



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
Centro de Ciências Agrárias  
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais



Vanessa Miranda

**Comportamento fisiológico da germinação de sementes de  
*Acca sellowiana* sob déficit hídrico**

Florianópolis

2020

Vanessa Miranda

**Comportamento fisiológico da germinação de sementes de  
*Acca sellowiana* sob déficit hídrico**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências, área de concentração Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Neusa Steiner

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Miranda, Vanessa

Comportamento fisiológico da germinação de sementes de  
Acca sellowiana sob déficit hídrico / Vanessa Miranda ;  
orientadora, Neusa Steiner, 2020.

52 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós  
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis,  
2020.

Inclui referências.

1. Recursos Genéticos Vegetais. 2. Feijoa. 3. Estresse  
osmótico. 4. ABA. 5. Poliaminas. I. Steiner, Neusa. II.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

Vanessa Miranda

**Comportamento fisiológico da germinação de sementes de *Acca sellowiana*  
sob déficit hídrico**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

**Prof. Paulo Tamaso Mito, Dr.**

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas  
Universidade Federal de Santa Catarina

**Prof. Valdir Marcos Stefenon, Dr.**

Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Ciências, área de concentração Recursos Genéticos Vegetais.

---

Prof. Dr. Cláudio Roberto Fonseca Sousa Soares

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Neusa Steiner

Orientadora

Florianópolis, 2020.

*Este trabalho é dedicado às minhas avós, Eulália e Dalmira (in memoriam), que me ensinaram o amanho da terra em seus jardins.*

## **Agradecimentos**

À minha família, por todo apoio e suporte, permitindo que eu chegasse até este momento.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro durante o desenvolvimento deste trabalho.

À minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Neusa Steiner, pela paciência e aprendizados nesses últimos dois anos.

À Rosa Angelica Elias da Silva, pela companhia, conselhos e amizade sincera.

À Ana Paula Lando e Daniela Goeten, por todas as discussões e pelo auxílio durante análises que foram essenciais para este trabalho.

A todos os integrantes do Laboratório de Fisiologia Vegetal e funcionários da Universidade Federal de Santa Catarina que de alguma forma colaboraram com o desenvolvimento desta dissertação, em especial à Danielle da Silva, Oscar Alfonso Loaiza Loaiza e Guilherme de Almeida Garcia Rodrigues.

À Estação Experimental da Epagri de São Joaquim, que forneceu materiais fundamentais para a realização dessa pesquisa.

Ao Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal e ao Prof. Marcelo Maraschin do Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal pela parceria que permitiu a execução de análises indispensáveis para a conclusão deste trabalho.

A Matheus Goedert, pelo companheirismo e amor.

Aos meus colegas da pós-graduação, pela parceria nos seminários, trabalhos de campo e estudos.

A todos os grandes professores da Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, por todo o conhecimento passado com paciência e maestria.

Obrigada.

## Resumo

*Acca sellowiana*, conhecida como feijoa, é uma mirtácea nativa da Floresta Ombrófila Mista, com potencial alimentar, ornamental e nutracêutico. Projeções do IPCC e estudos do CIRAM/Epagri sobre o clima da região de ocorrência dessa espécie apontam maior irregularidade das chuvas nas próximas décadas. A germinação é reconhecida como uma das fases mais sensíveis às mudanças climáticas durante o ciclo de vida vegetal. Considerando os processos fisiológicos que ocorrem na semente para que os estresses abióticos sejam superados, este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do ABA e fluridone na viabilidade, vigor e metabolismo da germinação de sementes de *A. sellowiana* submetidas ao déficit hídrico. A partir de testes realizados em quatro variedades e uma população natural de feijoa, observamos ampla variação biométrica intra e inter-varietal em seus frutos e sementes. Seguindo o modelo trifásico, a germinação na população natural foi menos uniforme do que 'Alcântara' e 'Helena', que apresentaram maior porcentagem de germinação e IVG. O déficit hídrico atrasou/inibiu a germinação proporcionalmente à redução do potencial osmótico, além disso, as sementes de 'Helena' apresentaram maior vigor do que as da população natural em déficit hídrico. A aplicação de ABA retardou/diminuiu a uniformidade da germinação em água e PEG, respectivamente. As sementes tratadas com fluridone apresentaram comportamento semelhante ao controle, porém, quando expostas ao déficit hídrico, não germinaram mesmo na presença de ABA exógeno. O conteúdo de proteínas se manteve próximo em todos os tratamentos, porém na dosagem de açúcares foi possível observar um efeito sinérgico entre PEG e ABA. O conteúdo de putrescina e espermidina apresentou diminuição após o início da embebição, com o comportamento oposto sendo observado para a espermina. As poliaminas estavam reduzidas nos tratamentos onde não ocorreu germinação, evidenciando uma associação entre o acúmulo de poliaminas e o processo germinativo. Os resultados indicaram maior adaptabilidade das variedades ao déficit hídrico durante a germinação, quando comparadas à população natural analisada. Através deste trabalho, foi possível observar a importância dessas variedades na conservação da espécie e da Floresta Ombrófila Mista, além de esclarecer o comportamento fisiológico de *A. sellowiana* durante a germinação em um contexto de mudança climática.

**Palavras-chave:** Feijoa. Goiabeira-serrana. Estresse osmótico. ABA. Fluridone. Proteínas. Açúcares. Poliaminas.

## Abstract

*Acca sellowiana*, known as feijoa, is a native species of Myrtaceae present in the Araucaria Forest, with food, ornamental and nutraceutical potential. IPCC projections and studies by CIRAM/Epagri about the climate of the region where this species occurs show increased irregular rainfall in the coming decades. Germination is one of the most sensitive phases to climatic changes during the plant life cycle. Considering the physiological processes that occur in the seed to overcome abiotic stresses, this work aimed to analyze the effect of ABA and fluridone on viability, vigor and germination metabolism of *A. sellowiana* seeds submitted to water deficit. From testes carried out on four varieties and a natural population of feijoa, we observed a wide biometric variation in fruits and seeds, within and between populations. Following the three-phase model, germination in the natural population was less uniform than 'Alcântara' and 'Helena', which had a higher percentage of germination and GSI. The water deficit delayed/inhibited germination in proportion to the decrease in osmotic potential, additionally, 'Helena' seeds showed greater vigor than those of the natural population in water deficit. The application of ABA delayed/decreased the uniformity of germination in water and PEG, respectively. The seeds treated with fluridone showed similar behavior to the control, however, when exposed to water deficit, they didn't germinate even in the presence of exogenous ABA. The protein content remained similar in all treatments, but it was possible to observe a synergistic effect between PEG and ABA in the sugar content. The putrescine and spermidine content decreased after the start of imbibition, with the opposite behavior being observed for spermine. Polyamines were reduced in treatments where there was no germination, showing a relationship between the accumulation of polyamines and the germination process. The results indicate a greater adaptability of the varieties to the water deficit during germination, when compared to the natural population analyzed. Through this work, it was possible to observe the importance of these varieties in the conservation of the species and the Araucaria Forest, besides clarifying the physiological behavior of *A. sellowiana* during germination in a context of climate change.

**Keywords:** Feijoa. Pineapple guava. Osmotic stress. ABA. Fluridone. Proteins. Sugar. Polyamines.



## Lista de Figuras

<b>Figura 1.</b> Precipitação média mensal (mm) histórica e prevista para o sul do Brasil..	<b>2</b>
<b>Figura 2.</b> Curva de embebição para sementes da população natural de <i>A. sellowiana</i> .....	<b>12</b>
<b>Figura 3.</b> Dinâmica de germinação das diferentes variedades de <i>A. sellowiana</i> .....	<b>13</b>
<b>Figura 4.</b> Dinâmica da germinação de sementes <i>A. sellowiana</i> da população natural e variedade Helena em diferentes soluções osmóticas de PEG .....	<b>17</b>
<b>Figura 5.</b> Dinâmica da germinação de sementes <i>A. sellowiana</i> das variedades Alcântara e Helena em soluções com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG.	<b>20</b>
<b>Figura 6.</b> Conteúdo de proteínas, açúcares solúveis totais e poliaminas de sementes <i>A. sellowiana</i> em soluções com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG .....	<b>25</b>

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Biometria dos frutos e sementes de diferentes variedades de <i>A. sellowiana</i> .....	<b>10</b>
<b>Tabela 2.</b> Teor de água e viabilidade de sementes de diferentes variedades de <i>A. sellowiana</i> .....	<b>10</b>
<b>Tabela 3.</b> Porcentagem de germinação, IVG e TMG das diferentes variedades de <i>A. sellowiana</i> .....	<b>13</b>
<b>Tabela 4.</b> Porcentagem de germinação, IVG, TMG e início da germinação de sementes <i>A. sellowiana</i> da população natural e variedade Helena em diferentes soluções osmóticas de PEG.....	<b>15</b>
<b>Tabela 5.</b> Porcentagem de germinação, IVG e TMG de sementes <i>A. sellowiana</i> das variedades Alcântara e Helena em soluções com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG.....	<b>21</b>

