais eficiente para a germinação de sementes de *S. hispanica* (Gráfico 1A e B). Resultados semelhantes foram observados por Azeredo et al. (2010), em que o substrato mata-borrão favoreceu a germinação das sementes de repolho (*Brassica oleracea* var. *Capitata* L.) em comparação com o papel toalha.



*Letras iguais não diferem perante o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p<0,05$).

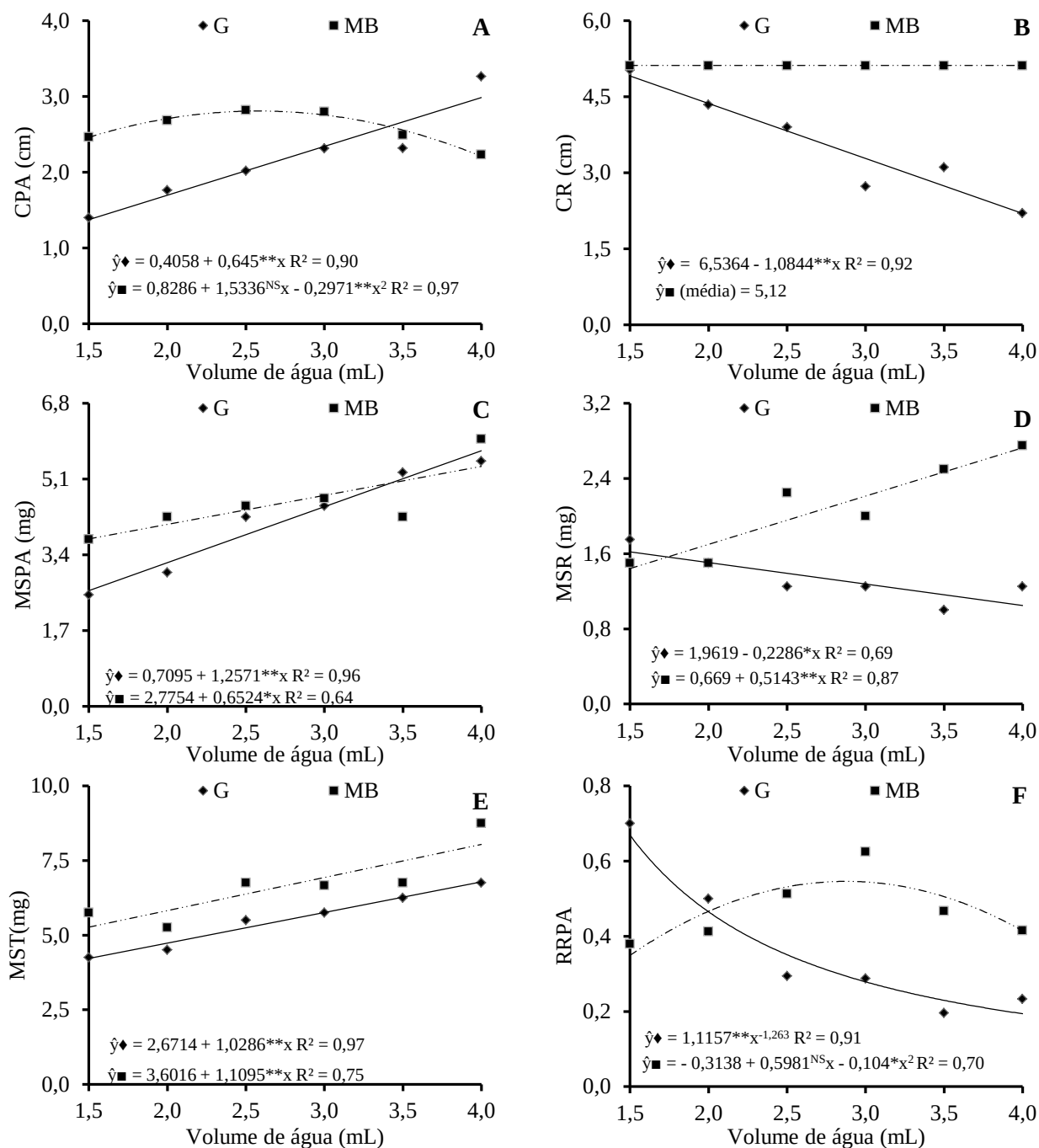
Gráfico 1 – Percentagem de germinação, PG (A) e tempo médio de germinação, TMG (B) de sementes de *S. hispanica* germinadas nos substratos de papel Germitest[®] (G) e mata-borrão (MB) em diferentes volumes de água. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Os níveis de umedecimento do substrato não influenciaram significativamente a percentagem e o tempo médio de germinação das sementes de *S. hispanica*, nos distintos substratos (Gráfico 1A e B). Estudos sobre a influência da quantidade de água no substrato, durante o processo germinativo, são importantes para as espécies em geral, tendo em vista que informações relacionadas à velocidade de hidratação mostram que este fator está ligado à disponibilidade hídrica, potencial mátrico do substrato, temperatura e características intrínsecas da semente (VARELA; RAMOS; MELO, 2005). Desse modo, a ausência da influência da hidratação sobre a geminação das sementes de *S. hispanica* pode estar relacionada ao fato de o lote trabalhado apresentar alto vigor. Com isso, as sementes

obtiveram altos índices de germinação, tolerando uma faixa de amplitude de umedecimento superior à das sementes de outras espécies agrícolas.

Influência significativa da interação substratos e volumes de água foi verificada para as variáveis comprimento da parte aérea, da radícula, massa seca da parte aérea, da radícula, total (plântula) e da relação raiz/parte aérea (Gráfico 2A, B, C, D, E e F). Como relatado, os volumes de água exerceram efeito sobre todas as variáveis de crescimento analisadas. Durante o processo germinativo, a absorção de água causa o amolecimento do tegumento, o aumento do volume do embrião e dos tecidos de reserva, favorecendo a ruptura do tegumento, a difusão gasosa e a emergência da raiz primária. Proporciona, ainda, a diluição do protoplasma, permitindo a difusão de hormônios e, conseqüentemente, ativação de sistemas enzimáticos. Com isso, desenvolve-se a digestão, translocação e a assimilação das reservas, resultando no crescimento do embrião (MARCOS FILHO, 2015), com respostas também sobre o desempenho de plântulas.

Para o comprimento da parte aérea e radicular das plântulas germinadas em papel toalha, verificou-se que o comprimento da parte aérea aumentou em 0,65 cm para cada aumento unitário no volume de água, ao passo que a radícula respondeu de forma inversa, reduzindo o crescimento em 1,08 cm por aumento unitário do volume de água (Gráficos 2A e B). A redução do crescimento da radícula em função da disponibilidade de água deve-se à inexistência de déficit hídrico. Dessa forma, não há estímulo ao desenvolvimento do sistema radicular em busca de condições favoráveis (disponibilidade de água). Além disso, essa redução não comprometeu o desenvolvimento da parte aérea da plântula nos substratos papel toalha, o que indica ausência de estresse. A redução do crescimento da radícula e o aumento do comprimento da parte aérea também foram observados por Martins; Bovi e Spiering (2009) em sementes de pumpunheira (*Bactris gasipaes*); por Guedes et al. (2010), em sementes de *Amburana cearenses*; Amaro et al. (2014), em sementes de repolho e Araújo et al. (2014) em sementes de cabacinha (*Luffa operculata*).



^{NS}, ** e * = não significativo, significativo a 0,01 e 0,05 ($p < 0,01$ e $p < 0,05$) de probabilidade, respectivamente.

Gráfico 2 – Comprimento da parte aérea, CPA (A), radícula, CR (B), massa seca da parte aérea, MSPA (C), da radícula, MSR (D), total, MST (E) e da relação raiz/parte aérea, RRPA (F) de plântulas de *S. hispanica* L. germinadas nos substratos de papel Germitest® (G) e mata-borrão (MB) em diferentes volumes de água. Ufersa, Mossoró/RN, 2017.

Para o papel mata-borrão, verificou-se comportamento quadrático para o comprimento da parte aérea, com o maior comprimento (2,81 cm) sob o volume estimado de 2,6 vezes o

peso do papel, com redução progressiva do crescimento em níveis de umedecimento maiores; todavia, não foi verificado efeito significativo para o comprimento radicular, com valor médio de 5,12 cm (Gráfico 2A e B). A redução do crescimento da parte aérea das plântulas germinadas no papel mata-borrão pode estar relacionada à menor disponibilidade de oxigênio, ao passo que, neste substrato há maiores limitações de espaço em relação ao papel toalha, facilitando o encharcamento.

Verificou-se comportamento linear crescente para o acúmulo de massa seca da parte aérea das plântulas de *S. hispanica* germinadas em ambos os substratos; as plântulas cultivadas no maior nível de umedecimento (4,0 vezes o volume do substrato) obtiveram crescimento 2,22 e 1,44 vezes superior ao do menor nível de umedecimento (1,5 vezes o volume do substrato), nos substratos de papel toalha e mata-borrão, respectivamente (Gráfico 2C).

Para o acúmulo de massa seca da raiz das plântulas de *S. hispanica*, verificou-se comportamento linear crescente em virtude dos volumes de água; para o substrato mata-borrão, com aumento de 89,6% no acúmulo de matéria seca das plantas cultivadas no maior nível de umedecimento em relação ao menor nível. Entretanto, para o substrato papel toalha houve comportamento linear decrescente, com reduções de 11,72% para cada aumento unitário do volume de água no substrato (Gráfico 2D). Segundo Carvalho e Nakagawa (2012), quando há água em excesso no meio de germinação, a entrada de oxigênio na semente pode ser comprometida, diminuindo a respiração e provocando atraso ou paralisação da germinação. As reduções do acúmulo de fitomassa observadas, em níveis superiores aos citados, possivelmente estão relacionadas à baixa disponibilidade de oxigênio para respiração da semente, devido ao excesso de água no substrato.

Para o acúmulo de massa seca total das plântulas de *S. hispânica*, foi observado comportamento linear crescente em ambos os substratos. As plântulas cultivadas no maior nível de umedecimento (4,0 vezes o volume do substrato) obtiveram crescimento superior, 61,28 e 53,14, ao do menor nível de umedecimento (1,5 vezes o volume do substrato), para os substratos o papel toalha e mata-borrão, respectivamente (Gráfico 2C). Segundo Taiz e Zeiger (2013), em situações de déficit hídrico, as plântulas têm seus processos metabólicos alterados, sendo a diferenciação e alongamento celular respostas dos tecidos vegetais à quantidade de água disponível no substrato, fato confirmado pelo menor acúmulo de fitomassa, constatado nas plântulas germinadas sob os menores volumes de água no substrato.

As sementes germinadas em papel Germitest[®] obtiveram maiores ganhos no acúmulo de massa seca total em relação às germinadas em papel mata-borrão (Gráfico 2E). Este fato pode estar relacionado ao maior volume de água disponível no papel toalha, haja vista a sua maior área e, conseqüentemente, maior peso em relação ao mata-borrão. O efeito da disponibilidade de água no ganho de massa seca das plântulas também foi constatado por Lopes e Macedo (2008) em sementes de *Brassica pekinensis* (Lour.) Rupr e Almeida e Rocha (2002) em sementes de *Brassica oleracea* (L.) Mill.

Na relação raiz/parte aérea das plântulas de *S. hispanica*, observou-se comportamento quadrático das que foram germinadas no papel mata-borrão, sendo o maior índice (0,55) obtido no volume estimado de 2,9 vezes o peso do papel, com posterior decréscimo da relação raiz/parte aérea (Gráfico 2F). Os resultados indicam que até o volume de 2,9 vezes o peso do papel houve maior investimento no desenvolvimento da radícula em relação à parte aérea, possivelmente devido à menor disponibilidade de água no substrato, porém, com o incremento da disponibilidade hídrica, o desenvolvimento da parte aérea sobressaiu em relação ao sistema radicular.

No tocante ao papel toalha, verificou-se redução potencial da relação raiz/parte aérea das plântulas de *S. hispanica*, indicando que as plântulas estabelecidas nessa condição apresentaram maior crescimento da parte aérea em relação ao sistema radicular, corroborando com os resultados da massa seca da raiz, fato relacionado à maior disponibilidade de água, assim como mencionado anteriormente (Gráfico 2F). Os resultados verificados apontam, sob condições favoráveis de disponibilidade hídrica, que a plântula tende a investir mais no crescimento da parte aérea em relação ao crescimento radicular. O aumento da disponibilidade de água no ganho de massa seca das plântulas também foi constatado por Pereira; Santos; Medeiros Filho (2011) em sementes de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal).

4 CONCLUSÕES

O teste de germinação de sementes de *S. hispanica* deve ser conduzido no substrato mata-borrão (sobre papel) com quantidade de água entre 2,5 a 4,0 vezes o peso do substrato seco.

As sementes germinadas no papel mata-borrão obtiveram maior germinação, crescimento e acúmulo de matéria seca das plântulas de *S. hispanica* em relação às plântulas germinadas no papel toalha Germitest[®].

REFERÊNCIAS

- ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, v. 2012, n. 1, p. 1–9, 2012.
- ALMEIDA, C. A.; ROCHA, S. C. S. Fluidodinâmica de sementes de brócolos. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 4, p. 645-652, 2002.
- AMARO, H. T. R.; DAVID, A. M. S. S.; CANGUSSÚ, L. V. S.; RODRIGUES, B. R. A.; ASSIS, M. O.; VELOSO, C. S. Umedecimento do substrato e temperatura na germinação e vigor de sementes de melão. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1119-1130, 2014.
- ARAÚJO, P. C.; ALVES, E. U.; URSULINO, M. M.; ARAÚJO, L. R.; SILVA, R. S. Different water volumes in the substrate and temperatures for germination of cabacinha seeds. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 367-370, 2014.
- AZEREDO, G. A.; SILVA, B. M. S.; SADER, R.; MATOS, V. P. Umedecimento e substratos para germinação de sementes de repolho. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 1, p. 77-82, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395 p.
- BUENO, M.; DI SAPIO, O.; BAROLO, M.; BUSILACCHI, H.; QUIROGA, M.; SEVERIN, C. Análisis de la calidad de los frutos de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae) comercializados en la ciudad de Rosario (Santa Fe, Argentina). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, Santiago, v. 9, n. 3, p. 221–227, 2010.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2012.
- CHICCO, A. G.; D’ALESSANDRO, M. E.; HEIN, G. J.; OLIVA, M. E.; LOMBARDO, Y. B. Dietary chia seed (*Salvia hispanica* L.) rich in alpha-linolenic acid improves adiposity and

normalizes hypertriacylglycerolaemia and insulin resistance in dyslipaemic rats. **British Journal of Nutrition**, London, v. 101, n. 1, p. 41-50, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLORES, A. V.; ATAÍDE, G. M.; BORGES, E. E. L.; GONÇALVES, L. E. S.; MANFIO, C. E. Umedecimento do substrato e temperatura na germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 8, n. 3, p. 454-457, 2013.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; BRAGA JÚNIOR, J. M.; VIANA, J. S.; COLARES, P. N. Q. Substratos e temperaturas para testes de germinação e vigor de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 57-64, 2010.

JEONG, S. K.; PARK, H. J.; PARK, B. D.; KIM, I. H. Effectiveness of Topical Chia Seed Oil on Pruritus of End-stage Renal Disease (ESRD) Patients and Healthy Volunteers. **Annals of Dermatology**, Seoul, v. 22, n. 2, p. 143–148, 2010.

LOPES, J. C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de couve chinesa sob influência do teor de água, substrato e estresse salino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 79-85, 2008.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015.

MARTINS, C. C.; BOVI, M. L. A.; SPIERING, S. H. Umedecimento do substrato na emergência e vigor de plântulas de pupunheira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 224-230, 2009.

PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, L. R. C.; FELICIANO, A. L. P. Germinação de sementes de *Apeiba tibourbou* em função de diferentes substratos e temperaturas. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 73, n. 1, p. 19-25, 2007.

PEREIRA, M. D.; SANTOS, C. E. M.; MEDEIROS FILHO, S. M. Germinação de sementes de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 6, n. 1, p. 79-84, 2011.

SCHMIDT, L. **Tropical forest seed**. New York: Springer, 2007.

SCHUAB, S. R. P.; BRACCINI, A. L.; FRANÇA NETO, J. B.; SCAPIM, C. A.; MESCHEDE, D. K. Potencial fisiológico de sementes de soja e sua relação com a emergência das plântulas em campo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 553-561, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

VARELA, V. P.; RAMOS, M. B. P.; MELO, M. F. F. Umedecimento do substrato e temperatura na germinação de sementes de angelim-pedra (*Dinizia excelsa* Ducke). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 27, n. 2, p. 130-145, 2005.

CAPÍTULO 3

REGIMES DE LUZ E TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Salvia hispanica* L.

RESUMO

Objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes regimes de luz e temperaturas sobre a germinação e vigor de sementes de *S. hispanica*. Para isso, adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 6, constituído pela combinação de três condições de luminosidade (luz constante, escuro constante e alternância luz/escuro com 8 h de luz e 16 h de escuro) e seis temperaturas (quatro temperaturas constantes 20, 25, 30 e 35 °C, e duas alternadas 20-30 e 25-30°C), perfazendo 18 tratamentos com quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram semeadas em caixas de plástico transparente, tendo como substrato papel mata-borrão e colocadas para germinar em *Biochemical Oxygen Demand*. As sementes foram avaliadas durante oito dias, por meio das seguintes variáveis: percentagem e tempo médio de germinação, comprimento da parte aérea e da radícula, massa seca da parte aérea e da radícula e relação raiz/parte aérea. O teste de germinação de sementes de *S. hispanica* pode ser conduzido em temperaturas constantes de 25 °C e alternada de 25-30 °C. A germinação das sementes mostrou-se indiferente à luminosidade (fotoblástica neutra). No entanto, verificou-se maior crescimento das plântulas e acúmulo de massa seca na presença de luz.

Palavras-chave: Lamiaceae. Chia. Desenvolvimento de plântulas. Temperatura. Fotoblastismo.

LIGHT AND TEMPERATURE REGIME ON SEED GERMINATION OF *Salvia hispanica* L.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of different light and temperature regimes on the germination and vigor of *S. hispanica* seeds. For this, a completely randomized experimental design was used in a 3 x 6 factorial scheme, consisting of the combination of three luminosity conditions (constant light, constant dark and light / dark alternation with 8 h light and 16 h dark) and six temperatures (four constant temperatures 20, 25, 30 and 35 °C, and two alternating 20-30 and 25-30°C), making 18 treatments with four replicates of 50 seeds. The seeds were seeded in transparent plastic boxes, having as substrate paper blotters and placed to germinate in Biochemical Oxygen Demand. Seeds were evaluated during eight days, using the following variables: percentage and mean germination time, shoot and radicular length, shoot and root dry mass and root / shoot ratio. The *S. hispanica* seed germination test can be conducted at constant temperatures of 25 ° C and alternating 25-30 ° C. The germination of the seeds was indifferent to the luminosity (neutral photoblastic). However, we observed a greater growth of the seedlings and accumulation of dry mass in the presence of light.

Keywords: Lamiaceae. Chia. Seedling development. Temperature. Photoblastism.

1 INTRODUÇÃO

Salvia hispanica L., família Lamiaceae, é uma oleaginosa nativa da região que se estende do centro-oeste do México ao norte da Guatemala e destaca-se pela adaptação a regiões de climas tropicais e subtropicais (CAPITANNI et al., 2012). Nos últimos anos, a semente desta espécie tornou-se importante na alimentação humana por fornecer benefícios à saúde, como, por exemplo, a redução de doenças cardiovasculares, obesidade, regulação do intestino, colesterol e triglicerídeos, bem como prevenção do diabetes do tipo II (JIN et al., 2012, POUDYAL et al., 2012).

As sementes de *S. hispanica* também têm sido objeto de investigação, devido aos seus elevados teores de proteína, antioxidantes, fibra dietética e qualidade do seu óleo (30 g de óleo/100 g de peso de semente), cujos constituintes, presentes em altas concentrações, são os ácidos alfa-linolênico (50-57%) e linoleico (17-26%) (IXTAINA et al., 2011).

Esta espécie é relativamente estudada do ponto de vista alimentício e medicinal. No entanto, no tocante à parte agrônômica as pesquisas ainda são bastante escassas, sobretudo no que se refere à tecnologia de sementes. Trata-se de uma espécie que não é contemplada nas Regras para Análise de Sementes tanto nacionais (BRASIL, 2009) quanto internacionais (ISTA, 2016), tornando dificultosa a avaliação da qualidade de suas sementes pela inexistência de métodos padronizados.

Durante a germinação de sementes, ocorre uma sequência de eventos fisiológicos que são influenciados por fatores intrínsecos (dormência, maturidade fisiológica e genótipo) e extrínsecos (luz, temperatura, disponibilidade de água e substrato) (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Cada fator influi de forma específica, atuando isolado ou em conjunto, devendo-se levar em consideração a sensibilidade de cada espécie (BEWLEY; BLACK, 1994).

A temperatura é um dos principais fatores responsáveis por afetar a germinação das sementes e sua velocidade, pois atua diretamente na absorção de água pela semente e nas reações bioquímicas que regulam o metabolismo envolvido no processo germinativo (MARCOS-FILHO, 2015), salientando-se que o período de germinação pode mudar completamente em resposta à temperatura (COPELAND; MCDONALD, 1995).

Assim como a temperatura, a luz atua diretamente no processo germinativo da semente, o qual é influenciado pela qualidade, intensidade luminosa e tempo de irradiação (YAMAUTI et al., 2012), podendo ainda ser influenciado pelo período e temperatura de embebição da semente. Menezes et al. (2004), estudando a germinação de sementes de *S.*

splendens Sellow sob diferentes temperaturas e qualidades de luz, observaram que as sementes de *S. splendens* comportam-se indiferentes à luz, embora germinem melhor na luz vermelha extrema e na ausência de luz, e que temperaturas de 15 °C retardam sua germinação.

O teste de germinação é um dos principais itens utilizados para avaliação da qualidade fisiológica das sementes, sendo capaz de determinar a taxa de semeadura e a comparação de distintos lotes para armazenamento e comercialização (MARTINS et al., 2008). A metodologia desse teste segue os padrões descritos nas Regras para Análise de Sementes nacionais e internacionais. No entanto, para sementes de *S. hispanica* não há informações sobre regime de luz, temperatura e substrato adequados para condução do teste.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes regimes de luz e temperaturas sob a germinação e vigor de sementes de *S. hispanica*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró - RN. Para isso, utilizaram-se sementes de *S. hispanica*, safra 2013/2014, adquiridas junto aos produtores de Santana do Livramento, Rio Grande do Sul (30° 53' 27" S, 55° 31' 58" W e 208 m de altitude). As sementes foram homogeneizadas, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em câmara fria (10°C e 50% de umidade relativa do ambiente) até a realização do experimento.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 6, constituído pela combinação de três condições de luminosidade e seis temperaturas, perfazendo 18 tratamentos com quatro repetições de 50 sementes.

Para a realização do teste de germinação, as sementes foram dispostas em caixas plásticas transparentes tipo gerbox (11 x 11 x 3,5 cm), contendo duas folhas de papel mata-borrão como substrato, semeadas sobre papel. Antes da semeadura, o substrato foi umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco e posteriormente acondicionadas em germinadores tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B. O. D.).

As condições de luminosidade utilizadas no experimento foram: luz constante, escuro constante e alternância luz/escuro, sendo esta última correspondente a 8 h de luz e 16 h de escuro. Para a condição de luz branca, foram utilizadas lâmpadas fluorescentes (20 W) (OLIVEIRA-BENTO et al., 2013). A ausência de luz foi obtida mediante uso de papel alumínio envolvendo caixas gerbox impedindo a incidência luminosa. Para a avaliação realizada em ausência de luz, os testes foram instalados e avaliados sob luz verde, provenientes de lanterna revestida por duas folhas de papel celofane verde (COELHO et al., 2012). As temperaturas foram constituídas de quatro constantes 20, 25, 30 e 35 °C e duas alternadas 20-30 e 25-30 °C, com duração de 8 e 16 horas para a maior e menor temperatura, respectivamente.

O teste de germinação foi acompanhado por oito dias após a semeadura, considerando-se como plântulas normais a emissão da raiz primária e parte aérea da plântula (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em percentagem. Para a determinação do tempo médio de germinação, as contagens diárias foram realizadas no mesmo horário durante o período do teste de germinação, contabilizando-se as sementes germinadas que atenderam aos mesmos

padrões de normalidade para o teste de germinação. Para os cálculos do tempo médio de germinação, seguiu-se a recomendação de Labouriau; Valadares (1976), utilizando-se a seguinte fórmula: $t = \frac{\sum n_i t_i}{\sum n_i}$, onde: t = tempo médio de germinação, n_i = número de sementes germinadas por dia, t_i = tempo de germinação (dias).

No final do teste de germinação, as plântulas normais de cada unidade experimental foram avaliadas quanto ao crescimento, determinando-se o comprimento de plântula da parte aérea (medição do colo ao ápice da plântula) e da raiz primária (medição da base do colo à extremidade da raiz). Após as mensurações das plântulas, destacou-se a parte aérea da raiz, que foram acondicionadas em sacos de papel e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, a 65 °C, durante 72 h. Em seguida, foram pesadas em balança analítica (0,0001 g), obtendo-se os dados de massa seca da parte aérea e da raiz. Com isso, determinou-se a relação raiz/parte aérea por meio do acúmulo de biomassa do sistema radicular em relação à parte aérea da plântula.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste 'F', e nos casos de significância as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, com auxílio do programa computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os resultados de germinação e o tempo médio de germinação, observou-se interação significativa entre os fatores luminosidade e temperatura. Sendo assim, as sementes de chia são indiferentes à luminosidade, ou seja, seu processo germinativo ocorre na presença ou na ausência de luz. A germinação em diferentes condições de luz pode ser devido à quantidade de fitocromo na forma ativa existente nas sementes ser suficiente para induzir o processo germinativo (MARCOS FILHO, 2015). De forma semelhante ao observado no presente trabalho, sementes de diversas espécies são indiferentes ao regime de luz, a exemplo da *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard (ALVES et al., 2012) e da *Dalbergia cearensis* Ducke (NOGUEIRA et al., 2014), capazes de geminar tanto em presença quanto em ausência de luz.

Tabela 1 – Germinação de sementes de chia (*Salvia hispanica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Germinação (%)		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	93 aA*	95 aA	95 aA
25	97 aA	80 abA	99 aA
30	95 aA	55 cB	69 bB
35	33 bB	56 bcA	66 bA
20-30	94 aA	85 aA	97 aA
25-30	92 aA	82 aA	94 aA
CV = 14,59%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos para sementes de *S. hispanica* nas temperaturas constantes de 20 e 25 °C foram estatisticamente semelhantes às temperaturas alternadas de 20-30 °C e 25-30 °C, independentemente dos regimes de luminosidade (Tabela 1). Verificou-se ainda reduções na percentagem de germinação das sementes de chia sob condições de escuro constante e alternância de luz nas temperaturas de 30 e 35 °C, e em condição de luz constante na temperatura de 35 °C (Tabela 1).

Tais resultados denotam a influência das altas temperaturas sobre inibição do processo germinativo das sementes de *S. hispanica*, sendo que o estresse térmico foi menos intenso sob a condição de luz constante. Nessa condição luminosa, possivelmente ocorreram estímulos na atividade respiratória das sementes, promovendo seu equilíbrio térmico até a temperatura de 30 °C, a partir da qual a atividade respiratória não foi suficiente para regular a temperatura das

sementes, ocasionando o estresse térmico, afetando possivelmente sua atividade enzimática e, com isso, reduzindo seu potencial germinativo. Todavia, a capacidade das sementes germinarem em ambas as condições de temperatura reflete a capacidade de adaptação da espécie às variações térmicas do meio. De acordo com Guedes et al. (2010), espécies com capacidade de estabelecimento sob as mais distintas condições de temperatura apresentam maior potencial de resistência às condições de adversidades do ambiente, assim como verificado nas sementes de *S. hispânica*, que apresentam potencial germinativo satisfatório quando conduzidas sob temperaturas 20 a 30 °C.

Averiguou-se que o maior tempo médio de germinação foi obtido na condição de escuro constante, independentemente da temperatura avaliada, variando, em média, de 3,33 a 4,41 dias para germinação (Tabela 2). Nas condições de luz constante e alternância, verificou-se que os menores tempos médios de germinação foram obtidos nas temperaturas constantes de 25 e 30 °C e na alternada de 25-30 °C. Corroborando com os resultados obtidos no teste de germinação, em que os maiores valores foram verificados nas temperaturas de 25 °C e 25-30 °C sob luz constante e na alternância de luz e a 30 °C com luz constante.

Tabela 2 – Tempo médio de germinação de sementes de chia (*Salvia hispânica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Tempo médio de germinação (dias)		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	3,14 bcA*	3,80 abB	3,29 aA
25	2,84 abcA	3,33 aB	2,83 aA
30	2,59 aA	3,50 aB	3,18 aB
35	4,04 dB	4,31 cB	3,15 aA
20-30	3,18 cA	3,98 bcB	3,28 aA
25-30	2,68 abA	3,66 abB	3,06 aA
CV = 6,81%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Pelos resultados da Tabela 2, a avaliação do teste de germinação de sementes de chia pode ser realizado entre o terceiro e o quinto dia após a semeadura. As condições que favorecem a maior percentagem de germinação e o menor tempo médio são as temperaturas constante de 25 °C e alternada de 25-30 °C, sob luz constante e alternância de luz.

Os resultados obtidos na pesquisa foram semelhantes aos verificados por Oliveira-Bento et al. (2013) com germinação de sementes de flor-de-seda (*Calotropis procera* AITON) submetidas a diferentes temperaturas e regimes de luminosidade. Estes autores constataram

que a presença de luz durante o teste de germinação proporcionou redução no tempo médio de germinação quando conduzido sob as temperaturas de 20-30 °C, 25-30 °C e 30 °C.

Resultados divergentes foram obtidos por Nogueira et al. (2014), estudando o efeito da temperatura e luz na germinação de sementes de *Dalbergia cearensis* Ducke, em que o menor tempo médio de germinação foi obtido com 30 °C, tanto para o escuro quanto para a luz (3,54 e 3,81 dias, respectivamente). E o maior tempo médio de germinação foi verificado quando se utilizou a temperatura de 20 °C, tanto para o escuro quanto para a luz (5,86 e 6,31 dias, respectivamente). No entanto, a espécie em questão ocorre no bioma Caatinga, adaptada a condições de altas temperaturas, divergindo da espécie estudada neste trabalho, que é uma planta de clima subtropical adaptada às temperaturas amenas, o que confirma o postulado de Cardoso (2004), de que a influência de um fator sobre o processo germinativo da semente é dependente da sensibilidade de cada espécie.

Os maiores comprimentos da parte aérea foram obtidos em plântulas oriundas de regime de escuro constante para todas as temperaturas empregadas (Tabela 3). Com isso, acredita-se que a ausência de luz tenha promovido o desbalanço hormonal, estimulando ao estiolamento das plântulas de chia. Este fato ocorre devido ao aumento da síntese de giberelina, fazendo o caule crescer excessivamente em busca da obtenção de luz (TAIZ; ZEIGER, 2013), assim como verificado nas plântulas de *S. hispanica*.

Tabela 3 – Valores médios de comprimento da parte aérea de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Comprimento da parte aérea (cm)		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	2,32 bC*	4,38 eA	3,22 bcB
25	2,82 abC	6,68 cA	4,47 aB
30	2,98 aC	7,94 aA	4,26 aB
35	1,07 cC	4,67 eA	2,90 cB
20-30	2,28 bC	5,87 dA	3,50 bB
25-30	3,11 aC	7,27 bA	4,48 aB
CV = 6,40%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

As plântulas de *S. hispanica* germinadas sob luz constante apresentaram menores comprimentos da parte aérea, independentemente da temperatura (Tabela 3), fato que, devido ao excesso de luz absorvida, desencadeia uma condição de estresse conhecida como

fotoinibição, definido como a inibição da fotossíntese pelo excesso de luz (ADIR et al., 2003). Acredita-se ainda que possam ter ocorrido algumas alterações enzimáticas, a exemplo do aumento da síntese da enzima clorofilase, intensificando, com isso, a degradação da clorofila no citocromo (PÁDUA, 2006).

Para as plântulas de *S. hispanica*, oriundas de sementes germinadas sob o regime de alternância de luz nas temperaturas de 25 °C e 30 °C e na temperatura alternada de 25-30 °C verificou-se maiores comprimentos da parte aérea. Todavia, para a temperatura de 35 °C foi verificado o menor comprimento da parte aérea (2,90 cm), sendo este inferior em 35, 32 e 35% em relação às temperaturas de 25 (4,47 cm) e 30 °C (4,26 cm) e para a alternada de 25-30 °C (4,48 cm), respectivamente (Tabela 3), o que reflete a alta sensibilidade das plântulas de *S. hispanica* ao estresse térmico, possivelmente em virtude de as altas temperaturas terem acarretado diminuição do suprimento de aminoácidos livres e da síntese de proteínas e, com isso, diminuição do crescimento da plântula (SANTOS; SUGAHAR; TAKAK, 2005).

Verificou-se que, quando as sementes de *S. hispanica* foram germinadas sob luz constante, as plântulas apresentaram maior comprimento radicular para todas às temperaturas, com exceção das germinadas na temperatura de 35 °C, que obtiveram menor crescimento (Tabela 4). Comportamento diferente do observado para o comprimento da parte aérea, em que as plântulas provenientes de sementes germinadas em condições de luz constante obtiveram os menores resultados. Possivelmente o excesso de luz reduziu a síntese de auxinas estimulando o crescimento radicular, haja vista que este hormônio é responsável por equilibrar o crescimento da parte aérea e radicular (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Assim como observado no regime de luz constante e no escuro constante, não foram constatadas diferenças entre as temperaturas estudadas, exceto para a temperatura de 35 °C, que obteve os menores comprimentos radiculares em relação às demais temperaturas, denotando que a sensibilidade ao estresse térmico independe do regime de luz.

Para o comprimento radicular das plântulas de *S. hispanica*, provenientes de sementes germinadas sob alternância de luz, as temperaturas alternadas 20-30 e 25-30 °C promoveram os maiores comprimentos, seguidas das temperaturas constantes de 25 e 30 °C (Tabela 4). Verifica-se ainda que as temperaturas constantes de 20 e 35 °C promoveram os menores comprimentos de raiz, o que permite constatar que as sementes de chia, além de serem sensíveis ao estresse térmico por altas temperaturas, são sensíveis ao estresse térmico por baixas temperaturas, haja vista que este último promove diminuição das taxas metabólicas, afetando desde a germinação até o crescimento das plântulas (HENDRICKS; TAYLORSON,

1976). Acredita-se, com isso, que os resultados promissores averiguados sob a temperatura alternada de 20-30 °C possivelmente estão relacionados à exposição à temperatura de 30 °C (8 h), de modo que a faixa ótima de temperatura para o crescimento de plântulas de chia observado no presente estudo variou de 25 a 30 °C.