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ABA = Ácido Abscísico  
BOD = Demanda Bioquímica de Oxigênio  
CIRAM = Centro de Informações de Recursos Ambientais e de Hidrometeorologia de Santa Catarina  
CV = Coeficiente de Variância  
DIC = Delineamento Inteiramente Casualizado  
DNA = Ácido Desoxirribonucleico  
DP = Desvio Padrão  
Epagri = Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina  
Flu = Fluridone  
G = Força G  
g = Grama  
GA = Giberelinas  
H<sub>2</sub>O = Água  
HPLC = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  
IPCC = *Intergovernmental Panel on Climate Change*  
IVG = Índice de Velocidade de Germinação  
LEA = Abundantes na Embriogênese Tardia  
m = Metro  
M = Molar  
MF = Massa Fresca  
mg = Miligrama  
mL = Mililitro  
mm = Milímetro  
mM = Milimolar  
MPa = Mega Pascal  
nm = Nanômetro  
O = Oeste  
°C = Grau Celsius  
PEG = Polietilenoglicol  
pH = Potencial Hidrogeniônico  
PUT = Putrescina  
ROS = Espécies Reativas de Oxigênio  
rpm = Rotações por Minuto  
RS = Rio Grande do Sul  
s = Segundo  
S = Sul  
SC = Santa Catarina  
SPD = Espermidina  
SPM = Espermina  
SREX = *Special Report on Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation*  
TMG = Tempo Médio de Germinação  
 $\alpha$  = p = Nível de Significância  
 $\mu$ E = Micro Einstein  
 $\mu$ mol = Micromol

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Hipóteses</b> .....	<b>5</b>
<b>3. Objetivos</b> .....	<b>5</b>
3.1. Objetivo Geral .....	5
3.2. Objetivos Específicos .....	5
<b>4. Material e Métodos</b> .....	<b>6</b>
4.1. Coleta do Material e Biometria de Frutos e Sementes .....	6
4.2. Teste do Tetrazólio.....	6
4.3. Grau de Umidade .....	7
4.4. Curva de Embebição .....	7
4.5. Teste de Germinação - Variedades.....	7
4.6. Teste de Germinação – Déficit Hídrico, ABA e Fluridone.....	7
4.7. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG).....	8
4.8. Determinação e Quantificação de Poliaminas.....	8
4.9. Quantificação de Proteínas e Açúcares Solúveis Totais .....	8
4.10. Análises Estatísticas .....	9
<b>5. Resultados e Discussão</b> .....	<b>10</b>
Biometria dos frutos e germinação de sementes de diferentes variedades de <i>A. sellowiana</i> .....	10
Germinação de sementes de <i>A. sellowiana</i> sob déficit hídrico .....	15
Efeito do ABA e seu inibidor na germinação de sementes de <i>A. sellowiana</i> sob déficit hídrico .....	20
Metabolismo da germinação de sementes de <i>A. sellowiana</i> sob déficit hídrico .....	23
<b>6. Conclusão</b> .....	<b>29</b>
<b>7. Perspectivas e Considerações Finais</b> .....	<b>30</b>
<b>Referências</b> .....	<b>30</b>

## Introdução

A família Myrtaceae compreende aproximadamente 132 gêneros e 5950 espécies de árvores e arbustos de distribuição cosmopolita, porém concentrada em áreas tropicais e subtropicais do hemisfério sul (CHRISTENHUSZ; BYNG, 2016). No Brasil, é a família mais representativa dos levantamentos florísticos, estando presente em todas as regiões do país e sendo predominante na Mata Atlântica (SILVA; MAZINE, 2016).

A *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret é uma mirtácea nativa, conhecida popularmente como feijoa, goiabeira-serrana ou goiabeira-do-mato. Esta frutífera apresenta características de interesse através de seu potencial produtivo alimentar, ornamental e nutracêutico (MATTOS, 1986; VUOTTO et al., 2000). A feijoeira é uma árvore pequena, geralmente estando entre dois e cinco metros de altura. Seus ramos são lignificados e as folhas são pequenas, opostas e pecioladas (MATTOS, 1986). A flor é epígina, com ovário ínfero e aderente; apresenta quatro sépalas pequenas e verdes, e quatro pétalas carnosas, brancas em sua face externa e arroxeadas em sua face interna. As pétalas são adocicadas e muito atrativas para os pássaros, que efetuam a polinização enquanto consomem a corola. Aproximadamente 60 estames vermelhos estão presentes na flor, além de um estilete, também vermelho, na região central (STEWART, 1987; DUCROQUET; RIBEIRO, 1991).

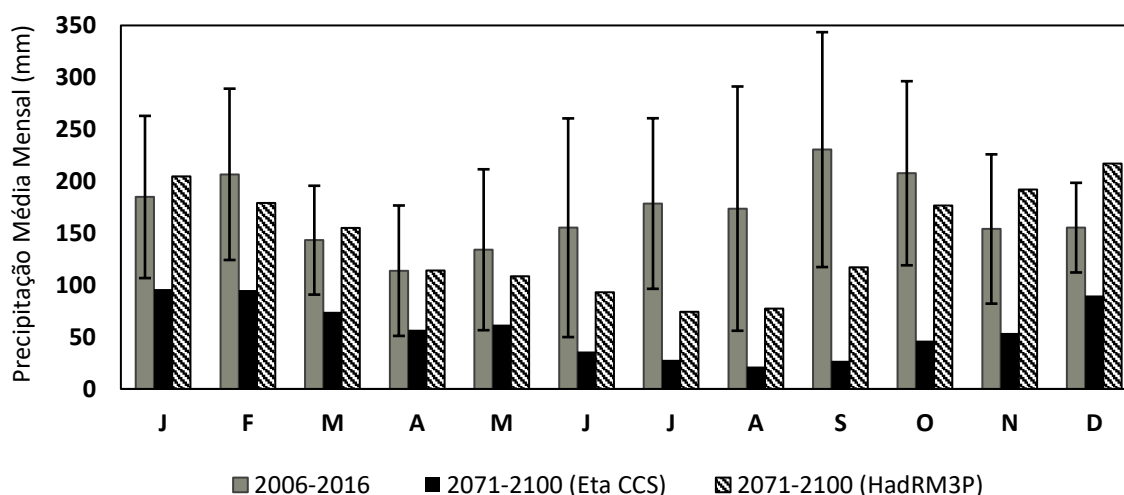
A feijoa é classificada como pseudofruto do tipo pomo, variando seu formato de redondo a ovalado, sempre em tons de verde, mesmo após a maturação. A casca é espessa e rica em taninos, não sendo apropriada para o consumo. A polpa apresenta cor entre o gelo e o amarelado, é aromática, doce e ácida (MATTOS, 1986). O fruto pode apresentar mais de 100 sementes dispersas em sua polpa gelatinosa (DEGENHARDT, 2001). A espécie é hermafrodita e predominantemente alógama, porém apresenta autoincompatibilidade tardia (DUCROQUET; RIBEIRO, 1991; FINATTO, 2008). A floração ocorre entre outubro e dezembro, enquanto a maturação dos frutos se estende entre fevereiro e maio, variando conforme as condições climáticas locais (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000). Além dos pássaros, que são os polinizadores principais, as flores também são visitadas por mamangavas como *Xylocopa frontalis* e *Bombus atratus* (HICKEL; DUCROQUET, 2000).

*A. sellowiana* é originária do planalto meridional brasileiro e do nordeste uruguaio. Na serra catarinense, local considerado o centro de dispersão da espécie

(SANTOS et al., 2011, p. 114), a distribuição natural ocorre em grandes altitudes, estando dispersa na Floresta Ombrófila Mista e em pomares particulares (LEGRAND; KLEIN, 1977). Segundo Ducroquet, Hickel e Nodari (2000), desde a década de 80 iniciativas têm promovido o uso e a conservação da goiabeira-serrana, culminando no lançamento das primeiras variedades brasileiras, “Alcântara” e “Helena” em 2007 e “Mattos” e “Nonante” em 2008, através de uma parceria entre a Epagri e a Universidade Federal de Santa Catarina (DUCROQUET et al., 2007; DUCROQUET et al., 2008).

A Mata Atlântica presente na região sul do Brasil sofrerá com a grande irregularidade de chuvas nas próximas oito décadas, como sugerido no relatório SREX lançado pelo IPCC (2012) (MARENGO, 2014). Estudos realizados pela Epagri/Ciram com o acompanhamento das séries históricas de dados meteorológicos apontam mudanças climáticas atuando sobre a área de ocorrência da goiabeira-serrana, principalmente relacionadas ao aumento da temperatura do ar e alteração do regime de precipitação nos meses que sucedem a queda do fruto maduro (CAMARGO; BRAGA; ALVES, 2006; PANDOLFO et al., 2007). Com a utilização de diferentes modelos, Marengo e colaboradores (2010) observaram uma tendência de redução da precipitação entre os meses de maio e outubro no sul brasileiro (**Figura 1**).

**Figura 1.** Precipitação média mensal (mm) histórica e prevista para o sul do Brasil



Cinza: média da precipitação observada em São Joaquim/SC entre 2006 e 2016 para cada mês e seu desvio padrão. Fonte: Ciram/Epagri; Preto: média da precipitação prevista para o sul do Brasil entre 2071 e 2100 através de simulação no modelo Eta CCS; Padrão Diagonal: média da precipitação prevista para o sul do Brasil entre 2071 e 2100 através de simulação no modelo HadRM3P. Fonte: MARENGO et al., 2010.

A fase reprodutiva e os estágios iniciais do desenvolvimento das plantas são possivelmente mais sensíveis às mudanças climáticas do que a fase adulta vegetativa (WALCK et al., 2011; KÖCHY, 2008). Naturalmente, as sementes precisam superar as diversas condições abióticas para garantir a sobrevivência da próxima geração. A habilidade de tolerar e resistir as variações de temperatura, salinidade e desidratação durante a germinação é essencial para o estabelecimento da planta (DASZKOWSKA-GOLEC, 2011).