Tabela 4 – Valores médios de comprimentos radiculares de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Comprimento radicular (cm)		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	4,91 aA*	3,66 aB	4,15 bB
25	5,13 aA	3,49 aB	5,03 abA
30	5,65 aA	3,20 aC	4,36 abB
35	1,82 bB	1,83 bB	3,12 cA
20-30	5,41 aA	3,78 aB	5,16 aA
25-30	5,19 aA	3,34 aB	4,52 abA
CV = 10,59%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Para a massa seca da parte aérea, verificou-se diferença entre os regimes de luz apenas nas temperaturas de 20 e 35 °C (Tabela 5). A 20 °C, observou-se que as sementes germinadas no regime de escuro constante obtiveram maior acúmulo de massa seca, provavelmente devido ao maior comprimento da parte aérea, provocado pelo estiolamento das plântulas (Tabela 3). Para sementes de *S. splendens*, os maiores conteúdos de massa seca foram obtidos na temperatura 20 °C sob regime de luz branca (MENEZES et al., 2004), denotando que há divergência entre as plantas do gênero *Salvia* quanto ao regime de luz.

Tabela 5 – Massa seca da parte-aérea de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Massa seca da parte aérea (mg)		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	9,0 aAB*	9,5aA	8,0 abB
25	8,2 aA	9,0 abA	9,4 aA
30	8,5 aA	7,5 bA	7,5 bA
35	5,2 bB	4,7 cB	7,0bA
20-30	7,5 aA	8,5 abA	7,5 bA
25-30	8,3 aA	8,7 abA	8,5 abA
CV = 10,56%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Na temperatura de 35 °C, foi observado o maior acúmulo de massa seca no regime de alternância de luz, superior em 25 e 32% aos regimes de luz constante e escuro constante, respectivamente. Acredita-se que devido à alternância de luz (8 h de luz e 16 h de escuro) não ocorreu estiolamento ou a saturação luminosa das plântulas, havendo, com isso, maior equilíbrio metabólico delas, estimulando ao maior acúmulo de biomassa.

Salienta-se ainda que os maiores acúmulos de matéria seca da parte aérea ocorreram nas temperaturas de 20 e 25 °C, corroborando com Pacheco Junior et al. (2013) em plântulas de pimenta-longa (*Piper hispidinervum*), em que o maior acúmulo de matéria seca ocorreu nas plântulas sob temperaturas de 25 °C.

Observou-se que o maior acúmulo de massa seca da radícula ocorreu nas plântulas oriundas das sementes germinadas nas temperaturas de 20 °C para escuro constante; 20 e 25 °C para alternância de luz e na temperatura alternada de 20-30 °C na condição de luz constante (Tabela 6). Estes resultados estão de acordo com os verificados no crescimento do sistema radicular, observando-se também variação nas respostas das plântulas de chia à temperatura sob diferentes regimes de luz, sendo os melhores resultados encontrados nas plântulas germinadas a 25 °C, sob alternância de luz.

O maior conteúdo de massa seca obtido nos tratamentos citados pode ser explicado pelo fornecimento das condições necessárias à germinação. Nessa condição, as sementes originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função da maior capacidade de transformação e suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e maior incorporação destes pelo eixo embrionário e pela radícula (NAKAGAWA, 1999).

Tabela 6 – Massa seca da raiz de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Massa seca da raiz (mg)		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	3,7 abA	2,7 aB	3,7 aA
25	3,7 abA	2,0 abB	4,1 aA
30	3,2 abA	1,7 abB	2,2 bcB
35	1,7 cA	1,0 bA	1,5 cA
20-30	4,2 aA	1,7 abC	3,2 abB
25-30	3,0 bA	1,5 bB	3,2 abA
CV = 20,58%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A relação raiz/parte aérea reflete o equilíbrio de crescimento da plântula. Essa relação deve estar situada próxima a 0,50, de modo que o crescimento do sistema radicular corresponda a 50% do crescimento da parte aérea. De acordo com essa pressuposição, observa-se que as temperaturas constantes de 20 e 25 °C e alternadas de 20-30 e 25-30 °C proporcionaram melhores relações raiz/parte aérea sob os regimes de luz constante e alternância de luz (Tabela 7). Observa-se ainda que nestas condições de luminosidade as plântulas advindas de sementes germinadas nas temperaturas de 30 e 35 °C obtiveram as menores relações raiz/parte aérea. Com isso, provavelmente o aumento da temperatura inibiu o crescimento radicular nas plântulas de chia.

Tabela 7 – Relação raiz/parte aérea de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.) submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Temperatura (°C)	Relação raiz/parte aérea		
	Regimes de Luz		
	Luz constante	Escuro constante	Alternância de luz
20	0,42 abA	0,29 aB	0,46 aA
25	0,45 abA	0,22 aB	0,44 abA
30	0,38 bA	0,23 aB	0,30 bcAB
35	0,33 bA	0,23 aA	0,22 cA
20-30	0,56 aA	0,20 aC	0,43 abB
25-30	0,36 bA	0,17 aB	0,38 abA
CV = 21,58%			

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Nas sementes germinadas sob condição de luz constante, foram observadas as menores relações raiz/parte aérea quando comparadas aos demais regimes de luz. Este fato pode estar relacionado ao estiolamento das plântulas, acarretando no crescimento irregular da parte aérea em relação ao crescimento do sistema radicular.

4 CONCLUSÕES

O teste de germinação de sementes de *S. hispanica* pode ser conduzido em temperaturas constante de 25 °C e alternada de 25-30 °C.

A germinação das sementes de *S. hispanica* é indiferente à luminosidade (fotoblástica neutra). No entanto, o maior crescimento e acúmulo de massa seca ocorrem na presença de luz.

REFERÊNCIAS

- ADIR, N.; ZER, H.; SHOCHAT, S.; OHAD, I. Photoinhibition – a historical perspective. **Photosynthesis Research**, Copenhagen, v. 76, n. 3, p. 343-370, 2003.
- ALVES, M. M.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, K. R. G.; SANTOS-MOURA, S. S.; BARROZO, L. M.; ARAÚJO, L. R. Potencial fisiológico de sementes de *Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. – Fabaceae submetidas a diferentes regimes de luz e temperatura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 12, p. 2199-2205, 2012.
- AUD, F. F.; FERRAZ, I. D. K. Seed size influence on germination responses to light and temperature of seven pioneer tree species from the Central Amazon. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 759-766, 2012.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. Plenum Press: New York, 1994.
- BITA, C. E.; GERATS, T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 4, n. 1, p. 1-18, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.
- CAPITANNI, M. I.; SPORTORNO, V.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. **Food Science and Technology**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 94-102, 2012.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. FUNEP, Jaboticabal, 2012.
- COELHO, M. F. B.; SANCHES, V. L.; AZEVEDO, R. A. B. Emergência de sementes de timbó em diferentes condições de luz. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 25, n. 1, p. 194-198, 2012.
- COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. **Principles of seeds science and technology**. New York: Chapman Hall, 1995.

DAMATTA, F. M.; RAMALHO, J. D. C. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 55-81, 2006.

FAROOQ, M.; WAHID, A.; KOBAYASHI, N.; FUJITA, D.; BASRA, S. M. A. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. **Agronomy for Sustainable Development**, Les Ulis, v. 29, n. 1, p. 185-212, 2009.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; BRAGA JÚNIOR, J. M.; VIANA, J. S.; COLARES, P. N. Q. Substratos e temperaturas para testes de germinação e vigor de sementes de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 34, n. 1, p. 57-64, 2010.

HENDRICKS, S. B.; TAYLORSON, N. B. Variation in germination and aminoacid leakage of seeds with temperature related to membrane phase change. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 58, n. 1, p. 7-11, 1976.

ISTA. **International Rules for Seed Testing**. The International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland: ISTA, 2016

IXTAINA, V. Y.; MARTÍNEZ, M. L.; SPOTORNO, V.; MATEO, C. M.; MAESTRI, D. M.; DIEHL, B. W. K.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 24, n. 2, p. 166-174, 2011.

JIN, F.; NIEMAN, D. C.; SHA, W.; GUOXIANG XIE, G.; QIU, Y.; JIA, W. Supplementation of milled chia seeds increases plasma ALA and EPA in postmenopausal women. **Plant Foods for Human Nutrition**, Kannapolis, v. 67, n. 2, p. 105-110, 2012.

KLECZEWSKI, N. M.; HERMS, D. A.; BONELLO, P. Effects of soil type, fertilization and drought on carbon allocation to root growth and partitioning between secondary metabolism and ectomycorrhizae of *Betula papyrifera*. **Tree Physiology**, Oxford, v. 30, n. 7, p. 807-817, 2010.

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 2, p. 263-284, 1976.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Piracicaba: Fealq, 2015.

MARTINS, A. B. N.; MARINI, P.; BANDEIRA, J. M.; VILLELA, F. A.; MORAES, D. M. Analysis of seed quality: a nonstop evolving activity. **African Journal of Agricultural Research**, Abuja, v. 9, n. 49, p. 3549-3554, 2014.

MENEZES, N. L.; FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T.; NUNES, E. P. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 32-37, 2004.

NOGUEIRA, F. C. B.; GALLÃO, M. I.; BEZERRA, A. M. E.; MEDEIROS-FILHO, S. Efeito da temperatura e luz na germinação de sementes de *Dalbergia cearensis* Ducke. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 24, n. 4, p. 997-1007, 2014.

OLIVEIRA-BENTO, S. R. S.; TORRES, S. B.; OLIVEIRA, F. N.; PAIVA, E. P.; BENTO, D. A. V. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Calotropis procera* Aiton (Apocynaceae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1194-1205, 2013.

PACHECO JUNIOR, F.; SILVA, J. B.; NEGREIROS, J. R. S.; SILVA, M. R. G. FARIAS, S. B. (2013). Germination and vigor of long-pepper seeds (*Piper hispidinervum*) as a function of temperature and light. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 2, p. 325-333, 2013.

POUDYAL, H.; PANCHAL, S.; WAANDERS, J.; WARD, L.; BROWN, L. Lipid redistribution by α -linolenic acid-rich chia seed inhibits stearoyl CoA desaturase-and induces cardiac and hepatic protection in diet induced obese rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Seoul, v. 23, n. 2, p. 153-162, 2012.

SANTOS, D. L.; SUGAHARA, V. Y.; TAKAKI, M. Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich, *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Standl. e *Tabebuia roseo-alba* (Ridl) Sand - Bignoniaceae. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 15, n. 1, p. 87-92, 2005.

SCHUAB, S. R. P.; BRACCINI, A. L.; FRANÇA NETO, J. B.; SCAPIM, C. A.; MESCHEDE, D. K. Potencial fisiológico de sementes de soja e sua relação com a emergência das plântulas em campo. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 4, p. 553-561, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

YAMAUTI, M. S.; PAVANI, M. C. M. D.; ALVES, P. L. C. A.; MORO, F. V. Efeito de fatores ambientais sobre a germinação de agriãozinho (*Synedrellopsis grisebachii*). **Científica**, Jaboticabal, v. 40, n. 2, p. 150-155, 2012.

CAPÍTULO 4

GERMINAÇÃO E COMPONENTES BIOQUÍMICOS DE SEMENTES DE CHIA (*Salvia hispanica* L.) SOB DIFERENTES SALINIDADES E TEMPERATURAS

RESUMO

A maioria das sementes é susceptível aos efeitos da salinidade, induzidos pelo aumento do potencial osmótico e pelo efeito iônico, que por sua vez afetam a absorção de água, modificando, conseqüentemente, o processo de embebição e com isso prejudicando a germinação e o crescimento das plântulas. Diante disto, objetivou-se avaliar os efeitos da salinidade sobre a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de *S. hispanica* em diferentes temperaturas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 5 x 4, sendo cinco concentrações salinas: 0,0 (controle); 4,5; 9,0; 13,5 e 18,0 dS m⁻¹ e quatro temperaturas: 20; 25; 30 e 20-30 °C, com quatro repetições de 50 sementes. O teste de germinação teve duração de oito dias, sob fotoperíodo de oito horas de luz. Durante a condução do experimento, avaliou-se a germinação, o crescimento, os componentes bioquímicos e o acúmulo de fitomassa das plântulas de *S. hispanica*. Níveis de salinidade superiores a 4,5 dS m⁻¹ associadas às temperaturas de 30 ou 20-30°C afetam negativamente a germinação, o vigor, o crescimento e os componentes bioquímicos de plântulas. A temperatura de 25 °C proporciona as melhores condições para o desenvolvimento das plântulas de *S. hispanica*.

Palavras-chave: Lamiaceae. Chia. Estresse salino. Estresse térmico. Fisiologia de sementes.

GERMINATION AND BIOCHEMICALS COMPONENTS OF *Salvia hispanica* SEED UNDER DIFFERENT SALINITIES AND TEMPERATURES

ABSTRACT

Most of the seeds are susceptible to the salinity effects, induced by the increase of the osmotic potential and the ionic effect, which in turn affect the water absorption, consequently modifying the inhibition process and, thus, impairing the germination and growth of the seedlings. The objective of this study was to evaluate the effects of salinity on germination and initial development of *S. hispanica* seedlings at different temperatures. The experimental design was entirely the case, with treatments distributed in a 5 x 4 factorial scheme, with five salt concentrations: 0.0 (control); 4.5; 9.0; 13.5 and 18.0 dS m⁻¹ and four temperatures: 20; 25; 30 and 20-30 °C, with four replicates of 50 seeds. The germination test lasted eight days, under a photoperiod of eight hours of light. During the course of the experiment germination, growth, biochemical components and phytomass accumulation of *S. hispanica* seedlings were evaluated. Salinity levels greater than 4.5 dS m⁻¹ associated with temperatures of 30 or 20-30 °C affect negatively germination, vigor, growth and biochemical components of seedlings. The temperature of 25 °C provides the best conditions for the development of *S. hispanica* seedlings.

Keywords: Lamiaceae. Chia. Salt stress. Thermal stress. Seed physiology.

1 INTRODUÇÃO

Salvia hispanica L., conhecida como chia, é uma planta herbácea anual, que contém óleos essenciais em suas folhas, caules e sementes. A espécie é cultivada principalmente no México, Bolívia, Equador e Guatemala (CAPITANNI et al., 2012; MARTÍNEZ et al., 2012). No Brasil, o cultivo da *S. hispanica* tem despertado o interesse dos produtores, em função da crescente demanda por produtos alimentícios funcionais, haja vista que suas sementes são indicadas para reduzir os níveis de colesterol, combater os radicais livres, controlar o diabetes e auxiliar no emagrecimento, devido ao seu alto teor de fibras (que chega a 30%), baixo índice glicêmico, além de ser fonte de ômega 3 e 6 (ALI, 2012).

Porém, as informações sobre germinação e estabelecimento das plantas de *S. hispanica* são praticamente inexistentes. Com isso, a necessidade de se conhecer os fatores que limitam seu desenvolvimento é importante, permitindo traçar estratégias de manejo para seu cultivo. Dentre estes fatores, destaca-se a salinidade, cujas sementes são especialmente vulneráveis aos seus efeitos. Normalmente, são observados inicialmente, diminuição na absorção de água, modificando o processo de embebição e, conseqüentemente, a redução da germinação (FALK; MUNNÉ-BOSCH, 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013), de modo que a redução do poder germinativo, comparado ao controle, serve como um indicador do índice de tolerância da espécie à salinidade, dando indícios das possíveis respostas de tolerância das plantas aos sais, em estádios subsequentes do desenvolvimento (FLOWERS; COLMER, 2008; MUNNS; TESTER, 2008; ZHANG et al., 2015).

Gorai et al. (2011), em pesquisas realizadas com *Salvia aegyptiaca*, verificaram que o estresse salino diminuiu a velocidade e a porcentagem da germinação. Esses mesmos autores concluíram que a *S. aegyptiaca* tem a capacidade de tolerar moderadamente as condições salinas, principalmente quando as condições de temperatura se encontram adequadas. Além disso, Dal'Maso et al. (2013), analisando a salinidade na germinação e no desenvolvimento inicial das sementes de *S. hispânica*, verificaram que o aumento da concentração de cloreto de potássio prejudicou a germinação, o índice de velocidade de germinação e o crescimento das plântulas, constatando, desta forma, que as plântulas de *S. hispanica* estão sujeitas a condições de estresses que limitam seu crescimento, desenvolvimento e sobrevivência, onde quer que elas se desenvolvam.

Dentre os fatores ambientais, a temperatura é o principal responsável por determinar a taxa de germinação das sementes, com a temperatura ótima propiciando uma porcentagem

máxima em menor espaço de tempo, ao passo que temperaturas máximas e mínimas resultam em pequenas porcentagens de germinação ou na morte do embrião (MEIADO et al., 2010; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Além de influenciar a germinação, a temperatura afeta o desenvolvimento inicial das plântulas, influenciando diretamente sua fenologia, pois estas não possuem a habilidade que as sementes têm de suportar as condições adversas do ambiente e nem possuem a robustez física adquirida com a idade (MIRANDA et al., 2014; SANCHEZ et al., 2014). Desta forma, esse período envolve uma série de transformações que dependem de condições ambientais favoráveis, levando a altas taxas de mortalidade nesse estágio de desenvolvimento (SILVA et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2015a).

Diante disto, objetivou-se avaliar os efeitos da salinidade sobre a germinação e crescimento inicial de plântulas de *S. hispanica* em diferentes temperaturas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN. Foram utilizadas sementes de *S. hispanica* provenientes de um campo de produção comercial, localizado no município de Santana do Livramento, Rio Grande do Sul (30° 53' 27" S, 55° 31' 58" W e 208 m de altitude). As sementes foram beneficiadas manualmente, acondicionadas em saco plástico transparente (0,15 mm de espessura) e armazenadas em câmara fria e seca (temperatura de $10 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade do ambiente de 50% UR), durante todo o período experimental.

Para a simulação do estresse salino, utilizou-se como soluto o cloreto de sódio (NaCl), nas concentrações: 0,0 (controle); 4,5; 9,0; 13,5 e 18,0 dS m⁻¹ diluídas em água destilada, cujo valor da condutividade elétrica das soluções foi verificado com auxílio de um condutivímetro. No nível zero foi utilizada apenas água destilada para umedecer o substrato.

Para cada concentração salina, foi conduzido o teste de germinação em germinadores do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.) regulados sob temperaturas constantes de 25, 30 e 35 °C e alternada de 20-30 °C, com fotoperíodo de oito horas, utilizando lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (4 x 20 W). As sementes foram distribuídas sobre papel toalha (Germitest[®]), previamente umedecimento na proporção de 2,5 vezes a massa seca do papel. O número de sementes germinadas foi avaliado diariamente, a partir do início da germinação até a estabilização, considerando-se como critério de plântulas normais o crescimento da parte aérea e da raiz (BRASIL, 2009).

O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, com os tratamentos distribuídos em esquema fatorial 5 x 4 (cinco concentrações salinas e quatro temperaturas), com quatro repetições de 50 sementes.

As variáveis analisadas foram: a) porcentagem de germinação - expressa em porcentagem de plântulas normais;

b) índice de velocidade de germinação - conduzido simultaneamente ao teste de germinação, em que as plântulas foram avaliadas diariamente, a partir do início da germinação até o oitavo dia após a semeadura e o índice calculado conforme a equação proposta por Maguire (1962);

c) comprimento da parte aérea e de raiz - todas as plântulas normais da unidade experimental tiveram o comprimento da raiz (base do colo à extremidade da raiz) e da parte

aérea (base do colo à inserção dos cotilédones) mensurados com auxílio de uma régua graduada em centímetros;

d) massa seca total de plântulas - todas as plântulas normais da unidade experimental foram fracionadas em raiz e parte aérea e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, regulada a 65 °C, até que obtivessem peso constante, sendo posteriormente pesadas em balança analítica de precisão (0,001 g). A massa seca total foi determinada pelo somatório das massas secas.

e) teores de clorofila e carotenoides - para isso, amostras de plântulas foram coletadas e maceradas em 10 mL de acetona 80% em presença de 0,1 g de CaCO_3 e o homogenato resultante foi centrifugado a 500 g, por 15 min, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado, e após a primeira extração o precipitado foi centrifugado por duas vezes, sendo utilizados 5 mL de acetona 80% para dissolver o resíduo em cada uma delas. Após centrifugação (500 g/15 min/4 °C), os sobrenadantes foram coletados e reunidos ao primeiro, e o volume final do extrato resultante ajustado para 25 mL pela adição de acetona 80%. Todas essas etapas foram realizadas sob banho de gelo e na completa ausência de luz. As absorbâncias das amostras foram registradas em espectrofotômetro a 470, 646,8 e 663,2 nm e os teores de clorofilas e carotenoides ($\text{g pigmento kg}^{-1}$ MS) obtidos de acordo com Lichthenthaler (1987), pela utilização das equações: 1 - clorofila a = $12,25 \text{ ABS}_{663,2} - 2,79 \text{ ABS}_{646,8}$; 2 - clorofila b = $21,50 \text{ ABS}_{646,8} - 5,10 \text{ ABS}_{663,2}$; 3 - carotenoides totais = $(1000 \text{ ABS}_{470} - 1,82 \text{ clorofila a} - 85,02 \text{ clorofila b})/198$.

f) açúcares solúveis totais - as amostras foram obtidas a partir da massa fresca de partes aéreas e radiculares das plantas coletadas após oito dias de estresse. Para a extração dos açúcares, primeiramente o material foi macerado em macerador automático. Em seguida, foram pesados 0,2 g de massa fresca e colocado em tubos e adicionados 3 mL de álcool. O sobrenadante do tubo foi coletado para quantificação dos açúcares. A dosagem de açúcares solúveis totais foi determinada pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), com os resultados expressos em $\mu\text{mol de GLI g}^{-1}$ de massa fresca.

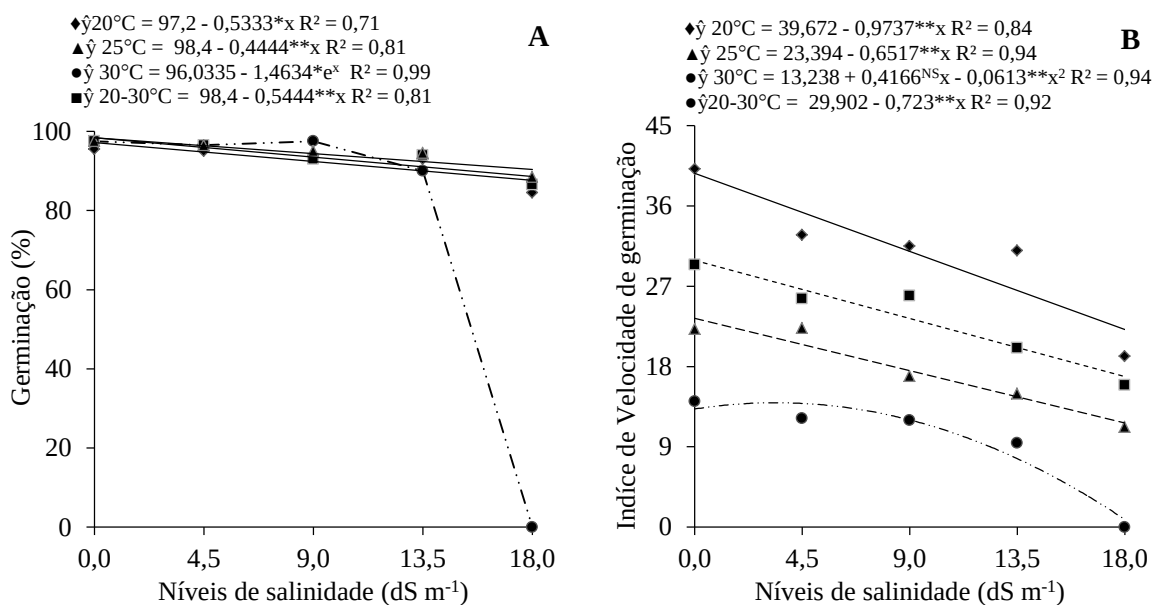
g) aminoácidos livres totais - foram colocados 0,2 g de massa fresca em tubos contendo 3 mL de álcool. Em seguida, foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 60 °C por 20 minutos. Para a quantificação dos teores de aminoácidos, realizou-se a medição da absorbância a 570 nm, com a aplicação do método da nihidrina ácida (YEMM; COCKING, 1955), tendo a glicina como substância padrão, e os resultados expressos em $\mu\text{mol AALT g}^{-1}$ de massa.

h) prolina – as amostras foram obtidas a partir da massa fresca de partes aéreas e radiculares das plantas coletadas após 8 dias de estresse, sendo colocados 0,2 g de massa fresca em tubos contendo 3 ml de álcool. Posteriormente, foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 60 °C por 20 minutos, sendo quantificada a prolina de acordo com a metodologia descrita por Bates (1973). As concentrações de prolina foram determinadas com base em uma curva padrão obtida a partir de L-Prolina, com seus resultados expressos em $\mu\text{mol PRO g}^{-1}$ de massa fresca.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, a 5% de probabilidade. E de acordo com a significância, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial ($p \leq 0,05$) com o auxílio do programa estatístico SISVAR[®] (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação entre os níveis de salinidade e as temperaturas impostas influenciou significativamente as variáveis de germinação, crescimento, fisiologia e bioquímica das plântulas de *S. hispanica*. Verificou-se que a percentagem de germinação das sementes foi reduzida linearmente com o aumento dos níveis de salinidade sob as temperaturas de 20, 20-30 e 25 °C, na ordem de 0,53, 0,54 e 0,44% por dS m⁻¹, respectivamente. Para a temperatura de 30 °C, constatou-se breve redução da germinação até o nível de 13,5 dS m⁻¹. Todavia, o aumento da salinidade a partir deste nível reduziu drasticamente a germinação das sementes de *S. hispanica*, atingindo percentagem zero sob a salinidade 18 dS m⁻¹ (Gráfico 1A).



NS, ** e * = não significativo, significativo ao nível de $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$ de propabilidade, respectivamente.

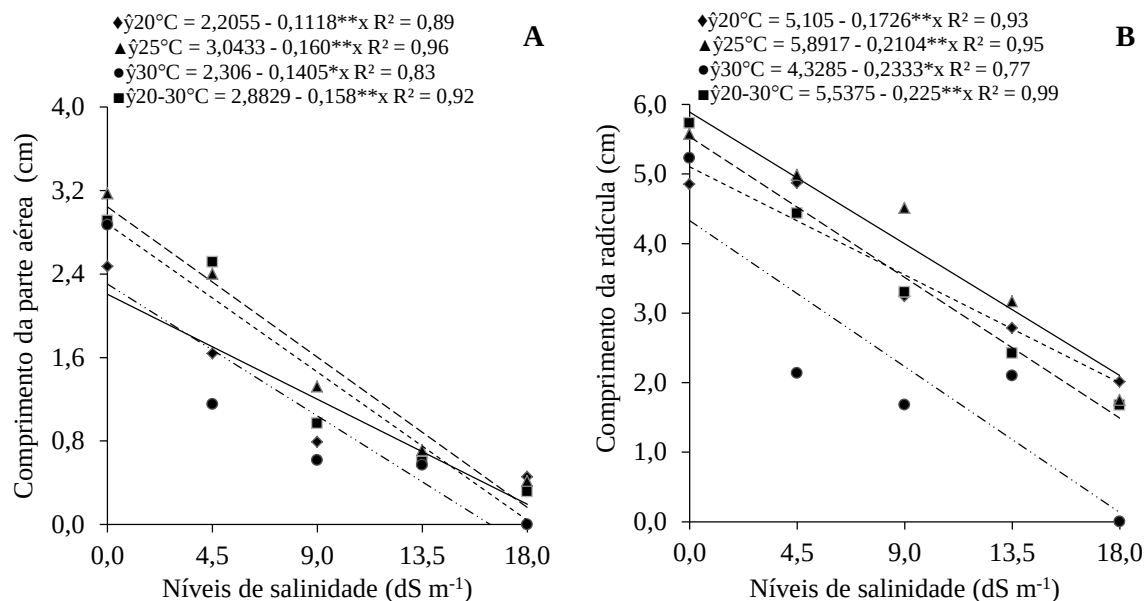
Gráfico 1. Germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) de sementes de *Salvia hispanica* L., germinadas sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Para o índice de velocidade de germinação, observamos resultados semelhantes ao da percentagem de germinação, com reduções lineares do vigor das sementes de *S. hispanica* sob as temperaturas de 20, 20-30 e 25 °C, com reduções de 0,97, 0,72 e 0,65 no índice por dS m⁻¹. Na temperatura de 30 °C, verificou-se comportamento quadrático, com o índice de velocidade de germinação máximo atingido sob a salinidade estimada de 3,4 dS m⁻¹, no entanto, a partir

deste nível o índice foi reduzido chegando a zero na salinidade 18 dS m⁻¹ (Gráfico 1B). As sementes germinadas à 30 e alternada 20-30 °C obtiveram as menores germinações e consequentemente o menor vigor sob os níveis de salinidade mais elevados. Sob condições de temperaturas elevadas ocorre o aumento do metabolismo da semente, e com isso, maior embebição. Com isso, devido às elevadas concentrações de sais presentes na água e no substrato, a absorção da solução salina provocou o suprimento inadequado de nutrientes para a plântula devido ao desequilíbrio iônico causado pelo excesso de íons Na⁺ e Cl⁻ (MUNS; TESTER, 2008; TAIZ; ZAIGER, 2013; LOPES et al., 2014).

Avaliando a germinação de sementes de *S. hispanica* em meio salino, Dal'Maso et al. (2013) verificaram reduções na germinação a partir do potencial de - 0,9 MPa, apresentando percentagem de 39%, sendo que com o aumento do potencial osmótico de -1,2 MPa a percentagem de germinação foi reduzida para 10%. Stefanello et al. (2015) também com sementes de *S. hispanica* verificaram que a germinação e o vigor foram prejudicados com o aumento da concentração de sais. Resultados semelhantes foram encontrados em sementes de brócolis por Lopes et al. (2014); em sementes de tomate por Silva Júnior et al. (2014); em sementes de beterraba por Bernardes et al. (2015) e em repolho por Oliveira et al. (2015a).

Os comprimentos da parte aérea e da radícula das plântulas de *S. hispanica* foram drasticamente reduzidos com aumento da salinidade do substrato (Gráfico 2 A e B). Para a parte aérea da plântula, constatou-se reduções lineares de 0,11, 0,15, 0,16 e 0,14 cm por dS m⁻¹, nas temperaturas de 20, 20-30, 25 e 30 °C, respectivamente (Gráfico 2A).



NS, ** e * = não significativo, significativo ao nível de $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$ de probabilidade, respectivamente.

Gráfico 2. Comprimento da parte aérea (A) e da radícula (B) de plântulas de *S. hispanica*, sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

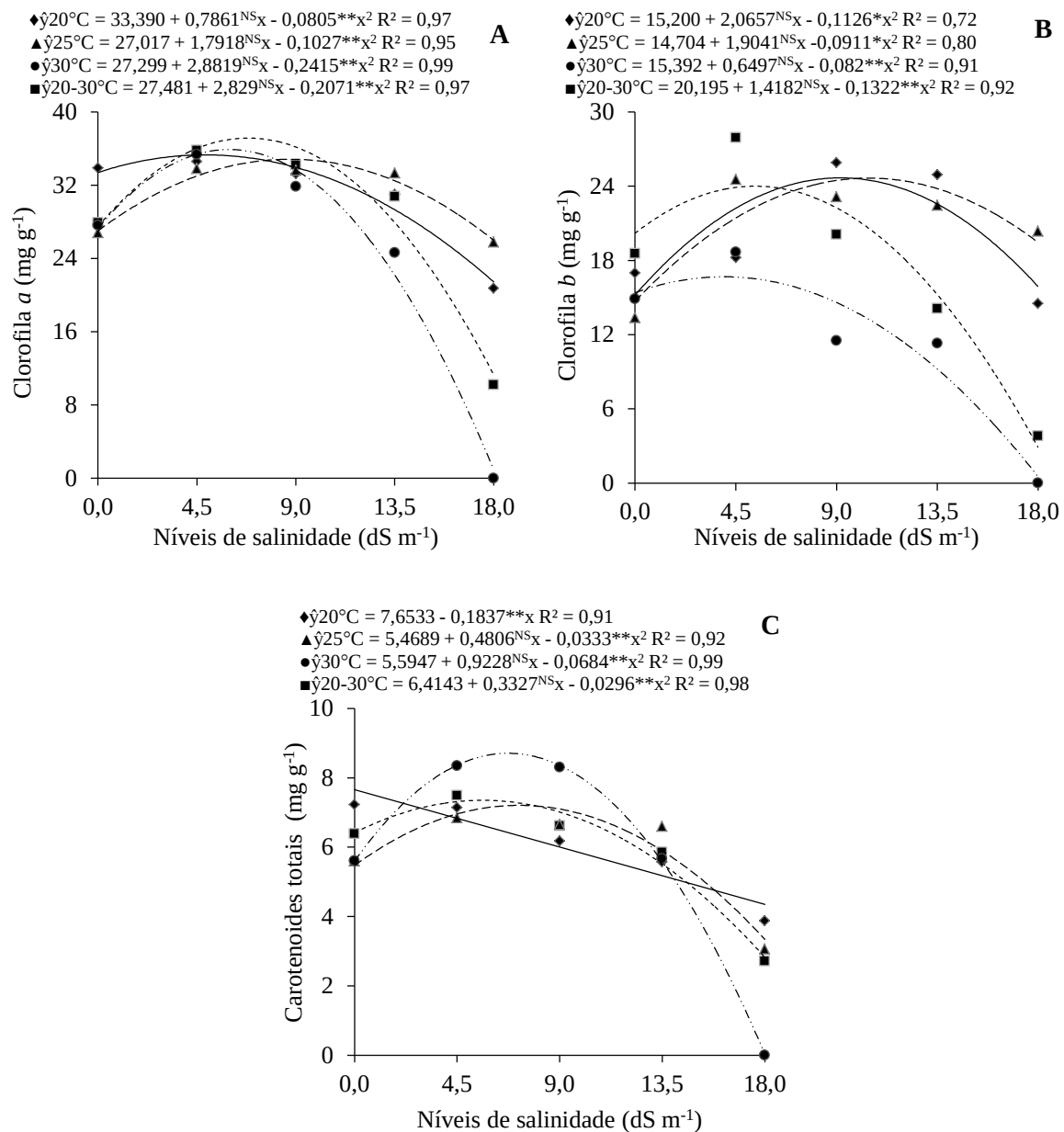
Para o comprimento da radícula, verificamos reduções de 0,17, 0,22, 0,21 e 0,23 cm por dS m^{-1} , sob as temperaturas de 20, 20-30, 25 e 30 °C, respectivamente (Gráfico 2B). As maiores reduções no crescimento das plântulas ocorreram sob as temperaturas de 30 e 20-30 °C. Verifica-se ainda que, sob a maior temperatura (30 °C) associada ao maior estresse (18 dSm^{-1}), as plântulas de *S. hispanica* cresceram, indicando que associação do estresse salino ao estresse térmico por altas temperaturas ocasiona efeitos deletérios sobre as sementes. A germinação e o crescimento das plântulas são processos que requerem energia proveniente das reservas das sementes (ZHANG et al., 2015).