A germinação é um processo complexo, mediado por vias bioquímicas integradas a moléculas sinalizadoras, como espécies reativas de oxigênio (ROS), açúcares, proteínas, poliaminas e hormônios, principalmente o ácido abscísico (ABA) e as giberelinas (GA), que apresentam efeito antagônico (BICALHO, 2015). O balanço entre o conteúdo dessas moléculas e seus efeitos nas células da semente são fundamentais para o sucesso da germinação: enquanto o ABA regula a indução e manutenção da dormência em sementes, inibindo o início da germinação, as GA agem de forma contrária, neutralizando os efeitos do ABA e promovendo a germinação (KUCERA; COHN; LEUBNER-METZGER, 2005).

Com o objetivo de superar os estresses bióticos e abióticos, as plantas podem adaptar seus processos fisiológicos e bioquímicos através da regulação da expressão de determinados genes (BARTELS; SUNKAR, 2005). O ABA tem papel crítico nessa resistência ao estresse: durante o estresse hídrico e salino, o conteúdo endógeno de ABA é positivamente regulado (ZHU, 2016), desencadeando o fechamento dos estômatos e o acúmulo de ROS, desidrinas e proteínas abundantes na embriogênese tardia (LEA) (TENG, 2014). O uso de inibidores da síntese de hormônios pode auxiliar na obtenção de informações sobre os efeitos da ausência dessas substâncias no desenvolvimento das sementes (PISKUREWICZ, 2008). Em estudos envolvendo a atuação do ABA sobre a germinação e crescimento de plantas, o herbicida fluridone ((1-methyl-3-phenyl-5-[3-trifluoromethyl]phenyl)-4-(1H)-pyridinone) pode ser utilizado, visto que inibe a produção de carotenoides e, por consequência, a biossíntese do ABA (WORARAD, 2017).

Adicionalmente, o uso de soluções osmóticas permite reproduzir o déficit hídrico durante a germinação fora do ambiente natural. Sendo uma substância inerte, não-iônica e com moléculas grandes que não penetram nas células (HOHL; PETER, 1991), o polietileno glicol com peso molecular 6000 (PEG 6000) é uma das substâncias mais usadas visando mimetizar o déficit hídrico (NASER, 2010). Estas

condições osmóticas induzem estresse oxidativo nas plantas, causando alterações metabólicas e aumento da peroxidação lipídica, resultando em dano a diversas estruturas celulares, como as membranas plasmáticas (COHEN, 2015).

A tolerância ao déficit hídrico é um fenômeno que envolve muitas características vegetais, podendo ser atingida pela modulação da expressão gênica e pelo acúmulo de proteínas e metabólitos com atividade protetiva, como açúcares solúveis, prolina e proteínas específicas (ZHANG; KOMATSU, 2007). Uma grande parte desse processo de adaptação às condições adversas também é mediado pelas poliaminas (LIU et al., 2007).

As poliaminas são compostos nitrogenados policatiônicos que estão presentes na maioria dos organismos vivos; podendo interagir com macromoléculas celulares, como ácidos nucleicos, proteínas e fosfolípidios, as poliaminas atuam regulando os processos de replicação, transcrição e tradução do DNA, além de controlar a estabilidade da membrana plasmática e o balanço iônico celular (PAUL; ROYCHOUDHURY, 2017).

Foi observado que o aumento do conteúdo de poliaminas intensifica a capacidade antioxidante e fotossintética, além de favorecer a estabilidade da membrana celular de espécies vegetais em condições estressantes (ALCÁZAR et al., 2010a). As três principais poliaminas presentes nas plantas são a putrescina (PUT), a espermidina (SPD) e a espermina (SPM) (YANG et al., 2008). A putrescina é sintetizada a partir de aminoácidos envolvidos no metabolismo da ureia, principalmente ornitina e secundariamente arginina (WITTE, 2011). A putrescina pode, então, ser convertida em espermidina, através da enzima espermidina sintase, que então origina a espermina em uma reação catalisada pela espermina sintase (LIU et al., 2007).

Considerando as fortes evidências de que as mudanças climáticas aumentarão as temperaturas globais, alterando os padrões geográficos de chuvas e intensificando a ocorrência de eventos climáticos extremos, é previsto também um aumento da frequência e da severidade do estresse térmico e osmótico imposto sobre as plantas e sementes (HARRISON et al., 2014). As alterações nos padrões de germinação, sucesso no estabelecimento e abundância de plântulas decorrentes de variações no clima trazem consequências para a composição e diversidade das comunidades biológicas (LEISHMAN et al., 1992; CHESSON et al., 2004). Logo, informações sobre a capacidade de germinação nessas circunstâncias são necessárias para o



modelamento de populações vegetais em diferentes cenários de mudanças climática (MORIN; THUILLER, 2009; DALGLEISH; KOONS; ADLER, 2010), permitindo possíveis previsões sobre a futura dinâmica e distribuição da Floresta Ombrófila Mista e suas espécies, como a *Acca sellowiana*.

Considerando a importância da família Myrtaceae para manutenção do bioma Mata Atlântica e a diversidade de *A. sellowiana*, bem como a ausência de estudos relacionados a fisiologia das sementes dessa espécie, o presente trabalho foi desenvolvido. Foram investigados os efeitos do ABA e seu inibidor fluridone na germinação e no conteúdo de poliaminas, proteínas e açúcares solúveis totais de sementes de *A. sellowiana* sob déficit hídrico.

## 1. Hipóteses

- Sementes de *A. sellowiana* provenientes de populações naturais e de variedades apresentam variação na biometria de frutos e sementes e na dinâmica de germinação sob déficit hídrico;
- A aplicação de ABA e fluridone influencia na dinâmica de germinação de sementes de *A. sellowiana* sob déficit hídrico;
- O conteúdo de poliaminas, proteínas e açúcares solúveis totais das sementes de *A. sellowiana* é influenciado pela presença de ABA, fluridone e déficit hídrico durante a germinação.

## 2. Objetivos

### 3.1. Objetivo Geral

Caracterizar o efeito do ABA e fluridone na viabilidade, vigor e metabolismo da germinação de sementes de *A. sellowiana* submetidas ao déficit hídrico.

### 3.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar os parâmetros biométricos de frutos e sementes de diferentes variedades de *A. sellowiana* comparativamente a uma população natural;

- Avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de diferentes variedades de *A. sellowiana* comparativamente a uma população natural;
- Avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de *A. sellowiana* submetidas ao déficit hídrico na presença de ABA e fluridone;
- Analisar o perfil de poliaminas endógenas, proteínas e açúcares solúveis totais das sementes de *A. sellowiana* submetidas ao déficit hídrico na presença de ABA e fluridone.

### 3. Material e Métodos

#### 4.1. Coleta do Material e Biometria de Frutos e Sementes

Os frutos das variedades Nonante, Mattos, Helena e Alcântara foram coletados na Estação Experimental da Epagri, no município de São Joaquim (28° 16' 30" S; 49° 56' 21" O) e os frutos de uma população natural foram coletados no município de Paineira (27° 54' 48,3" S; 49° 59' 22,7" O), ambas as cidades localizadas na região do planalto serrano catarinense. A coleta foi realizada a partir de aproximadamente 10 plantas por variedade em São Joaquim e aproximadamente 20 plantas em Paineira, todas apresentando polinização aberta.

Os frutos foram despulpados e as sementes foram extraídas através de maceração enzimática com uso de 2 mL pectinase (*Pectinex Ultra Tropical - Novozymes®*) por litro de polpa, durante 2 horas a 35 °C. Foram amostrados e pesados 25 frutos inteiros de cada variedade e da população natural, a casca, a polpa e as sementes de cada fruto para fins de análises biométricas.

#### 4.2. Teste do Tetrazólio

As sementes de cada variedade e da população natural foram embebidas em água destilada por 12 horas, seccionadas longitudinalmente e imersas em solução de tetrazólio (1%) durante duas horas, sendo mantidas no escuro a 30 °C durante esse período (SARMENTO et al., 2013). As sementes foram classificadas em viáveis e não-viáveis através da coloração e aspecto dos tecidos. Foram realizadas quatro repetições de 25 sementes.

### **4.3. Grau de Umidade**

As sementes de cada variedade e da população natural foram mantidas em estufa a  $105 \pm 3$  °C durante 24 horas para obtenção dos valores de massa fresca, massa seca, grau de umidade da semente, conforme Brasil (2009). Foram realizadas quatro repetições de 25 sementes.

### **4.4. Curva de Embebição**

As sementes da população natural foram desinfestadas em álcool (70%) por 50 segundos, após em hipoclorito de sódio (1%) por 1,5 minuto, seguido de lavagem em água destilada por 3 vezes (adaptado de FANTINEL et al., 2017). As sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri com substrato de papel *germitest* umedecido, em germinador tipo BOD com fotoperíodo de 12 horas ( $120 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) a 25 °C. As sementes foram pesadas a cada 15 minutos por 3 horas, a cada 30 minutos por 2 horas, a cada 45 minutos por 1,5 hora, a cada 1 hora por 6 horas, a cada 12 horas por 3 dias e depois a cada 24 horas até que fosse atingido 51% de germinação (BRASIL, 2009). Foram realizadas quatro repetições de 20 sementes.

### **4.5. Teste de Germinação – Variedades e População Natural**

As sementes foram desinfestadas como descrito no item 4.4 e colocadas para germinar em placas de Petri com substrato de papel *germitest* umedecido em água, em germinador tipo BOD com fotoperíodo de 12 horas ( $120 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) a 25 °C por 50 dias. Foram realizadas três repetições de 15 sementes.