Em condições normais, grande parte da energia é extraída das reservas, sendo consumida durante o transporte de íons, e na síntese de solutos compatíveis ao seu desenvolvimento (FLOWERS; COLMER, 2008). No entanto, quando essas estão submetidas a condições de estresse salino, parte da energia oriunda das reservas é consumida durante o transporte do íon Na^+ , acarretando sérios danos ao desenvolvimento das plântulas, chegando a inviabilizar seu desenvolvimento, fato verificado nesse trabalho. Dal'Maso et al. (2013) também verificaram reduções no desenvolvimento da parte aérea e radicular de plântulas de *S. hispanica* na medida em que se aumentavam os níveis de salinidade.

Quanto aos pigmentos cloroplastídicos, observou-se que as sementes de *S. hispanica* germinadas sob as temperaturas de 20 e 25 °C obtiveram índices satisfatórios de clorofila *a* e

b sob condições de salinidade até 13,5 dSm⁻¹, nível a partir do qual começou a diminuir (Gráfico 3A). Vale salientar que sob essas temperaturas ocorreu comportamento quadrático, com acréscimos nos teores de clorofila *a* e *b*, verificando-se teores de clorofila bem além dos encontrados no tratamento controle. É provável que devido às limitações ocasionadas na degradação e absorção de reservas, em função do aumento do potencial osmótico, as plântulas de *S. hispanica* tenham sido estimuladas a produzir mais pigmentos fotossintetizantes, a fim de escapar dos efeitos deletérios do estresse salino.

Para a clorofila *a*, observou-se reduções de 35 e 4% quando comparados à maior salinidade (18,0 dS m⁻¹) e o nível controle (0 dS m⁻¹) de salinidade sob as temperaturas de 20 e 25 °C, respectivamente. Todavia, sob as temperaturas de 20 e 25 °C foi observado incremento nos teores de clorofila *b* de 5 e de 32 entre a maior salinidade (18,0 dS m⁻¹) e o nível controle (0 dS m⁻¹), respectivamente (Gráfico 3A). O acréscimo dos teores de clorofila *b* em comparação à clorofila *a* pode estar relacionado a uma maior potencialização da atividade fotossintética, haja vista que a clorofila *b* é um pigmento acessório e capta energia luminosa em faixa na qual a clorofila *a* não atua (SILVEIRA et al., 2010). No entanto, quando submetidas às maiores temperaturas de 30 °C e alternada 20-30 °C, também se observou comportamento quadrático para os teores de clorofila *a* e *b*, verificando acréscimo nos teores desses pigmentos até o nível de 4,5 dS m⁻¹. Considerando que o aumento da temperatura potencializou o efeito da salinidade sob as plântulas de *S. hispanica*, é provável que sob estas condições de temperatura o aumento da salinidade tenha estimulado a síntese da enzima clorofilase, responsável para degradação da clorofila (TAIZ; ZAIGER, 2013).



^{NS}, ** e * = não significativo, significativo ao nível de $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$ de propabilidade, respectivamente.

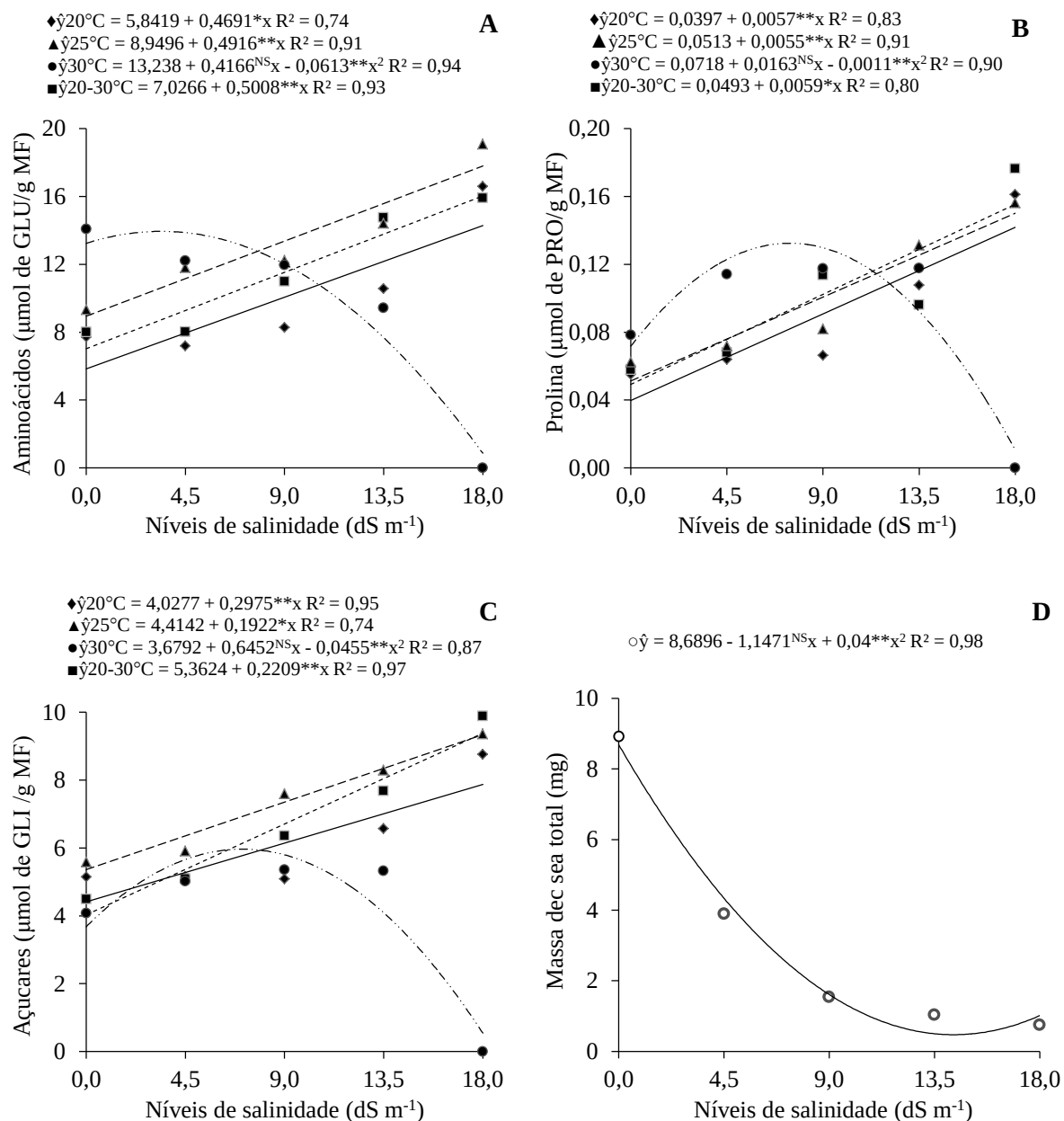
Gráfico 3. Teor de clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e de carotenoides totais (C) de plântulas de *S. hispanica*, sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

O teor de carotenoides das sementes de *S. hispanica* germinadas na temperatura de 20 °C respondeu de forma linear decrescente em função do aumento da salinidade, com reduções de 0,18 mg g⁻¹ por dS m⁻¹. Nas demais temperaturas, verificou-se comportamento quadrático, com teores máximos de carotenoides sob os níveis de salinidade de 7,21, 5,62 e 7,75 dS m⁻¹, decrescendo a partir de então, nas temperaturas de 25, 20-30 e 30 °C, respectivamente (Gráfico 3 C). O comportamento quadrático dos teores de carotenoides verificados sob as

temperaturas de 25, 20-30 e 30 °C corroborou com resultados observados para clorofila *a* e *b*, considerando que os carotenoides atuam como pigmentos protetores, agindo contra a atividade antioxidante e protegendo as membranas lipídicas do estresse oxidativo gerado nas plantas expostas à salinidade (FALK; MUNNÉ-BOSCH, 2010). Dessa forma, o aumento do teor de carotenoides pode estar relacionado à proteção das moléculas de clorofila, reduzindo a atividade das enzimas clorofilase.

Os teores dos compostos orgânicos, aminoácidos livres, prolina e açúcares avaliados nas plântulas de *S. hispanica* foram alterados significativamente em função do estresse salino e temperaturas (Gráficos 4 A, B e C). Os teores de aminoácidos livres, prolina e açúcares das plântulas, provenientes das sementes germinadas sob as temperaturas de 20, 25 e 20-30 °C apresentaram comportamento linear crescente em função do aumento da salinidade, sendo os maiores incrementos observados na temperatura de 25 °C. Os compostos orgânicos das plântulas germinadas na temperatura de 30 °C comportaram-se de maneira quadrática ao aumento da salinidade, sendo verificados os maiores teores de aminoácidos livres, prolina e açúcares nos níveis de salinidade de 3,40; 7,41 e 7,19 dS m⁻¹, respectivamente. O aumento da síntese de substâncias orgânicas, como os compostos nitrogenados e açúcares, é frequente em plantas sobre estresse salino, haja vista que estas substâncias resguardam estruturas e sustentam o balanço osmótico na planta (HASEGAWA et al. 2000; ESTEVES; SUZUKI, 2008). Diante dos resultados, constatou-se que as plântulas de *S. hispanica* apresentam ajuste osmótico sob condições de estresse salino por meio da síntese de compostos orgânicos, a qual é reduzida na temperatura até 30 °C.

O acúmulo de massa seca das plântulas de *S. hispanica* foi drasticamente reduzido com aumento da salinidade, independentemente das condições de temperatura, com as sementes sendo germinadas, principalmente nos níveis superiores a 9,0 dS m⁻¹ (Gráfico 4D). A inibição do crescimento e acúmulo de fitomassa na presença de salinidade tem relação com a toxidez iônica causada pelos sais nos processos metabólicos das células, impedindo ou reduzindo o crescimento vegetal (PANUCCIO et al., 2014; BERNARDES et al., 2015). Silva et al. (2008) verificaram que, em sementes de trigo, ocorrem alterações nos constituintes celulares quando submetidas a estresse salino com NaCl. De acordo com os resultados observados, é evidente que altas concentrações de NaCl são fitotóxicas para a *S. hispanica*, provocando alterações celulares que prejudicam os processos fisiológicos da germinação e o desenvolvimento de plântulas, sendo ainda potencializado sob condições de altas temperaturas.



** e * = significativo ao nível de $p \leq 0,01$ e $p \leq 0,05$ de propabilidade.

Gráfico 4. Teor de aminoácidos livres (A), prolina (B), açúcares solúveis totais (C) e massa seca total, MST (D) de plântulas de *S. hispanica*, germinadas sob diferentes níveis de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

4 CONCLUSÕES

Níveis de salinidade superiores a 4,5 dS m⁻¹ associadas às temperaturas de 30 ou 20-30°C afetam negativamente a germinação, o vigor, o crescimento e os componentes bioquímicos de plântulas.

A temperatura de 25 °C proporciona as melhores condições para o desenvolvimento das plântulas de *S. hispanica*.

REFERÊNCIAS

- ALI, N. M.; YEAP, S. K.; HO, W. Y.; BEH, B. K.; TAN, S. W.; TAN, S. G. The promising future of chia, *Salvia hispanica* L. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, Cairo, v. 12, n. 1, p. 1–9, 2012.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, n. 1, p. 205-207, 1973.
- BERNARDES, P. M.; MENGARDA, L. H. G.; LOPES, J. C.; NOGUEIRA, M. U.; RODRIGUES, L. L. Qualidade fisiológica de sementes de repolho de alta e baixa viabilidade sob estresse salino. **Nucleus**, Ituverava, v. 12, n. 1, p. 77-86, 2015
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.
- CAPITANNI, M. I.; SPORTORNO, V.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Caracterização físico-química e funcional dos subprodutos de semente de Chia (*Salvia hispanica* L.) da Argentina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 45, n. 1, p. 94-102, 2012.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.
- DAL'MASO, E. G.; CASARIN, J.; COSTA, P. F.; CAVALHEIRO, D. B.; SANTOS, B.S.; GUIMARÃES, V. F. Salinidade na germinação e desenvolvimento inicial de sementes de chia. **Cultivando o Saber**, Cascavel, v. 6, n. 3, p. 26-39, 2013.
- ESTEVES, B. S.; SUZUKI, M. S. Efeito da salinidade sobre as plantas. **Oecologia Brasiliensis**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 4, p.662-679, 2008.
- FALK, J., MUNNÉ-BOSCH, S. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 61, n. 4, p. 1549-1566, 2010.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FLOWERS, T. J.; COLMER, T. D. Salinity tolerance in halophytes. **New Phytol**, London, v. 179, n. 4, p. 945-963, 2008.

GORAI, M.; GASMI, H.; NEFFATI, M. Factors influencing seed germination of medicinal plant *Salvia aegyptiaca* L. (Lamiaceae). **Saudi Journal of Biological Sciences**, Kingdom, v. 18, n. 3, p. 255–260, 2011.

HASEGAWA, P.; BRESSAN, R. A.; ZHU, J. K.; BOHNERT, H. J. Plant cellular and molecular responses to high salinity. **Annual Review Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.51, n. 3, p.463-499, 2000.

LICHTHENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (Ed.). **Methods in enzymology**. London: Academic Press, 1987. p. 350-382.

LOPES, K. P.; NASCIMENTO, M. G. R.; BARBOSA, R. C. A.; COSTA, C. C. Salinidade na qualidade fisiológica em sementes de *Brassicas oleracea* L. Var. Itália. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 2251-2260, 2014.

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.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evolution for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; FALLER, C. M. S.; REVOL, J.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Extração do óleo de Chia (*Salvia hispanica* L.): Estudo de parâmetros de processamento. **LTW – Ciência dos Alimentos e Tecnologia**, Campinas, v. 47. p. 78 – 82, 2012.

MARTÍNEZ, M. L.; MARÍN, M. A.; FALLER, C. M. S.; RIBOTTA, P. D. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil extraction: Study of processing parameters. **LWT - Food Science and Technology**, Oxford, n. 47, p. 78-82, 2012.

MEIADO M. V.; ALBUQUERQUE L. S. C.; ROCHA E. A.; ROJAS-ARÉCHIGA M.; LEAL I. R. Seed germination responses of *Cereus jamacaru* DC. ssp. *jamacaru* (Cactaceae) to environmental factors. **Plant Species Biology**, Kyoto, v. 25, n. 2, p. 120-128, 2010.

MIRANDA, R. Q.; CORREIA, R. M.; ALMEIDA-CORTEZ, J. S.; POMPELLI, M. F. Germination of *Prosopis juliflora* (Sw.) D.C. seeds at different osmotic potentials and temperatures. **Plant Species Biology**, Kyoto, v. 29, n. 1, p. 09-20, 2014.

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 59, n. 4, p. 651–681, 2008.

OLIVEIRA, A. K. M.; SOUZA, J. S.; CARVALHO, J. M. B.; SOUZA, S. A. Germinação de sementes de pau-de-espeto (*Casearia gossypiosperma*) em diferentes temperaturas. **Floresta**, Curitiba, v. 45, n. 1, p. 97-106, 2015a.

OLIVEIRA, F. A.; SÁ, F. V. S.; PAIVA, E. P.; ARAÚJO, E. B. G.; SOUTO, L. S.; ANDRADE, R. A.; SILVA, M. K. N. Emergência e crescimento inicial de plântula de beterraba cv. Chata do Egito sob estresse salino. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Pombal, v. 11, n. 1, p. 01-06, 2015b.

PANUCCIO, M. R.; JACOBSEN, S. E.; AKHTAR, S. S.; MUSCOLO, A. Effect of saline water on seed germination and early seedling growth of the halophyte quinoa. **Journal for Plant Science**, Islamabad, v. 6, n. 1, p. 1-18, 2014.

SANCHEZ, P. L.; CHEN, M.; PESSARAKLI, M.; HILL, H. J.; GORE, M. A.; JENKS, M. A. Effects of temperature and salinity on germination of non-pelleted and pelleted guayule (*Parthenium argentatum* A. Gray) seeds. **Industrial Crops and Products**, New York, v. 55, n. 2, p. 90-96, 2014.

SILVA JR, J. F.; KLAR, A. E.; TANAKA, A. A.; FREITAS E SILVA, I. P.; CARDOSO, A. E. I.; PUTTI, F. F. Tomato seeds vigor under water or salt stress. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã, v. 8, n. 1, p. 65-72, 2014.

SILVA, R. N.; DUARTE, G. L.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; PEREIRA, A. L. A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a estresse salino na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 215-220, 2008.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F (Ed.). **Manejo da salinidade na agricultura irrigada: estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: INCTSal, 2010. p. 171-180.