### **4.6. Teste de Germinação – Déficit Hídrico, ABA e Fluridone**

As sementes da variedade Helena e da população natural (selecionadas a partir dos resultados discutidos na Figura 3 e Tabela 3) foram desinfestadas como descrito no item 4.4. e colocadas para germinar em placas de Petri com substrato de papel *germitest* umedecido com diferentes soluções osmóticas de PEG 6000 para simular o déficit hídrico nos níveis de 0, -0,2, -0,3, -0,4, -0,8 e -1,2 MPa, em germinador tipo

BOD com fotoperíodo de 12 horas ( $120 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  por 60 dias. Foram realizadas três repetições de 10 sementes.

As sementes das variedades Helena e Alcântara (selecionadas a partir dos resultados discutidos nas Figuras 3 e 4; Tabelas 3 e 4) também foram colocadas para germinar em placas de Petri com substrato de papel *germitest* umedecido com água, ABA ( $200 \mu\text{M}$ ), fluridone (Flu) ( $200 \mu\text{M}$ ), PEG ( $-0,8 \text{ MPa}$ ), PEG ( $-0,8 \text{ MPa}$ )+ABA ( $200 \mu\text{M}$ ), PEG ( $-0,8 \text{ MPa}$ )+Flu ( $200 \mu\text{M}$ ) ou PEG ( $-0,8 \text{ MPa}$ )+ABA ( $200 \mu\text{M}$ )+Flu ( $200 \mu\text{M}$ ), em germinador tipo BOD com fotoperíodo de 12 horas ( $120 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  por 60 dias. Foram realizadas três repetições de 20 sementes. As concentrações de ABA e fluridone foram baseadas em testes prévios com *A. sellowiana* e no trabalho com germinação de sementes de *Trichocline catharinensis* de Lando e colaboradores (2019). No momento da protrusão da radícula, as sementes foram coletadas e armazenadas a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  até o momento das análises bioquímicas.

#### **4.7. Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG)**

Durante os testes de germinação, foi realizada a contagem diária do número de sementes germinadas, através desses dados foram calculados o IVG e o TMG, como descrito por Maguire (1962) e Ranal e Santana (2006).

#### **4.8. Determinação e Quantificação de Poliaminas - Déficit Hídrico, ABA e Fluridone**

Foram trituradas três repetições de 200 mg de sementes em ácido perclórico (5%). Após uma hora, as amostras foram centrifugadas por 20 minutos a  $20000 \text{ g}$  a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . As poliaminas livres foram derivadas através de cloreto de dansil e identificadas por HPLC (SILVEIRA et al., 2004; STEINER et al., 2007). O conteúdo de poliaminas foi determinado através de um detector de fluorescência a  $340 \text{ nm}$  (excitação) e  $510 \text{ nm}$  (emissão). As áreas de pico e os tempos de retenção foram comparados com os valores de poliaminas padrões (PUT, SPD, SPM).

#### **4.9. Quantificação de Proteínas e Açúcares Solúveis Totais - Déficit Hídrico, ABA e Fluridone**

Foram maceradas três repetições de 200 mg de sementes em tampão de extração (50 mM de fosfato de sódio dibásico; 0,2 M de  $\beta$ -mercaptoetanol; 17,3 mM de dodecil sulfato de sódio; 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfonil; pH 7) a 4 °C. As amostras foram centrifugadas por 20 minutos a 8000 rpm a 0 °C. As proteínas totais foram precipitadas no sobrenadante com álcool etílico absoluto e reservadas por 30 minutos a 4 °C. As amostras foram novamente centrifugadas por 20 minutos a 8000 rpm a 0 °C. O sobrenadante foi descartado e as proteínas foram ressuspendidas em fosfato de sódio dibásico (50 mM). O conteúdo de proteínas foi determinado pelo método de Bradford (1976), utilizando Azul de Coomassie e albumina de soro bovino como padrão. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 595 nm.

Para extração dos açúcares, o pellet formado durante a extração de proteínas foi macerado em uma mistura de 2 mL de metanol:clorofórmio:água (12:5:3), seguido de centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm. O sobrenadante foi recolhido e reservado, enquanto o pellet sofreu nova extração. Os sobrenadantes foram reunidos e adicionados de uma parte de clorofórmio e uma parte e meia de água para cada quatro partes de sobrenadante, seguido de centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm. Uma solução aquosa de duas fases foi obtida, a fase superior foi removida para dosagem com antrona (0,2%), de acordo com Umbreit e colaboradores (1964), utilizando glicose como padrão. A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 620 nm.

#### **4.10. Análises Estatísticas**

Na avaliação da biometria de frutos e sementes foi utilizada estatística descritiva acompanhada do coeficiente de variação das amostras. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) e para as análises de teor de água, viabilidade, porcentagem de germinação, IVG, TMG e conteúdo de proteínas, açúcares solúveis totais e poliaminas, os dados foram submetidos à análise de variância e, posteriormente, ao teste de Tukey com  $\alpha = 0,05$  (SOKAL; ROHLF, 2012) utilizando o *software* R (R CORE TEAM, 2019).

#### 4. Resultados e Discussão

##### Biometria dos frutos e germinação de sementes de diferentes variedades de *A. sellowiana*

A população natural (Pop. Natural) apresentou frutos mais leves do que as variedades (**Tabela 1**), com média de 38,7 g por fruto, contudo, suas sementes são as mais pesadas e também apresentam o maior teor de água (**Tabela 2**). Pedrosa, Clement e Schietti (2018) observaram um comportamento semelhante em *Pourouma cecropiifolia*, onde as populações naturais produzem sementes maiores devido às difíceis condições de estabelecimento na área de sombra abaixo do dossel amazônico, enquanto que as sementes produzidas por populações domesticadas são menores, visto que o cultivo de espécies florestais em locais com menor fertilidade do solo e maior disponibilidade de luz promove a redução da massa das sementes ao longo do tempo (MOLES et al., 2005). Alterações na morfologia das partes aéreas, frutos e sementes estão entre as características comumente observadas na síndrome de domesticação em plantas (MEYER; DUVAL; JENSEN, 2012).

**Tabela 1.** Biometria dos frutos e sementes de diferentes variedades de *A. sellowiana*

Variedade	Fruto (g)	Casca (g)	Polpa (g)	Sementes por Fruto (g)	Nº de Sementes por Fruto	Peso Médio por Semente (mg)
Pop. Natural	38,7 ± 13,1	27,6 ± 8,7	11 ± 5,1	0,34 ± 0,25	48 ± 39	7,5 ± 1,3
Helena	53,6 ± 13,4	35,2 ± 9,8	18,1 ± 5,2	0,21 ± 0,07	52 ± 19	3,5 ± 0,4
Nonante	49,2 ± 15,6	36,2 ± 11,8	12,6 ± 5,7	0,32 ± 0,11	53 ± 22	6,2 ± 0,8
Alcântara	48,1 ± 12,4	28,4 ± 7,4	19,4 ± 5,6	0,39 ± 0,2	120 ± 73	3,6 ± 0,7
CV (%)	13	14	27	24	51	38

Média dos dados ± desvio padrão (DP) (n=25). CV=coeficiente de variância. Sementes coletadas em 2019.

**Tabela 2.** Teor de água e viabilidade de sementes de diferentes variedades de *A. sellowiana*

Variedade	Teor de Água da Semente (%)	Viabilidade da Semente (%)
Pop. Natural	15,3 ± 0,6 a	97 ± 4 a
Helena	9,5 ± 1 b	99 ± 2 a
Nonante	9,6 ± 0,2 b	99 ± 2 a
Alcântara	10,2 ± 0,2 b	98 ± 4 a

Média dos dados ± DP (n=4). Diferentes letras indicam diferença significativa com  $p < 0,05$ , de acordo com o Teste de Tukey. Sementes coletadas em 2018 e 2019.

Enquanto a variedade Nonante apresentou maior porcentagem de casca, chegando a 73,6% do peso total do fruto, 'Alcântara' apresentou a maior porcentagem de polpa, alcançando 40,3% do peso total do fruto. A variedade Alcântara também possui o maior número de sementes por fruto ( $120 \pm 73$  sementes), porém com grande desvio entre as amostras. Para *P. cecropiifolia* foi observado que o peso do fruto, da polpa e das sementes apresentavam maior variância em populações domesticadas do que em populações selvagens, indicando maior variabilidade fenotípica dessas características em plantas sob seleção humana (PEDROSA; CLEMENT; SCHIETTI, 2018).