STEFANELLO, R.; NEVES, L. A. S.; ABBAD, M. A. B.; VIANA, B. B. Resposta fisiológica de sementes de chia (*Salvia hispanica* – Lamiales: Lamiaceae) ao estresse salino. **Biotemas**, Florianópolis, v. 28, n. 4, p. 35-39, 2015

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: ARTMED. 2013. 719 p.

YEMM, E. W.; COCCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955.

YEMM, E.W. & WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**. Colchester. v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

ZHANG, H.; ZHANG, G.; LÜ, X.; ZHOU, D.; HAN, X. Salt tolerance during seed germination and early seedling stages of 12 halophytes. **Plant Soil**, Dordrecht, v. 388, n. 2, p. 229–241, 2015.

CAPÍTULO 5

GERMINAÇÃO E ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS DE SEMENTES DE CHIA (*Salvia hispanica* L.) SUBMETIDAS AO ESTRESSE HÍDRICO E TEMPERATURA

RESUMO

As sementes de *S. hispanica* têm se destacado pela sua potencialidade em nutrientes para as indústrias agroalimentares. Mas ainda são escassos os estudos relacionados a essa espécie, principalmente no tocante aos fatores que viabilizem a sua propagação e desenvolvimento. Com isso, objetivou-se verificar os efeitos do estresse hídrico sobre a germinação, o crescimento, bioquímica das plântulas *S. hispanica* sob diferentes temperaturas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com tratamentos distribuídos em esquema fatorial 5 x 4, correspondente a cinco níveis de polietileno glicol (PEG 6000) (0,0; -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa) e quatro temperaturas (20, 25, 30 e 20-30 °C), com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento. Para isso, instalou-se o teste de germinação em substrato mata-borrão, umedecidos com soluções de PEG 6000 nos potenciais mencionados, sob fotoperíodo de 8 horas de luz. As variáveis analisadas foram germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento de parte aérea e das raízes das plântulas, massa seca de plântulas, teores de clorofila e carotenoides, aminoácidos, prolina e açúcares. O nível de polietilenoglicol de -0,4 MPa para todas as temperaturas estudadas, e -0,3 MPa nas temperaturas de 30 °C e 20-30 °C inviabilizam a germinação e vigor das plântulas de *S. hispanica*. As plântulas de *S. hispanica* são capazes de realizar ajuste osmótico sob condições de estresse hídrico até os níveis de -0,3MPa, quando provenientes de sementes germinadas em temperaturas de até 25 °C.

Palavras-chave: Lamiaceae. Chia. Potencial osmótico. Polietilenoglicol. Estresse térmico.

GERMINATION AND PHYSIOLOGICAL ALTERATIONS OF *Salvia hispanica* SEEDS TO WATER STRESS AND TEMPERATURES

ABSTRACT

The seeds of *S. hispanica* have been distinguished by their potential in nutrients for the agrifood industries. But there are still few studies related to this species, especially regarding the factors that make it possible to spread and develop. The objective of this study was to verify the effects of water stress on germination, growth and biochemistry of *S. hispanica* seedlings under different temperatures. The experimental design was completely randomized, with treatments distributed in a 5 x 4 factorial scheme, corresponding to five levels of polyethylene glycol (PEG 6000) (0,0; -0,1; -0,2; -0,3 e - 0.4 MPa) and four temperatures (20, 25, 30 and 20-30 °C), with four replicates of 50 seeds for each treatment. For this, the germination test was installed on a substrate blotting, wetted with PEG 6000 solutes in the mentioned potentials, under photoperiod of 8 hours of light. The analyzed variables were germination, germination velocity index, shoot and root length, seedling dry mass, chlorophyll and carotenoid content, amino acids, proline and sugars. The level of polyethylene glycol of -0.4 MPa for all temperatures studied, and -0.3 MPa at temperatures of 30 ° C and 20-30 °C made the germination and vigor of *S. hispanica* seedlings unfeasible. The *S. hispanica* seedlings are able to perform osmotic adjustment under water stress conditions up to -0.3MPa when coming from germinated seeds at temperatures up to 25°C.

Keywords: Lamiaceae. Chia. Osmotic potential. Polyethyleneglycol. Thermal stress.

1 INTRODUÇÃO

Salvia hispanica L. é uma planta herbácea anual originária do oeste e centro do México e Guatemala (OROZCO; ROMERO, 2003). Suas sementes têm se destacado por ser uma potencial fonte de nutrientes para as indústrias agroalimentares, e por suas propriedades benéficas para a saúde (MUÑOZ et al., 2012). Considerando um possível aumento do cultivo e comercialização dessa espécie, a avaliação da qualidade das sementes é um item indispensável para o sucesso da cultura.

O sucesso do estabelecimento das plantas em campo depende em grande parte das condições de germinação das sementes (GORAI et al., 2011). Os estudos relacionados com a resposta germinativa de sementes à condição de estresses artificiais têm importância especial para fisiologia e ecofisiologia vegetal, podendo ser utilizada como ferramenta para identificação de limites de tolerância de sobrevivência e adaptação das espécies às condições estressantes (GUEDES et al., 2013).

A germinação de sementes é um processo que requer água e calor, e, dependendo da espécie, são necessários também outros fatores, tais como oxigênio e luz (BEWLEY; BLACK, 1994). A disponibilidade de água afeta diretamente a germinação, uma vez que a absorção de água dá início a uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos no interior da semente, como ativação de enzimas, quebra de ligações químicas, translocação e uso de substâncias armazenadas (MARCOS FILHO, 2015). Como se nota, a temperatura interfere na dinâmica da absorção de água e nos limites e velocidade das reações bioquímicas, além dos processos fisiológicos que determinam o processo germinativo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Mudanças de temperatura podem afetar os processos que controlam a germinação das sementes, incluindo a permeabilidade das membranas e a atividade de enzimas citosólicas e enzimas ligadas à membrana (MARAGHNI et al., 2010). Assim, a germinação será mais rápida e eficiente à medida que a temperatura aumente, respeitando o limite de cada espécie, denominado de temperaturas cardeais. A redução gradativa da temperatura provoca decréscimo acentuado da velocidade de germinação e a embebição nessas condições pode provocar redução do crescimento das plântulas, mesmo quando a temperatura retorna a níveis favoráveis (MARCOS FILHO, 2015). Em sementes de *S. hispanica*, Labouriau e Agudo (1987) verificaram que os limites extremos de temperatura são $3,3 \pm 0,4$ °C e $39,8 \pm 0,4$ °C, demonstrando que as baixas temperaturas limitam a germinação das sementes, mesmo estando perto dos limites inferiores de algumas plantas tropicais tolerantes ao frio.

O déficit hídrico é um dos principais fatores limitantes da germinação, pois para cada espécie existe um valor de potencial hídrico externo abaixo do qual a germinação não ocorre (ÁVILA et al., 2007). Em estudo realizado por Yamashita e Guimarães (2010) verificou-se que a germinação e a velocidade de germinação das sementes de *Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis* são reduzidas com a diminuição da disponibilidade hídrica no substrato, a partir de -0,15 MPa. Guedes et al. (2013) constataram que a porcentagem de germinação de sementes de *Apeiba tibourbou* foi reduzida significativamente a partir do potencial hídrico de -0,2 MPa, chegando a 51% na temperatura de 30 °C e na de 25 °C as sementes tiveram sua capacidade germinativa mais afetada, chegando a 37% de germinação.

Com isso, objetivou-se verificar os efeitos do estresse hídrico sobre a germinação, o crescimento, bioquímica das plântulas *S. hispanica* sob diferentes temperaturas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Ciências Vegetais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN. Foram utilizadas sementes de *S. hispanica* provenientes de um campo de produção comercial, localizado no município de Santana do Livramento, Rio Grande do Sul (30° 53' 27" S, 55° 31' 58" W e 208 m de altitude). As sementes foram beneficiadas manualmente, acondicionadas em saco plástico transparente (0,15 mm de espessura) e armazenadas em câmara fria e seca (10 ± 2 °C e 50% de umidade relativa do ambiente) durante todo o período experimental.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4 (potenciais osmóticos x temperaturas), sendo cada tratamento composto por quatro repetições de 50 sementes.

As sementes foram semeadas sob duas folhas de papel mata-borrão que foram acondicionadas em caixas plásticas transparentes (gerbox) e hidratadas com soluções de PEG 6000, no volume de 2,5 vezes o peso seco do papel. As soluções foram produzidas de acordo com os valores propostos por Villela, Doni Filho e Sequeira (1991) para simular os níveis osmóticos previamente estabelecidos de 0,0; -0,1; -0,2; -0,3 e -0,4 MPa.

Os testes de germinação foram conduzidos em germinadores do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.), regulados às temperaturas constantes de 20, 25, 30 °C e alternada 20-30 °C, com fotoperíodo de 8 horas de luz. As contagens foram realizadas diariamente até o oitavo dia após a semeadura, sendo consideradas germinadas as sementes que haviam emitido a raiz primária e parte aérea da plântula (BRASIL, 2009).

As variáveis analisadas foram: a) porcentagem de germinação - expressa em porcentagem de plântulas normais;

b) índice de velocidade de germinação - conduzido simultaneamente ao teste de germinação, em que as plântulas foram avaliadas diariamente, a partir do início da germinação até o oitavo dia após a semeadura e o índice calculado conforme a equação proposta por Maguire (1962);

c) comprimento da parte aérea e de raiz - ao fim do teste de germinação, todas as plântulas normais da unidade experimental tiveram o comprimento da raiz (base do colo à extremidade da raiz) e da parte aérea (base do colo à inserção dos cotilédones) mensurados com auxílio de uma régua graduada em milímetros;

d) teores de clorofila e carotenoides – amostras de plantas foram coletadas e maceradas em 10 mL de acetona 80% em presença de 0,1 g de CaCO_3 e o homogenato resultante foi centrifugado a 500 g, por 15 min, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e após a primeira extração o precipitado foi centrifugado por duas vezes, sendo utilizados 5 mL de acetona 80% para dissolver o resíduo em cada uma delas. Após centrifugação (500 g/15 min/4 °C), os sobrenadantes foram coletados e reunidos ao primeiro, e o volume final do extrato resultante ajustado para 25 mL pela adição de acetona 80%. Todas essas etapas foram realizadas sob banho de gelo e na completa ausência de luz. As absorbâncias das amostras foram registradas em espectrofotômetro a 470, 646,8 e 663,2 nm e os teores de clorofilas e carotenoides ($\text{g pigmento kg}^{-1}$ MS) foram obtidos, de acordo com Lichthenthaler (1987), pela utilização das equações: 1 - clorofila a = $12,25 \text{ ABS}_{663,2} - 2,79 \text{ ABS}_{646,8}$; 2 - clorofila b = $21,50 \text{ ABS}_{646,8} - 5,10 \text{ ABS}_{663,2}$; 3 - carotenoides totais = $(1000 \text{ ABS}_{470} - 1,82 \text{ clorofila a} - 85,02 \text{ clorofila b})/198$.

e) açúcares solúveis totais - as amostras foram obtidas a partir da massa fresca de partes aéreas e radiculares das plantas coletadas após oito dias de estresse. Para a extração dos açúcares, primeiramente o material foi macerado em macerador automático. Em seguida, foram pesados 0,2 g de massa fresca e colocado em tubos e adicionados 3 ml de álcool. O sobrenadante do tubo foi coletado para quantificação dos açúcares. A dosagem de açúcares solúveis totais foi determinada pelo método da antrona (YEMM; WILLIS, 1954), com os resultados expressos em $\mu\text{mol de GLI g}^{-1}$ de massa fresca.

f) aminoácidos livres totais – foram colocados 0,2 g de massa fresca em tubos contendo 3 ml de álcool. Os tubos foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 60 °C por 20 minutos. Para a quantificação dos teores de aminoácidos, realizou-se a medição da absorbância a 570 nm, com a aplicação do método da nihidrina ácida (YEMM; COCKING, 1955), tendo a glicina como substância padrão e os resultados expressos em $\mu\text{mol AALT g}^{-1}$ de massa.

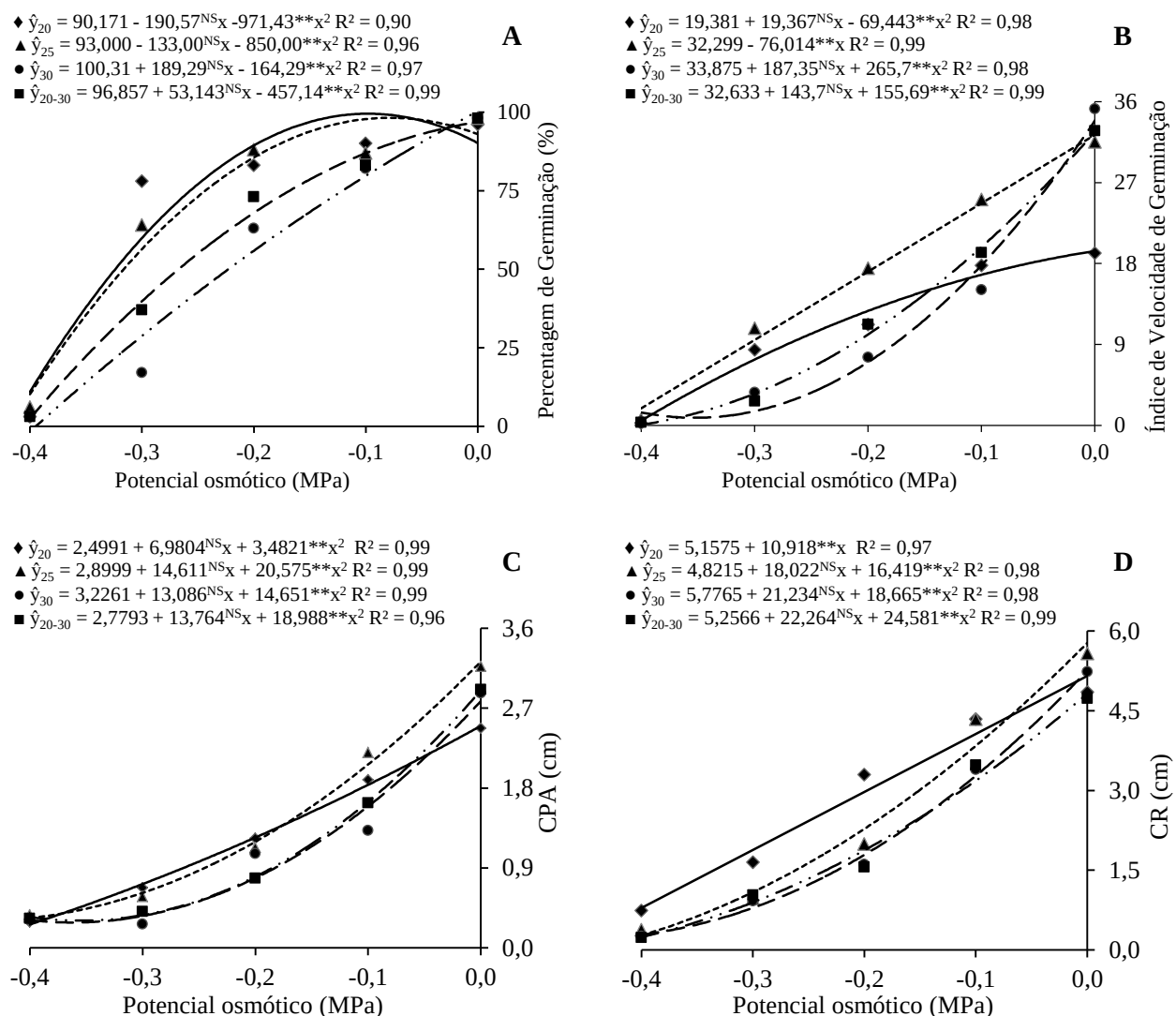
g) prolina – as amostras foram obtidas a partir da massa fresca de partes aéreas e radiculares das plantas coletadas após oito dias de estresse, sendo assim colocados 0,2 g de massa fresca em tubos contendo 3 ml de álcool. Os tubos foram hermeticamente fechados e aquecidos em banho-maria a 60 °C por 20 minutos. A determinação de prolina foi de acordo com a metodologia descrita por Bates (1973). As concentrações de prolina foram determinadas com base em uma curva padrão obtida a partir de L-Prolina, com seus resultados expressos em $\mu\text{mol PRO g}^{-1}$ de massa fresca.

h) massa seca total de plântulas – todas as plântulas normais da unidade experimental foram fracionadas em raiz e parte aérea e postas para secar em estufa de circulação de ar forçado, regulada a 65 °C, até que fosse obtido peso constante, sendo posteriormente pesadas em balança analítica de precisão (0,001 g). A massa seca total foi determinada pelo somatório das massas secas.

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste F, a 5% de probabilidade. E de acordo com a significância, os dados foram submetidos à análise de regressão polinomial ($p \leq 0,05$) com o auxílio do programa estatístico SISVAR[®] (FERREIRA, 2011).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os níveis de potenciais osmóticos e temperaturas, verificou-se interação significativa para a germinação, índice de velocidade de germinação, comprimento da parte aérea e da radícula das plântulas de *S. hispanica* ao nível de 5% de probabilidade (Gráfico 1).



^{NS} e ^{**} = não significativo e significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), respectivamente.