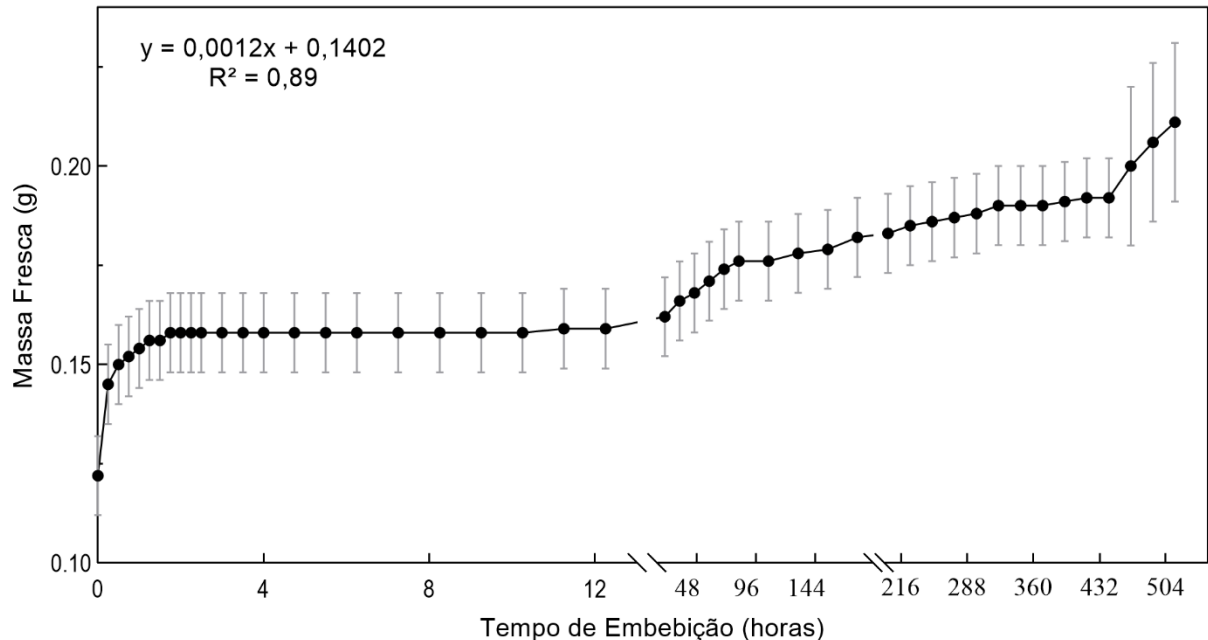
A viabilidade das sementes foi a mesma para todas as variedades analisadas (**Tabela 2**), entretanto o número de sementes por fruto teve uma ampla variação, com CV=51% entre as variedades (**Tabela 1**). Bogoni, Graipel e Peroni (2018) encontraram valores de  $62 \pm 36$  sementes por fruto para "População Natural" na serra catarinense, também demonstrando alta variabilidade entre frutos. Tonetto (2018) obteve grande variação no peso de frutos de uma população localizada em Santa Maria/RS: entre 3,4 e 38,7 g por fruto. O peso médio desses frutos foi bastante baixo quando comparado aos valores obtidos neste trabalho: 38,7 g comparado às 10,5 g de Tonetto. O mesmo perfil é observado para o número de sementes por fruto ( $27 \pm 19$  sementes), peso médio das sementes (2,5 mg) e no teor de umidade (4,9 %). Tal variação pode confirmar as diferenças já descritas entre os frutos e sementes do tipo Brasil (originado na serra catarinense) e do tipo Uruguai (presente no Rio Grande do Sul) (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000; SCHOTSMANS et al., 2011).

Sarmento e colaboradores (2018) apontam que espécies nativas comumente apresentam variações na biometria de frutos e que essa característica seria uma consequência do alto fluxo gênico entre os indivíduos, possivelmente demonstrando um alto potencial dessas sementes como recurso genético para a conservação da biodiversidade. A grande variação fenotípica de *A. sellowiana* já é descrita e decorre, parcialmente, da presença de alogamia nessa planta, além do processo de domesticação incipiente que a espécie atravessa (SANTOS et al., 2005).

A absorção de água pelas sementes é o passo inicial e fundamental para que ocorra a germinação. De maneira geral a curva de embebição apresenta-se trifásica em condições ótimas de absorção de água, sendo que cada fase reflete diferentes processos físicos e metabólicos (BEWLEY et al., 2013). A germinação das sementes da população natural de *A. sellowiana* seguiu o modelo trifásico (**Figura 2**) e iniciou

no 13º dia após o início da embebição e foi encerrada aos 22 dias, quando 51% das sementes estavam germinadas.

**Figura 2.** Curva de embebição para sementes da população natural de *A. sellowiana*



Média dos dados  $\pm$  DP (n=4). Dados coletados até a germinação de 51% das sementes. Sementes coletadas em 2018.

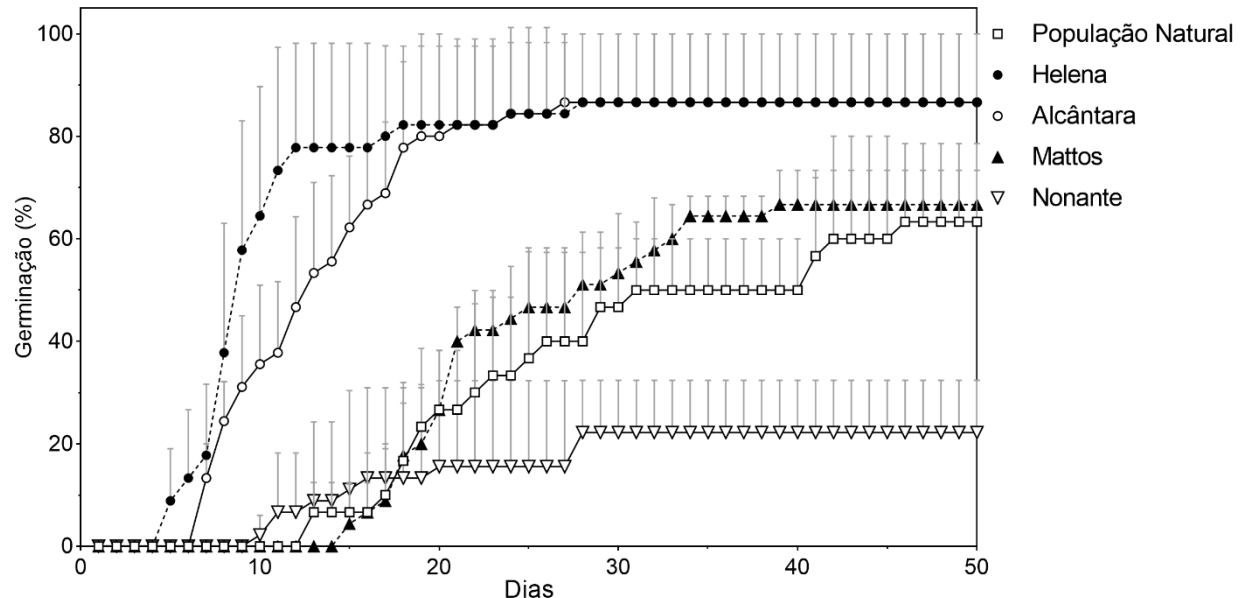
Houve alta absorção de água nas primeiras 2 horas, com aumento de 29,5% da massa fresca, constituindo a fase 1. Após, ocorreu um período de estabilização do peso até às 12 horas, com um aumento de 30,3% da massa fresca quando comparado à semente matura. Esse intervalo de latência caracteriza a fase 2 da curva de germinação e apresenta um aumento das atividades metabólicas e alta transcrição de genes (KHAN, 1982). Por fim, foi observado aumento gradual da massa fresca das sementes na fase 3, chegando a 73% quando comparado à semente matura. O aumento do peso observado na fase 3 é induzido pela expansão das células vegetais, que ocorre através da absorção de água e alongamento da parede celular, culminando com a protrusão da radícula (BEWLEY et al., 2013).

Quando observamos a dinâmica de germinação de sementes das diferentes variedades de *A. sellowiana* (**Figura 3**), é possível notar a variação presente na germinação dessa espécie. As variedades Helena (86,7%) e Alcântara (86,7%) apresentaram as maiores porcentagens de germinação (**Tabela 3**), porém sem diferença estatística quando comparadas a população natural (63,3%) e a variedade Mattos (66,7%). Ambas, 'Helena' e 'Alcântara', apresentaram o maior IVG e menor



TMG, além de uma dinâmica de germinação bastante similar. A população natural apresentou comportamento intermediário entre as variedades, com uma dinâmica de germinação desuniforme ao longo do tempo (**Figura 3**).

**Figura 3.** Dinâmica de germinação das diferentes variedades de *A. sellowiana*



Média dos dados  $\pm$  DP (n=3). Sementes coletadas em 2018.

**Tabela 3.** Porcentagem de germinação, IVG e TMG das diferentes variedades de *A. sellowiana*

Variedade	Germinação (%)	IVG	TMG (dias)
Pop. Natural	63,3 $\pm$ 15,3 a	0,28 $\pm$ 0,08 b	26,1 $\pm$ 1,3 b
Helena	86,7 $\pm$ 13,3 a	1,14 $\pm$ 0,2 a	6,6 $\pm$ 4,3 a
Nonante	22,2 $\pm$ 10,2 b	0,22 $\pm$ 0,18 b	30 $\pm$ 12 b
Alcântara	86,7 $\pm$ 13,3 a	1,04 $\pm$ 0,27 a	10,2 $\pm$ 0,5 a
Mattos	66,7 $\pm$ 6,7 a	0,46 $\pm$ 0,08 b	25,9 $\pm$ 1,7 b

Média dos dados  $\pm$  DP (n=3). Diferentes letras indicam diferença significativa com  $p < 0,05$ , de acordo com o Teste de Tukey. Sementes coletadas em 2018.

Em um estudo sobre a conservação *on farm* de *A. sellowiana*, Donazzolo e colaboradores (2020) observaram que o aumento do endocruzamento, característico de plantas manejadas que sofrem seleção, reflete em uma menor base genética desses grupos, podendo favorecer a uniformidade da germinação observada nas variedades Helena e Alcântara. Mesmo considerando que as sementes utilizadas nesse experimento foram originadas a partir de polinização aberta, a dinâmica de germinação seguiu padrões específicos em cada variedade, demonstrando o efeito da planta-mãe no comportamento das sementes. Além das características

geneticamente transferidas às próximas gerações, a planta-mãe também pode influenciar na dinâmica e porcentagem de germinação das sementes através de alterações epigenéticas, interferindo inclusive na fenologia das plantas geradas (DEWAN et al., 2018).