Gráfico 1. Percentagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação (B), comprimento da parte aérea-CPA (C) e comprimento da radícula-CR (D) de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000, em diferentes temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

De maneira geral, os potenciais osmóticos até o nível de -0,2 MPa promoveram germinações com valores acima de 70% para todas as temperaturas, com exceção das

sementes germinadas a 30 °C, em que se constatou 56% de germinação, caracterizando o estresse hídrico a partir desse ponto na maior temperatura estudada (Gráfico 1A). O estresse hídrico afetou a percentagem de germinação das sementes de *S. hispanica* a partir do potencial de -0,3 MPa sob as temperaturas de 20, 25 °C e 20-30 °C, chegando a atingir percentagens inferiores a 10% de plântulas normais no potencial de -0,4 MPa (Gráfico 1A).

Essa redução na percentagem de germinação na medida em que os potenciais osmóticos se tornam mais negativos é explicada em virtude da restrição hídrica, que diminui a velocidade dos processos metabólicos e bioquímicos, atrasando ou reduzindo a percentagem de germinação das sementes, interferindo na embebição e no alongamento celular do embrião (BRADFORD, 1990). Além disso, a diminuição do potencial hídrico do meio influencia a absorção de água e reduz ou impede a emissão da raiz primária (GHADERI-FAR et al., 2010). A redução da germinação em função do aumento de déficit hídrico também foi verificada por Silva et al. (2014) em sementes de agrião (*Barbarea verna*), cujos autores constataram que na temperatura mais alta (35 °C) ocorreu redução de forma mais rápida que nas temperaturas mais amenas (20 e 25 °C). Silva Jr. et al. (2014) também verificaram que os potenciais osmóticos a partir de -0,4 MPa reduziram significativamente as variáveis germinação, índice de velocidade de emergência e comprimento de plântulas em tomate.

O maior índice de velocidade de germinação foi registrado sob a temperatura de 30 °C no potencial osmótico de 0,0 MPa (Gráfico 1B), o que se deve ao fato de temperaturas elevadas aumentarem a velocidade dos processos metabólicos, encurtando a duração da fase II do processo de embebição. Segundo Nascimento (2005), temperaturas muito baixas ou muito altas poderão alterar tanto a velocidade quanto a porcentagem final de germinação. Deste modo, observou-se que a partir do nível de -0,1 MPa nas temperaturas de 30 e 20-30 °C, e em -0,2 MPa nas temperaturas 20 e 25 °C houve acentuadas reduções no índice de velocidade de germinação das sementes de *S. hispanica*, chegando a índices inferiores a 0,5 no potencial osmótico de -0,4 MPa, independentemente da temperatura estudada. Esses resultados indicam que a temperatura pode aumentar a intensidade do estresse hídrico sob as plântulas de *S. hispanica*, assim como observado nas temperaturas de 30 °C e 20-30 °C, haja vista as acentuadas reduções (>30%) com uma pequena oscilação do potencial osmótico de 0,0 MPa para -0,1 MPa.

Em trabalhos realizados por Stefanello et al. (2006) com sementes de anis (*Foeniculum vulgare*), houve redução linear de germinação e da velocidade, zerando em -0,3 MPa. Sementes de pinhão-mansão (*Jatropha curcas* L.) submetidas ao estresse hídrico também

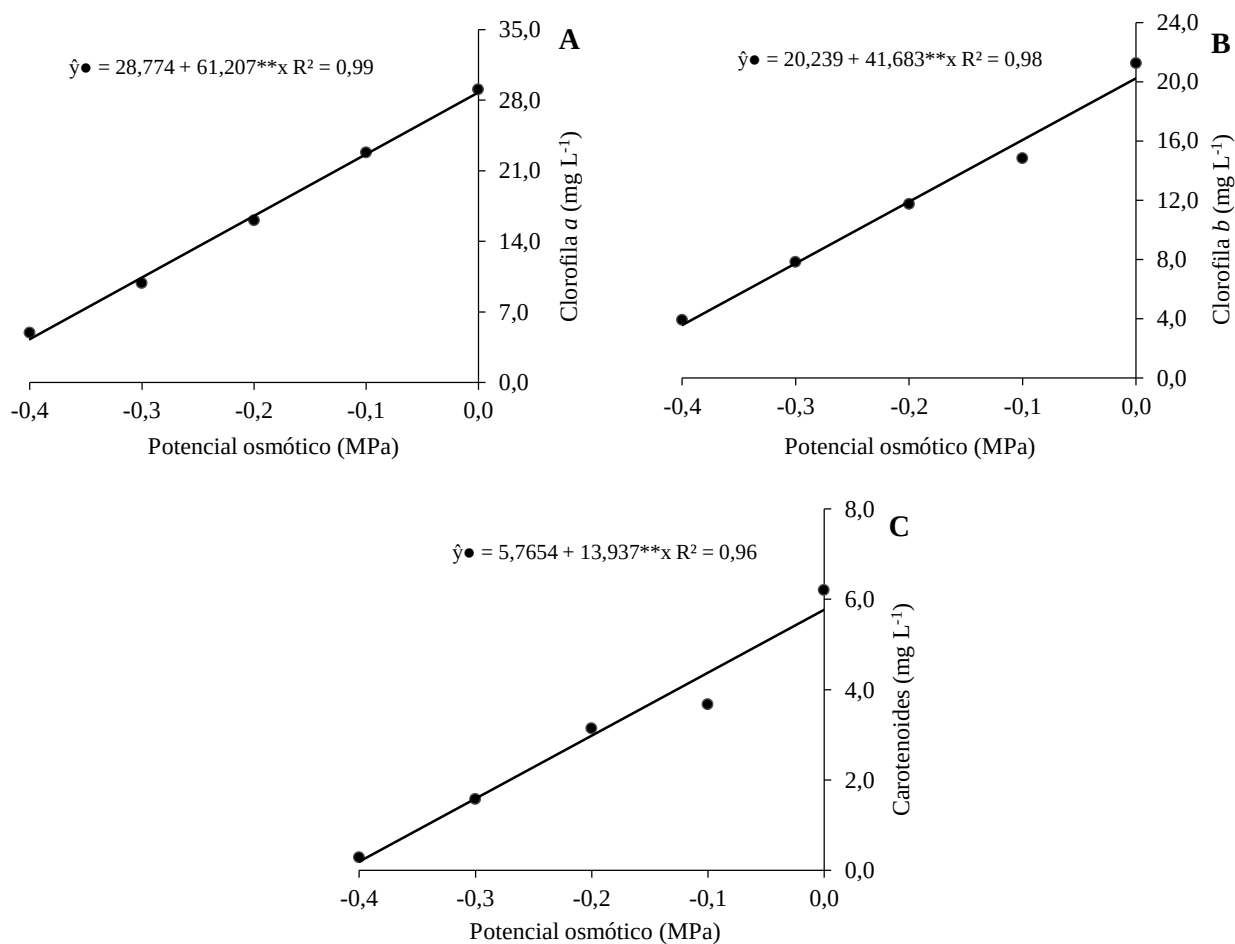
sofreram reduções na porcentagem de germinação e velocidade de germinação sob estresse hídrico, com redução de mais de 10 unidades do controle para a condição de $-0,2$ MPa, chegando aos valores próximos de zero a $-0,8$ MPa. (PEREIRA; LOPES, 2011). Já em sementes de pau-de-jangada (*Apeiba tibourbou*), Guedes et al. (2013) verificaram que o maior índice de velocidade de germinação ocorreu na temperatura mais alta (35°C), e que a menor redução em função da pouca disponibilidade hídrica ocorreu em temperaturas de 25°C .

Assim como observado na germinação, a redução da disponibilidade hídrica do substrato, causada pelo aumento da concentração de PEG 6000, promoveu diminuição do comprimento da parte aérea e da radícula das plântulas de *S. hispanica* em todas as temperaturas estudadas (Gráfico 1C e D). No entanto, o efeito do estresse hídrico aumentou com o aumento da temperatura, para o comprimento da parte aérea e da radícula, verificando-se crescimento satisfatório até o nível de $-0,1$ MPa nas plântulas, das sementes germinadas sob as temperaturas de 20 e 25°C . Porém, a partir deste nível já são notórias drásticas reduções ($>40\%$ para comprimento da parte aérea e $> 30\%$ no comprimento radicular) no crescimento das plântulas provenientes das sementes germinadas sob as temperaturas de 30°C e $20-30^{\circ}\text{C}$. Verificou-se ainda que nos potenciais osmóticos de $-0,3$ e $-0,4$ MPa houve maior protrusão da raiz primária, e menor emissão da parte aérea, o que pode estar relacionado ao mecanismo de tolerância da espécie, aumentando o crescimento da radícula em busca de água no substrato.

As reduções observadas na germinação e no crescimento das plântulas de *S. hispanica* em função da redução do potencial osmótico podem ser atribuídas à redução na velocidade dos processos metabólicos e bioquímicos em virtude da restrição hídrica, o que atrasa ou reduz a germinação das sementes e interfere na embebição e no alongamento celular do embrião. Além disto, pode reduzir ou impedir a emissão da raiz primária, pela alteração da permeabilidade da membrana plasmática, e as propriedades do tonoplasto, aumentando a degradação de proteínas, por estimular a síntese de enzimas proteolíticas (YAMASHITA; GUIMARÃES, 2010). Segundo Taiz e Zeiger (2013), o primeiro efeito mensurável do estresse hídrico é uma diminuição do crescimento, causada pela redução da expansão celular, que necessita de potencial de turgor adequado. Os resultados encontrados estão coerentes com os obtidos por Kappes et al. (2010), trabalhando com sementes de milho, em que a solução de PEG 6000 reduziu drasticamente o comprimento das plântulas.

Houve influência significativa dos níveis de potencial osmótico sobre os teores de clorofila *a*, *b* e carotenoides, com reduções lineares de 6,12; 4,17 e $1,39\text{ mg L}^{-1}$ para cada

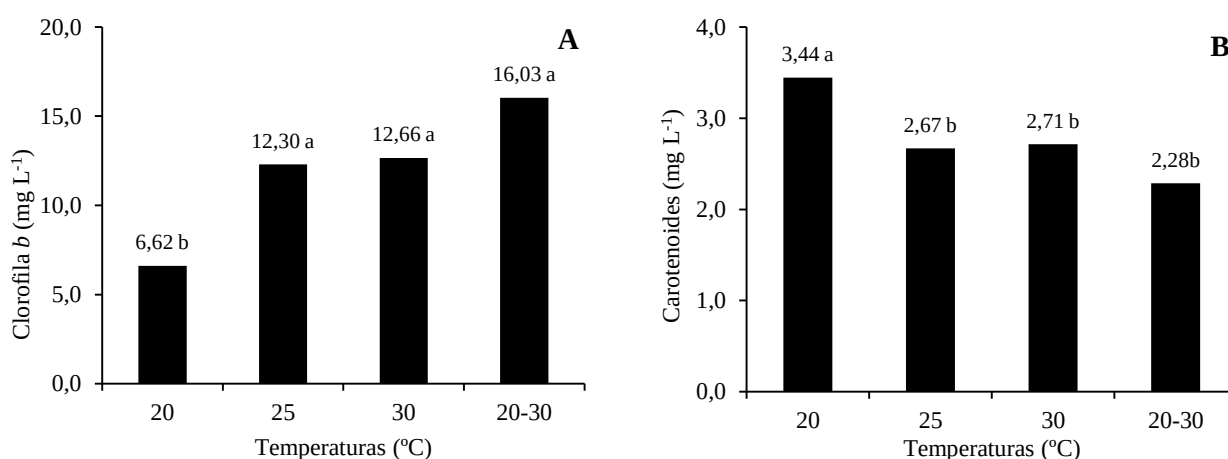
redução unitária do potencial osmótico, respectivamente (Gráfico 2 A, B e C). O estresse hídrico promoveu a degradação do β -caroteno e a redução na formação de zeaxantina, produzindo diminuição no teor de carotenoides, pigmentos aparentemente envolvidos na proteção contra a fotoinibição (STREIT et al., 2005; TAIZ; ZEIGER, 2013). Como os carotenoides são pigmentos acessórios na absorção e transferência de energia radiante, além de serem protetores da clorofila no processo de fotoxidação, provavelmente a redução dos teores de clorofila está relacionada à redução dos seus protetores. Além disso, a redução do conteúdo de pigmentos pode estar relacionada à redução do acúmulo de biomassa e da redução do crescimento da parte aérea.



^{NS} e ^{**} = não significativo e significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), respectivamente. Letras iguais na coluna não diferem entre si perante o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 2. Teores de Clorofila *a* (A), clorofila *b* (B) e carotenoides (C) de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Para as variáveis clorofila *b* e carotenoides, também foi verificada influência significativa das diferentes temperaturas. Com o aumento da temperatura, constatou-se resposta inversa dos teores de clorofila *b* e carotenoides, de modo que na medida em que se aumentou a temperatura os teores de clorofila *b* aumentaram e os teores de carotenoides diminuíram (Gráfico 3 A e B). Foi constatado que as plântulas das sementes germinadas a 20 °C apresentaram menor desenvolvimento em comparação às plântulas das sementes germinadas nas demais temperaturas, fato nitidamente verificado no tratamento controle (0,0 MPa) (Gráficos 1C e D). O menor desenvolvimento das plântulas nesse tratamento é relacionado à redução da atividade metabólica, ocasionada pelo estresse térmico por baixa temperatura (MARAGHNI et al., 2010; TAIZ; ZEIGER, 2013). De acordo com Duarte (2003), quando as plantas estão sujeitas a algum tipo de estresse, ocorre aumento nos teores de carotenoides, reduzindo a produção de clorofila, como observado no presente trabalho.



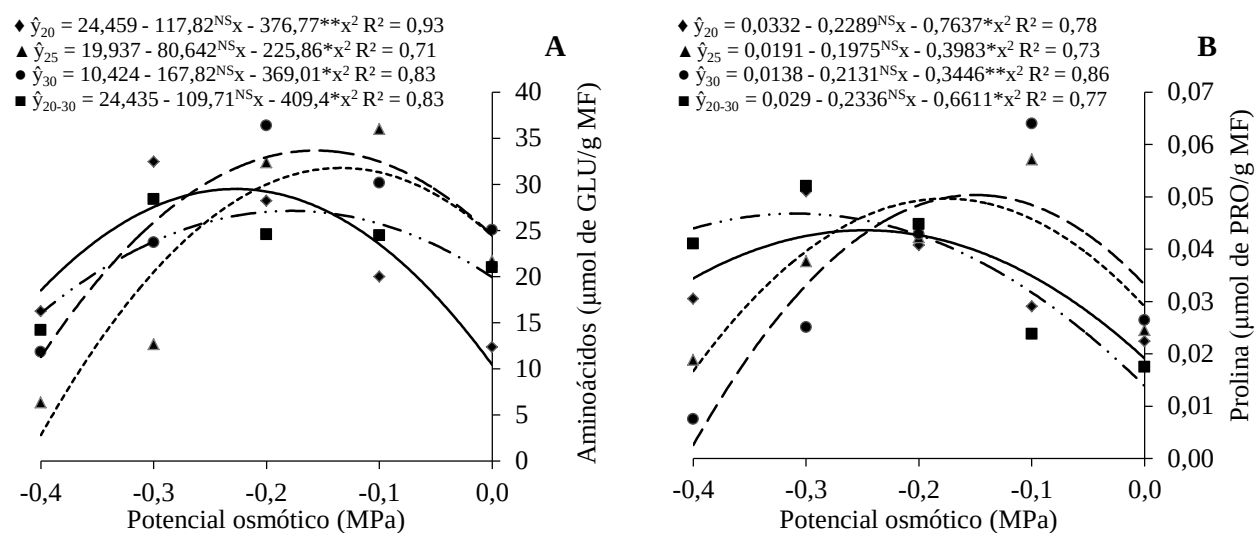
^{NS} e ** = não significativo e significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), respectivamente. Letras iguais na coluna não diferem entre si perante o teste de Tukey ($p < 0,05$).

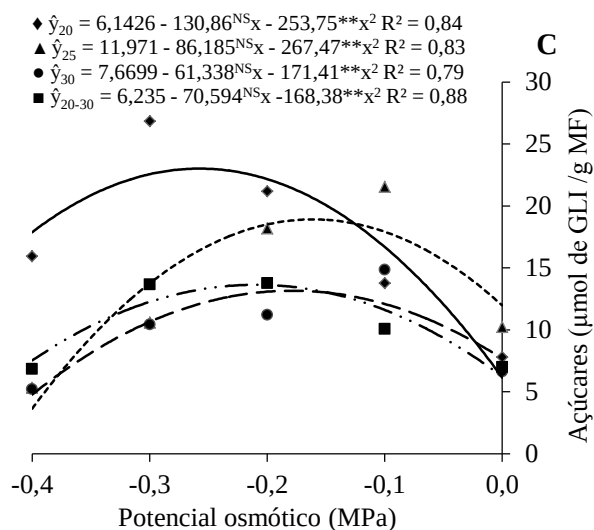
Gráfico 3. Teores de clorofila *b* (A) e carotenoides (B) de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.), submetidas a diferentes temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Houve comportamento quadrático dos teores de aminoácidos nas plântulas oriundas das sementes germinadas em todas as temperaturas estudadas em função da redução do potencial osmótico induzido por PEG 6000, verificando os maiores teores de aminoácidos sob os potenciais osmóticos de -0,16, -0,18, -0,23 e -0,13 para as temperaturas constantes de 20, 25, 30 °C e para alternada de 20-30 °C (Gráfico 4A). Resultados semelhantes foram verificados para os teores de prolina, sendo os maiores teores verificados sob os potenciais osmóticos de -0,15, -0,25, -0,31 e -0,18 para as temperaturas constantes de 20, 25, 30 °C e

para a alternada de 20-30 °C (Gráfico 4B). É possível constatar que o aumento da temperatura influenciou significativamente o aumento dos teores de prolina e, consequentemente, os teores de aminoácidos livres totais, permitindo maior síntese destes compostos em níveis mais altos de potencial osmótico.