Espécies não-domesticadas e populações selvagens frequentemente exibem uma dinâmica de germinação não-uniforme como a observada para a população natural de *A. sellowiana*, o que indica a presença de diferentes potenciais de germinação em cada semente amostrada (BEWLEY et al., 2013), bem como a presença de algum tipo de dormência e, possivelmente, a grande variabilidade genética dessa população. Bradford (1995) explicita que raramente todas as sementes de uma população completam a germinação simultaneamente: enquanto algumas sementes iniciam o processo de forma rápida e outras completam a germinação muito lentamente, a maioria das sementes terá um comportamento mediano, o que resulta na curva sigmoide observada para a maioria das dinâmicas de germinação.

Se considerarmos uma perspectiva evolutiva, a germinação é uma das fases mais vulneráveis do ciclo de vida vegetal, logo, esse momento deve estar sob forte seleção natural (DONOHUE, 2005). Apesar de sua importância, o momento da germinação deve ser plástico, permitindo adaptação às variações climáticas. Philippi e Seger (1989) ressaltam que variação entre a germinação das sementes pode ser uma estratégia de nível individual e não populacional; que o comportamento médio da espécie não é o foco da seleção natural, mas sim a dinâmica de cada semente como um indivíduo. Dessa forma, cada semente seria uma estratégia de minimização de riscos (*bet hedging*) adaptada para condições ambientais diversas, permitindo uma maior chance de sucesso reprodutivo para a espécie.

Em circunstâncias ambientais homogêneas ou controladas, com pouca ou nenhuma variação de temperatura e umidade entre os períodos reprodutivos, plantas que evoluíram gerando progênes que germinam de forma sincrônica apresentam maior *fitness*. Entretanto, em um contexto de mudança climática, uma única geração com germinação em período inapropriado levaria a extinção da linhagem. Logo, a variação observada na germinação permite que os indivíduos minimizem a possibilidade de falha reprodutiva na espécie, mesmo com o *fitness* reduzido (SIMONS; JOHNSTON, 2007).

### Germinação de sementes de *A. sellowiana* sob déficit hídrico

A partir dos resultados da dinâmica de germinação foi selecionada a variedade Helena, que apresentou maior porcentagem de germinação, maior IVG e menor TMG (Tabela 3) e a população natural para avaliação de germinação sob déficit hídrico em soluções de PEG 6000. A variedade Helena manteve 100% de germinação até -0,3 MPa (Tabela 4), enquanto a população natural reduziu aproximadamente 27% da sua capacidade de germinação em -0,1 MPa. Com germinação abaixo de 25% já a partir de -0,3 MPa, a população natural não germinou nos potenciais de -0,8 e -1,2 MPa. Entretanto, 'Helena' manteve sua germinação acima de 90% até -0,8 MPa, com grande queda no tratamento -1,2 MPa, quando chegou a 26,7%.

**Tabela 4.** Porcentagem de germinação, IVG, TMG e início da germinação de sementes *A. sellowiana* da população natural e variedade Helena em diferentes soluções osmóticas de PEG

Tratamento	Germinação (%)		IVG		TMG (dias)		Início da Germinação (dias)	
	Pop. Natural	Helena	Pop. Natural	Helena	Pop. Natural	Helena	Pop. Natural	Helena
H <sub>2</sub> O	76,7 ± 5,8 a	100 a	0,3 ± 0,1 a	1 ± 0,5 a	29,8 ± 5,4 a	7,1 ± 2,3 a	14 ± 3,5 a	5 a
-0,1 MPa	56,7 ± 15,3 ab	100 a	0,2 ± 0,06 ab	0,8 ± 0,51 a	34,6 ± 4,8 ab	7 ± 3,9 a	17 ± 0,6 a	8 ± 1 a
-0,2 MPa	40 ± 26,5 ab	100 a	0,1 ± 0,08 b	0,7 ± 0,44 a	41,5 ± 7,5 ab	7,8 ± 5 a	31 ± 17,3 ab	8 ± 1,5 a
-0,3 MPa	20 ± 17,3 b	100 a	0,04 ± 0,04 b	0,6 ± 0,29 ab	48,2 ± 3,1 b	12,3 ± 4,1 a	41 ± 3 b	9 ± 0,6 ab
-0,4 MPa	16,7 ± 5,8 b	96,7 ± 5,8 a	0,03 ± 0,01 b	0,5 ± 0,07 ab	49,3 ± 7,3 b	22,6 ± 2,4 b	47 ± 5,2 b	18 ± 3,8 ab
-0,8 MPa	0	93,3 ± 2,9 a	0	0,6 ± 0,04 ab	-	33 ± 10,8 c	-	27 ± 10 b
-1,2 MPa	0	26,7 ± 30,6 b	0	0,1 ± 0,07 b	-	53 ± 4,2 d	-	46 ± 13,3 c

Sementes germinadas em água (H<sub>2</sub>O) e soluções osmóticas com -0,1, -0,2, -0,3, -0,4, -0,8 e -1,2 MPa de PEG 6000. Início da germinação: dias entre o início da embebição e a protrusão da radícula. Média dos dados ± DP (n=3). Diferentes letras indicam diferença significativa com p < 0,05, de acordo com o Teste de Tukey. Sementes coletadas em 2019. Não ocorreu germinação nos tratamentos -0,8 MPa e -1,2 MPa da Pop. Natural.

Em *Melaleuca quinquenervia*, uma mirtácea australiana, houve grande queda da germinação em -0,4 MPa, com nenhuma semente germinada em -0,8 MPa (MARTINS; PEREIRA; MARCHI, 2011). *Eugenia involucrata*, uma mirtácea nativa, apresentou germinação acima de 70% em -1 MPa; *Eugenia uniflora* teve germinação idêntica ao controle em -0,5 MPa, mantendo até 61% de germinação mesmo em -1,5 MPa; *Eugenia pyriformis* teve germinação próxima a zero em -0,5 MPa (INOCENTE, 2018). Gholami, Rahemi e Kholdebarin (2010) observaram efeitos severos do estresse hídrico em sementes de *Prunus scoparia*, *Prunus eleagnifolia*, *Prunus lycioides* e

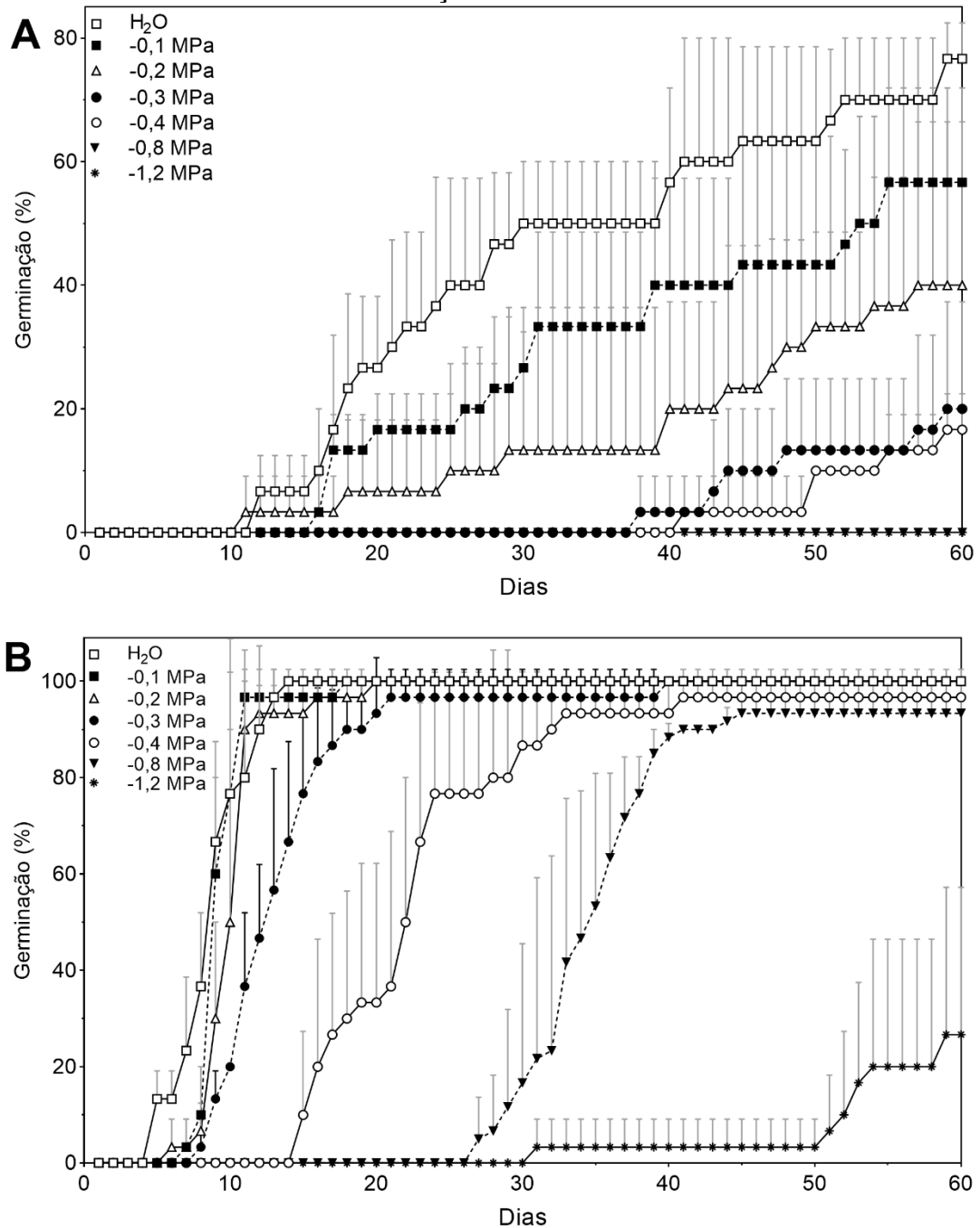
*Prunus dulcis*, concluindo que não só o déficit hídrico causado pelo PEG atrasa a germinação, como afeta as porcentagens finais de germinação e o desenvolvimento das plântulas, mesmo em -0,05 MPa.