Ao correlacionar os dados de prolina e aminoácidos com os dados de crescimento, pode-se constatar que sob a temperatura de 25 °C o aumento desses teores corroborou com as repostas de crescimento das plântulas, haja vista que em condições de estresse hídrico apresentaram maior crescimento em relação às demais temperaturas, denotando um ajuste osmótico eficiente. Todavia, sob a temperatura de 30 °C as plântulas de *S. hispanica* também sintetizaram prolina e aminoácidos até altos níveis de potencial osmótico, no entanto, esse aumento não corrobora com as respostas de crescimento, o que indica que a síntese desses compostos nessa condição está relacionada à intensificação do estresse hídrico pelo aumento da temperatura (Gráficos 1C e 2A e B).





^{NS} e ^{**} = não significativo e significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), respectivamente. Letras iguais na coluna não diferem entre si perante o teste de Tukey ($p < 0,05$).

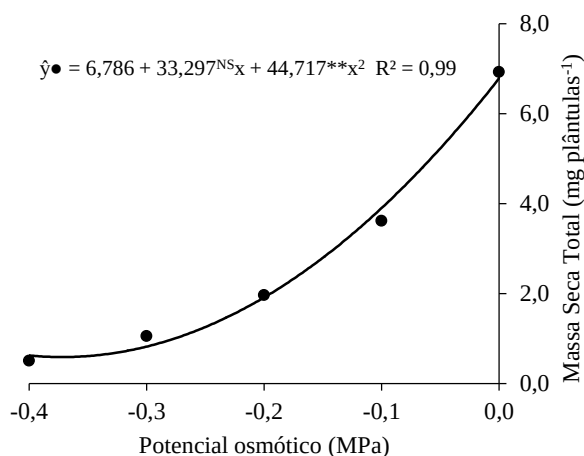
Gráfico 4. Teores de aminoácidos (A), prolina (B) e açúcares (C) de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000 e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Para os teores de açúcares nas plântulas de *S. hispanica*, observou-se comportamento quadrático em função da redução do potencial osmótico induzido por PEG 6000 em todas as temperaturas estudadas. Os maiores teores de açúcares foram verificados sob os potenciais osmóticos de -0,26, -0,16, -0,18 e -0,21 para as temperaturas constantes de 20, 25, 30 °C e para a alternada de 20-30 °C (Gráfico 4A). Constata-se que a síntese de açúcares pelas plantas de *S. hispanica* comportou-se de maneira diferente da síntese de aminoácidos, verificando-se a maior síntese desses compostos quando as plantas estavam submetidas a condições de baixa temperatura (20 °C ou 20-30 °C). Ao correlacionar com os dados de crescimento, é possível constatar que o aumento da síntese de açúcares nas plântulas das sementes germinadas sob a temperatura de 20 °C auxiliou no ajuste osmótico e, conseqüentemente, no crescimento da parte aérea até o nível de -0,3 MPa. Entretanto, sob a temperatura de 20-30 °C, o aumento dos teores de açúcares não promoveu ganhos no crescimento, o que indica que essa síntese está relacionada ao aumento do estresse hídrico impulsionado pela temperatura de 30 °C, assim como constatado para a prolina e os aminoácidos (Gráficos 1C, 2A, B e C).

Quanto à síntese de osmólitos, de maneira geral verifica-se que as plântulas de *S. hispanica* aumentam os teores de prolina, aminoácidos livres e açúcares sob condições de estresse hídrico, considerando-se que esses compostos se acumulam como solutos compatíveis para estabilizar membranas e manter a conformação de proteínas, o que impede a

desidratação do citosol (KISHOR et al., 2005; SZABADOS et al., 2011; TAIZ; ZAIGER, 2013). No entanto, esse ajuste osmótico só é efetivo quando as plântulas de *S. hispanica* tiveram suas sementes germinadas até a temperatura de 25 °C.

Para a massa seca total das plântulas, houve influência significativa apenas dos níveis de potenciais osmóticos, nos quais se observou ajuste quadrático dos dados, verificando-se reduções no acúmulo de massa seca até o nível ajustado de -0,37 MPa, com redução de 92% em relação ao nível controle (0,0 MPa) (Gráfico 5A). Tais resultados indicam que a redução da disponibilidade hídrica na fase de semeadura ocasionou estresse irreversível nas sementes, afetando a transferência de reservas para as plântulas, o que sugere que as sementes de *S. hispanica* sejam sensíveis à redução da disponibilidade hídrica do substrato durante a semeadura. Resultados semelhantes também foram observados por Guedes et al. (2013), em que o conteúdo de massa seca das plântulas de *Apeiba tibourbou* foi afetado pelos diferentes potenciais osmóticos, ocorrendo reduções do conteúdo a partir do potencial de -0,2 MPa até se tornar quase nulo no potencial osmótico de -0,8 Mpa.



^{NS} e ** = não significativo e significativo a 1% de probabilidade ($p < 0,01$), respectivamente. Letras iguais na coluna não diferem entre si perante o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Gráfico 5. Massa seca total de plântulas de chia (*Salvia hispanica* L.), submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

4 CONCLUSÕES

O nível de polietilenoglicol de -0,4 MPa para todas as temperaturas estudadas, e -0,3 MPa nas temperaturas de 30 °C e 20-30 °C inviabilizam a germinação e vigor das plântulas de *S. hispanica*.

As plântulas de *S. hispanica* são capazes de realizar ajuste osmótico sob condições de estresse hídrico até os níveis de -0,3MPa, quando oriundas de sementes germinadas em temperaturas de até 25 °C.

REFERÊNCIAS

- ÁVILA, M. R.; BRACCINI, L. A.; SCAPIM, C. A.; FAGLIARI, J. R.; SANTOS, J. L. Influência do estresse hídrico simulado com manitol na germinação de sementes e crescimento de plântulas de canola. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 98-106, 2007.
- BATES, L. S.; WALDREN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 39, n. 2, p. 205-207, 1973.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. New York: Plenum Press, 1994.
- BRADFORD, K.J.A. Water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 94, n. 3, p. 840-849, 1990.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012.
- DUARTE, C. C. **Deteção óptica da eficiência quântica da fotossíntese**. 109f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, 2003.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GHADERI-FAR, F.; GHEREKHLOO, J.; ALIMAGHAM, M. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of yellow sweet clover (*Melilotus oicinalis*). **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 436-469, 2010.
- GORAI, M.; GASMI, H.; NEFFATI, M. Factors influencing seed germination of medicinal plant *Salvia aegyptiaca* L. (Lamiaceae). **Saudi Journal of Biological Sciences**, Kingdom, v. 18, n. 3, p. 255-260, 2011.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; VIANA, J. S.; GONÇALVES, E. P.; LIMA, C. R.; SANTOS, S. R. N. Germinação e vigor de sementes de *Apeiba tibourbou* submetidas ao

estresse hídrico e diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 23, n. 1, p. 45-53, 2013.

KAPPES, C.; ANDRADE, J. A. C.; HAGA, K. I.; FERREIRA, J. P. A.; ARF, M. V. Germinação, vigor de sementes e crescimento de plântulas de milho sob condições de déficit hídrico. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 125-134, 2010.

KISHOR, P. B. K.; SANGAM, S.; AMRUTHA, R. N.; SRI LAXMI, P.; NAIDU, K. R.; RAO, K. R. S. S.; SREENATH RAO; REDDY, K. J.; THERIAPPAN, P.; SREENIVASULU, N. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. **Current Science**, Bangalore, v. 88, n. 3, p. 424-438, 2005.

LABOURIAU, L. G.; AGUDO, M. On The Physiology of Seed-Germination in *Salvia hispanica* L. 1. Temperature Effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 1-2, p. 37-56, 1987.

LICHTENTHALER, H. K. **Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes**. In: PACKER, L.; DOUCE, R. (org.). *Methods in Enzymology*. London: Academic Press, 1987. p. 350-382.

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.

MARAGHNI, M.; GORAI, M.; NEFFATI, M. Seed germination at different temperatures and water stress levels, and seedling emergence from different depths of *Ziziphus lotus*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 76 n. 3, p. 453–459, 2010.

MUÑOZ, L. A.; COBOS, A.; DIAZ, O. AGUILERA, J. M. Chia Seeds: Microstructure, Mucilage Extraction and Hydration. **Journal of Food Engineering**, London, v. 108, n. 1, p. 216-224, 2012b.

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças visando a germinação em condições de temperaturas baixas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 23, n. 2, p. 211-214, 2005.

OROZCO, B.; ROMERO, M. R. La chía, alimento milenario. **Industria alimentaria (México, D.F.)**, Cidade do México, v. 25, n. 5, p. 20–29, 2003.

PEREIRA, M. D.; LOPES, J. C. Germinação e desenvolvimento de plântulas de pinhão manso sob Condições de estresse hídrico simulado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, suplemento 1, p. 1837-1842, 2011.

SILVA JR, J. F.; KLAR, A. E.; TANAKA, A. A.; FREITAS E SILVA, I. P.; CARDOSO, A. E. I.; PUTTI, F. F. Tomato seeds vigor under water or salt stress. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, Tupã, v. 8, n. 1, p. 65-72, 2014.

SILVA, M. S. A.; YAMASHITA, O. M.; SOUZA, M. D. A.; FERREIRA, D. A. T.; FELITO, R. A. Fatores ambientais na germinação de sementes de *Barbarea verna*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 10, n. 18, p. 1746-1759, 2014.

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**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 135-141, 2006.

STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

SZABADOS, L.; KOVÁCS, H.; ZIBERSTEIN, A.; BOUCHEREAU, A. Plants in extreme envi-ronments: importance of protective compounds in stress tolerance. **Advances in Botanical Research**, London, v. 57, n. 1, p. 105–150, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.

YAMASHITA, O. M.; GUIMARÃES, S. C. Germinação das sementes de *Conyza canadensis* e *Conyza bonariensis* em função da disponibilidade hídrica no substrato. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 2, p. 309-317, 2010.

YEMM, E. W.; COCCKING, E. C. The determination of amino acid with ninhydrin. **Analyst**, London, v. 80, n. 2, p. 209-213, 1955.

YEMM, E.W.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. **Biochemical Journal**. Colchester, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

ZHANG, H.; ZHANG, G.; LÜ, X.; ZHOU, D.; HAN, X. Salt tolerance during seed germination and early seedling stages of 12 halophytes. **Plant Soil**. Dordrecht, v. 388, n. 2, p. 229–241, 2015.

ANEXOS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Resumo da análise de variância das variáveis percentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR), massa seca total (MST) e relação raiz/parte aérea (RRPA) sementes de *Salvia hispanica* L. germinadas sob diferentes substratos e volumes de água. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		PG	TMG	CPA	CR
Substrato (S)	1	374,08 ^{**}	0,093 ^{**}	1,94 ^{**}	29,24 ^{**}
Teor Água (TA)	5	17,55 ^{ns}	0,005 ^{ns}	0,49 ^{**}	2,41 ^{**}
S x TA	5	9,68 ^{ns}	0,010 ^{ns}	1,33 ^{**}	2,71 ^{**}
Erro	36	11,19	0,011	0,11	0,60
CV (%)		3,61	9,45	14,11	17,92

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		MSPA	MSR	MST	RRPA
Substrato (S)	1	1,96 ^{ns}	6,75 ^{**}	15,98 ^{**}	0,14 ^{**}
Teor Água (TA)	5	6,17 ^{**}	0,23 ^{ns}	8,26 ^{**}	0,02 ^{ns}
S x TA	5	1,94 ^{**}	1,10 ^{**}	2,69 ^{ns}	0,07 ^{**}
Erro	36	0,78	0,34	1,23	0,02
CV (%)		20,24	34,49	18,28	40,13

^{**} significativo a 1%; ^{*} significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%; CV- coeficiente de variação.

CAPÍTULO 3

Tabela 2. Resumo da análise de variância das variáveis percentagem de germinação (PG), tempo médio de germinação (TMG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca da raiz (MSR) e relação raiz/parte aérea (RRPA) em plântulas de *Salvia hispanica* L. submetidas a diferentes regimes de luz e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		PG	TMG	CPA	CR
Temperatura (T)	5	3363,0 ^{**}	1,16 ^{**}	9,8 ^{**}	10,1 ^{**}
Luz (L)	2	781,1 ^{**}	3,48 ^{**}	84,2 ^{**}	14,4 ^{**}
T x L	10	544,6 [*]	0,28 ^{**}	1,1 ^{**}	1,05 ^{**}
Erro	54	141,1	0,05	0,06	0,18
CV (%)		14,49	6,81	6,40	10,59

Fonte de variação	GL	Quadrado médio		
		MSPA	MSR	RRPA
Temperatura (T)	5	0,000013 ^{**}	0,000006 ^{**}	0,03 ^{**}
Luz (L)	2	0,000003 ^{ns}	0,00001 ^{**}	0,25 ^{**}
T x L	10	0,000006 ^{**}	0,000001 ^{**}	0,01 ^{**}
Erro	54	6,4E ⁻⁰⁰⁰⁷	2,9E ⁻⁰⁰⁰⁷	0,29
CV (%)		14,49	10,56	21,01

^{**} significativo a 1%; ^{*} significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%; CV- coeficiente de variação.

CAPÍTULO 4

Tabela 3. Resumo da análise de variância das variáveis percentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca total (MST), clorofila *a*, clorofila *b*, carotenoides, açúcares, aminoácidos e prolina plântulas de *Salvia hispanica* L, germinadas sob diferentes condições de salinidade e temperatura. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		PG	IVG	CPA	CR
Sal (S)	4	3003,4 ^{**}	327,4 ^{**}	17,54 ^{**}	36,42 ^{**}
Temperatura (T)	3	1494,5 ^{**}	1638,2 ^{**}	1,25 ^{**}	11,62 ^{**}
S x T	12	1508,2 ^{**}	76,8 ^{**}	0,32 ^{**}	1,39 ^{**}
Erro	60	12,7	1,0	0,01	0,24
CV (%)		4,01	5,11	10,27	14,87

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		MST	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Carotenoides
Sal (S)	4	204,78 ^{**}	714,7 ^{**}	131,76 ^{**}	45,20 ^{**}
Temperatura (T)	3	0,89 ^{ns}	206,2 ^{**}	374,73 ^{**}	0,58 ^{ns}
S x T	12	0,74 ^{ns}	227,8 ^{**}	221,23 ^{**}	10,61 ^{**}
Erro	60	0,65	32,4	26,82	1,81
CV (%)		31,89	20,17	29,64	23,26

Fonte de variação	GL	Quadrado médio		
		Açúcares	Aminoácidos	Prolina
Sal (S)	4	15,31 ^{**}	60,67 ^{**}	0,009 ^{**}
Temperatura (T)	3	43,44 ^{**}	93,63 ^{**}	0,001 ^{**}
S x T	12	14,78 ^{**}	65,05 ^{**}	0,008 ^{**}
Erro	60	0,36	1,02	0,000088
CV (%)		10,05	9,37	9,91

^{**} significativo a 1%; ^{*} significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%; CV- coeficiente de variação.

CAPÍTULO 5

Tabela 4. Resumo da análise de variância das variáveis percentagem de germinação (PG), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca total (MST), clorofila *a*, clorofila *b*, carotenoides, açúcares, aminoácidos e prolina plântulas de *Salvia hispanica* L, submetidas a diferentes potenciais osmóticos induzidos por PEG6000 e temperaturas. UFERSA, Mossoró/RN, 2017.

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		PG	IVG	CPA	CR
Peg (P)	4	25419,32 ^{**}	2198,50 ^{**}	17,16 ^{**}	83,48 ^{**}
Temperatura (T)	3	2830,06 ^{**}	154,77 ^{**}	0,39 ^{**}	5,07 ^{**}
P x T	12	1539,52 ^{**}	124,79 ^{**}	0,19 ^{**}	1,69 ^{**}
Erro	60	11,30	1,07	0,03	0,23
CV (%)		5,06	8,00	14,83	20,56

Fonte de variação	GL	Quadrado médio			
		MST	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Carotenoides
Peg (P)	4	206,68 ^{**}	1502,93 ^{**}	705,91 ^{**}	94,94 ^{**}
Temperatura (T)	3	1,03 ^{ns}	39,09 ^{ns}	304,73 ^{**}	4,66 ^{**}
P x T	12	0,69 ^{ns}	33,58 ^{ns}	39,30 ^{ns}	0,92 ^{ns}
Erro	60	0,91	1405,40	21,82	0,86
CV (%)		38,05	29,28	39,25	33,53

Fonte de variação	GL	Quadrado médio		
		Açúcares	Aminoácidos	Prolina
Peg (P)	4	297,95 ^{**}	816,57 ^{**}	0,00231 ^{**}
Temperatura (T)	3	234,05 ^{**}	58,42 ^{ns}	0,00004 ^{ns}
P x T	12	126,43 ^{**}	180,11 ^{**}	0,00119 ^{**}
Erro	60	4,23	33,44	0,00004
CV (%)		16,09	25,26	17,79

^{**} significativo a 1%; ^{*} significativo a 5%; ^{ns} não significativo a 5%; CV- coeficiente de variação.