No presente trabalho, a germinação das sementes da população natural iniciou no 14º dia em água (**Tabela 4**), 17º dia em -0,1 MPa, seguido do 31º dia para -0,2 MPa, 41º dia para -0,3 MPa e 47º dia para -0,4 MPa. Nenhuma semente da população natural germinou em -0,8 e -1,2 MPa. Comparativamente, para a variedade Helena, a germinação foi precoce, iniciando no 5º dia em água, 8º dia para os tratamentos com -0,1 e -0,2 MPa, 9º dia em -0,3 MPa, 18º dia para -0,4 MPa, 27º dia para -0,8 MPa e 46º dia em -1,2 MPa. A menor uniformidade na dinâmica de germinação observada a partir de -0,4 MPa na variedade Helena (**Figura 4**) é característica de sementes expostas a baixa disponibilidade de água, quando a conclusão da germinação é adiada ou interrompida pelo déficit hídrico (BEWLEY et al., 2013).

O vigor diminuiu com a redução do potencial osmótico em ambas as variedades, como observado nos dados de IVG e TMG da **Tabela 4**, todavia é importante notar que a variedade Helena apresentou maior vigor em todos os potenciais analisados quando comparada à população natural. Enquanto o IVG teve aumento proporcional ao potencial osmótico utilizado, o TMG aumentou inversamente, porém sem diferença estatística entre os tratamentos H<sub>2</sub>O, -0,1, -0,2 e -0,3 MPa para a variedade Helena. O aumento do tempo de germinação observado neste experimento está de acordo com muitos trabalhos que apontam como o déficit hídrico afeta substancialmente os parâmetros associados com a germinação, com o efeito da seca sendo geralmente análogo ao nível de estresse induzido (FOTI; KHAH; PAVLI, 2019).

A absorção de água é uma característica fundamental da germinação, porque a entrada da água na semente permite a ativação do metabolismo, acionando enzimas que, entre outras ações, estimulam a hidrólise das reservas de amido, gerando o açúcar que será a fonte de energia para a protrusão da radícula e o alongamento dos tecidos do embrião (AWATIF; ALAAELDIN, 2017). Considerando a ecologia da espécie, uma germinação mais lenta pode ser tão efetiva quanto a ocorrência de dormência em ambientes desfavoráveis, pois as sementes são, em sua maioria, capazes de tolerar a desidratação se a radícula ainda não foi emitida (BEWLEY et al., 2013).

**Figura 4.** Dinâmica da germinação de sementes *A. sellowiana* da população natural e variedade Helena em diferentes soluções osmóticas de PEG



(A) População natural, (B) 'Helena'. Sementes germinadas em água (H<sub>2</sub>O) e soluções osmóticas com -0,1, -0,2, -0,3, -0,4, -0,8 e -1,2 MPa de PEG 6000. Média dos dados  $\pm$  DP (n=3). Sementes coletadas em 2019. Não ocorreu germinação nos tratamentos -0,8 MPa e -1,2 MPa da população natural.

Produzindo sementes com diferentes potenciais hídricos, a planta assegura que enquanto algumas sementes absorverão a água rapidamente em determinadas condições, outras atrasarão a germinação, adiando a protrusão da radícula enquanto a disponibilidade de água não está em parâmetros adequados para o crescimento da plântula (BAUER; MEYER; ALLEN, 1998; DONOHUE, 2009). Logo, o ambiente é

capaz de afetar a germinação alterando características fisiológicas relacionadas ao potencial hídrico da semente e à sensibilidade ao déficit hídrico (BRADFORD, 2002).

Como a diversidade genética pode prover maior resiliência aos estresses bióticos e abióticos, esperávamos que a população natural, livre de seleção artificial, apresentasse maior capacidade de germinação em déficit hídrico, o que não ocorreu. Stefenon, Gailing e Finkeldey (2008) observaram que plantações de *Araucaria angustifolia*, uma gimnosperma presente no mesmo bioma que a *sellowiana*, apresentavam maior variabilidade genética e riqueza alélica do que as populações naturais da mesma espécie. Eles argumentam que, possivelmente, a seleção artificial tenha sido balanceada pela recombinação entre as plantas selecionadas, permitindo um aumento no número de alelos quando comparada às populações não manejadas. Essa diversidade genética pode ter permitido que as sementes de 'Helena' apresentassem maior vigor do que a população natural quando a germinação ocorreu na presença de déficit hídrico.

A seleção de plantas a partir de uma população heterogênea pode afetar as frequências alélicas das próximas gerações: se essa seleção se repetir no mesmo estoque de sementes ao longo do tempo, a diversidade genética de uma população domesticada pode se manter ou inclusive aumentar, dependendo de fatores como herdabilidade de características, intensidade de seleção e fluxo gênico na forma de pólen e/ou sementes (CLEVELAND; SOLERI; SMITH, 2000). Mecanismos ecológicos continuam agindo durante o processo de domesticação e atuam sobre características que podem não ser alvo direto da seleção humana, como a fisiologia da semente; logo, uma perspectiva ecológica, como o contexto de germinação em condições de estresse, permite avaliar o efeito da domesticação em características direta ou indiretamente modificadas pela seleção artificial (MILLA et al., 2015).

Os frutos de 'Helena' analisados nesse trabalho foram colhidos na Estação Experimental da Epagri de São Joaquim, que conta com uma grande coleção de acessos de *A. sellowiana* (SAIFERT, 2018). A polinização aberta permite maior fluxo gênico entre os diferentes genótipos da coleção, sendo que a disposição das árvores, as condições climáticas, os polinizadores e a distância percorrida pelos mesmos influenciam nos cruzamentos (RAMÍREZ; KALLARACKAL, 2017). Em um banco de germoplasma *in vivo*, indivíduos podem estar próximos de genótipos que nunca teriam contato no seu ambiente natural, permitindo uma ampla troca de alelos. A população natural, por sua vez, apresenta cruzamento restrito às plantas de sua proximidade.

Devido ao intenso desmatamento, à exploração madeireira e à expansão das áreas urbanas, a Floresta Ombrófila Mista se encontra reduzida e fragmentada (MELLO; PERONI, 2015; RIBEIRO et al., 2009). São nesses fragmentos, muitas vezes isolados, que as árvores de *A. sellowiana* se reproduzem, dependendo então da capacidade de polinização e dispersão pelos animais da área, que também tem sua população reduzida pela fragmentação (GALETTI et al., 2013; VIEIRA et al., 2009). Dessa forma, o endocruzamento pode também resultar em uma diminuição do *fitness* relacionado à germinação e ao desenvolvimento de plântulas. As mudanças na composição das comunidades geram um efeito cascata no ecossistema, incluindo alterações no caminho evolutivo das espécies, como nas características de frutos e sementes, e na dinâmica das populações (BOGONI; GRAIPEL; PERONI, 2018).

Zhu e colaboradores (2006) avaliaram a capacidade de germinação de sementes de uma população natural e de uma plantação de *Pinus sylvestris* var. mongolica submetidas ao estresse hídrico através de soluções osmóticas de PEG. Nesse experimento, as sementes coletadas no ambiente natural da espécie obtiveram maior porcentagem de germinação em todos os tratamentos. Os autores postularam que a menor precipitação das florestas de *Pinus* gerou sementes com maior capacidade de aclimatação e/ou resistência ao estresse hídrico, um efeito epigenético da proveniência sobre as sementes.

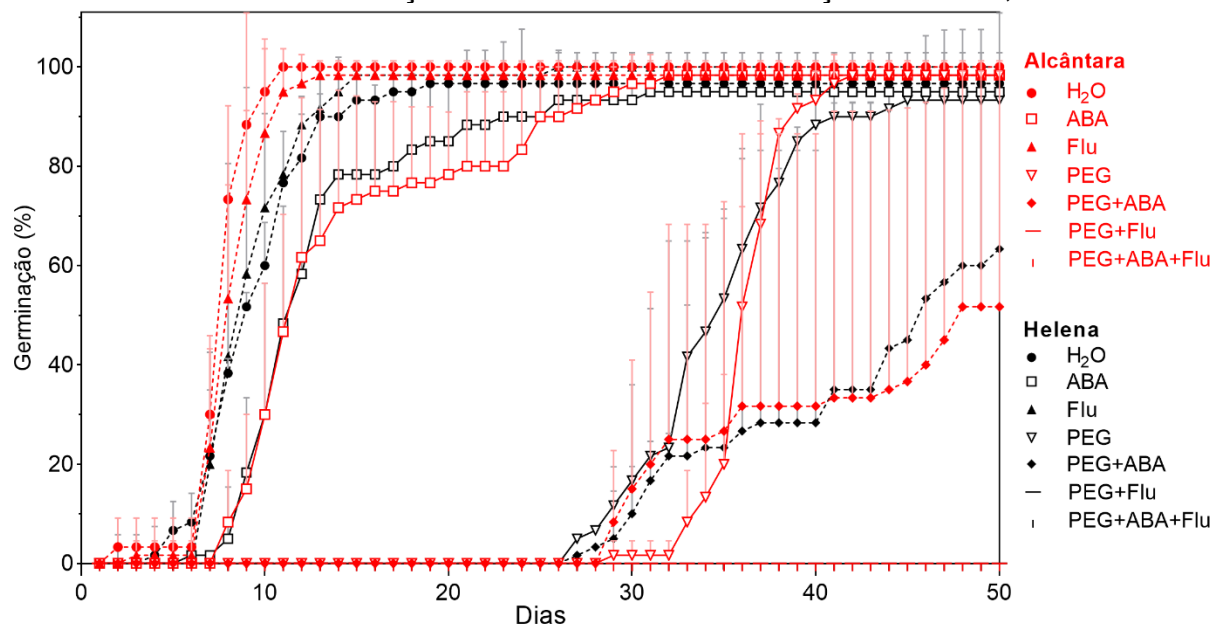
A germinação e o crescimento das plântulas são afetados por fatores genéticos e ambientais, logo, diferentes espécies desenvolveram diferentes mecanismos para se adaptar as condições adversas nesse período. Como resultado, a germinação varia mesmo entre espécies crescendo nas mesmas condições climáticas (WU et al., 2011). Além dos fatores genéticos, é importante ressaltar que os frutos da população natural foram atacados por pragas e doenças de forma mais intensa do que as plantas cultivadas na Epagri, onde existe forte controle fitossanitário. O contexto ambiental influencia na predação de sementes e na sensibilidade das plantas à herbivoria, podendo diminuir a capacidade de germinação e o vigor (EULER; ÅGREN; EHRLÉN, 2014).

## Efeito do ABA e seu inibidor na germinação de sementes de *A. sellowiana* sob déficit hídrico

Como o tratamento de -0,8 MPa apresentou um atraso de três semanas para iniciar a germinação da variedade Helena, este valor foi utilizado como base para o próximo experimento, onde observamos a relação entre o déficit hídrico promovido pelo PEG 6000 e a aplicação de ABA exógeno e seu inibidor, fluridone. A variedade Alcântara apresentou dinâmica de germinação semelhante a 'Helena' (**Figura 3**) e suas sementes foram utilizadas para complementar a avaliação da relação PEG x ABA x Flu.

Quando submetidas ao tratamento com ABA e seu inibidor associados ao déficit hídrico, as variedades Alcântara e Helena apresentaram dinâmica de germinação semelhante em todos os tratamentos avaliados (**Figura 5**), não havendo diferença estatística entre as variedades para a porcentagem de germinação, IVG e TMG, com exceção do TMG em água (**Tabela 5**). A aplicação de fluridone na germinação apresentou efeitos semelhantes ao controle com água, não sendo possível diferenciar estatisticamente os dois tratamentos.

**Figura 5.** Dinâmica da germinação de sementes *A. sellowiana* das variedades Alcântara e Helena em soluções com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG



(Vermelho) 'Alcântara', (Preto) 'Helena'. Sementes germinadas em água (H<sub>2</sub>O), ácido abscísico a 200  $\mu$ M (ABA), fluridone a 200  $\mu$ M (Flu), PEG 6000 (-0,8 MPa), PEG+ABA, PEG+Flu e PEG+ABA+Flu. Média dos dados  $\pm$  DP (n=3). Sementes coletadas em 2018 e 2019. Não ocorreu germinação nos tratamentos PEG+Flu e PEG+ABA+Flu das variedades Alcântara e Helena.



A aplicação de ABA retardou a germinação em aproximadamente uma semana, diminuindo o IVG e aumentando o TMG, porém sem alterar a porcentagem de germinação final. O ABA apresenta diversas funções nos processos fisiológicos realizados durante o ciclo de vida da planta, sendo particularmente importante na mediação de respostas adaptativas aos estresses bióticos e abióticos, como déficit hídrico, salinidade, exposição ao frio e ao calor, além do ataque de pragas e patógenos (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2006; OKAMOTO et al., 2009). Ademais de sinalizar estresses, o ABA é um hormônio diretamente associado ao desenvolvimento vegetal (OKAMOTO et al., 2006). Nas sementes, age inibindo a ação de hidrolases que atuam sobre a parede celular (QUEIROZ, 2012), dificultando dessa forma a protusão da radícula e diminuindo a mobilização de reservas durante a embebição da semente (BICALHO, 2015).

**Tabela 5.** Porcentagem de germinação, IVG e TMG de sementes *A. sellowiana* das variedades Alcântara e Helena em soluções com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG

Tratamento	Germinação (%)		IVG		TMG (dias)	
	Helena	Alcântara	Helena	Alcântara	Helena	Alcântara
H <sub>2</sub> O	96,7 ± 2,9 a	100 a	2,2 ± 0,15 a	2,74 ± 0,46 a	9,7 ± 1 Aa	8 ± 0,5 Ba
ABA	95 ± 5 ab	98,3 ± 2,9 a	1,63 ± 0,07 b	1,59 ± 0,33 b	12,9 ± 0,3 a	11,7 ± 5,8 a
Flu	100 a	98,3 ± 2,9 a	2,19 ± 0,2 a	2,4 ± 0,45 ab	9,7 ± 1,1 a	8,6 ± 1,3 a
PEG	93,3 ± 2,9 ab	98,3 ± 2,9 a	0,55 ± 0,04 c	0,54 ± 0,01 c	34,5 ± 3,2 b	36,5 ± 1 b
PEG+ABA	78,3 ± 15,3 b	51,7 ± 47,5 a	0,34 ± 0,18 c	0,3 ± 0,31 c	40,8 ± 6,3 b	42,2 ± 8,9 b
PEG+Flu	0	0	0	0	-	-
PEG+ABA+Flu	0	0	0	0	-	-

Sementes germinadas em água (H<sub>2</sub>O), ácido abscísico a 200 µM (ABA), fluridone a 200 µM (Flu), PEG 6000 (-0,8 MPa), PEG+ABA, PEG+Flu e PEG+ABA+Flu. Média dos dados ± DP (n=3). Diferentes letras indicam diferença significativa com p < 0,05, de acordo com o Teste de Tukey; letras minúsculas indicam comparação entre linhas e letras maiúsculas entre colunas. Sementes coletadas em 2018 e 2019. Não ocorreu germinação nos tratamentos PEG+Flu e PEG+ABA+Flu das variedades Alcântara e Helena.

A embebição em -0,8 MPa de PEG retardou a germinação em uma média de 25 dias, reduzindo o IVG até 20% do valor obtido na germinação em água, e aumentando amplamente o TMG. Em um estudo sobre o estresse salino na germinação de *Suaeda salsa*, Li e colaboradores (2015) observaram uma maior biossíntese de ABA em sementes germinadas em solução salina. Zhang e colaboradores (2010) também fizeram a mesma observação em estresse salino, e propuseram que o conteúdo elevado de ABA seria consequência da síntese *de novo* ou do atraso no catabolismo desse hormônio.

Quando o PEG foi acompanhado da aplicação de ABA, o IVG e o TMG se mantiveram estatisticamente equivalentes aos valores obtidos com PEG, porém houve queda da uniformidade e menor capacidade de germinação, chegando próxima a 50% para a variedade Alcântara. A diminuição da porcentagem e o atraso da germinação sob condições de déficit hídrico pode estar relacionada a uma “dormência osmótica”, onde o aumento do conteúdo de ABA e a diminuição das GA inibem a germinação (SHARMA, 2004).

Em geral, estresses osmóticos desencadeiam uma série de respostas fisiológicas em vias dependentes e independentes do ABA, levando a hipótese de um possível *cross-talk* entre essas vias sinalizadoras (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2005; COSTA et al., 2015). Esse comportamento pode ser visto como uma estratégia evolutiva que leva a alterações da fisiologia das sementes, prevenindo assim a germinação em ambientes de estresse abiótico e garantindo o estabelecimento das plântulas apenas em condições apropriadas ao sucesso reprodutivo (GILL, 2003). Nesse trabalho, a embebição em -0,8 MPa de PEG somada ao ABA exógeno pode ter estimulado ainda mais a “dormência osmótica”, dificultando ou impedindo parcialmente a germinação.

A embebição de sementes em soluções osmóticas de PEG pode induzir alterações nas membranas plasmáticas, inibindo o crescimento da radícula e regulando negativamente genes relacionados ao metabolismo energético e às modificações da parede celular necessárias a germinação (BUITINK et al., 2003). As condições de déficit hídrico também regulam positivamente genes associados à atividade antioxidante e estresse, induzindo a síntese de moléculas protetivas, como açúcares não-redutores e certas proteínas, como proteínas LEA e de choque térmico (BUITINK et al., 2006; MAIA et al., 2011).

Considerando que o processo de germinação está diretamente relacionado a razão ABA/GA (DÍAZ-VIVANCOS; BARBA-ESPÍN; HERNÁNDEZ, 2013), o atraso na germinação observado em déficit hídrico pode estar também relacionado a uma redução no acúmulo de GA (ZHANG, 2010). O balanço entre esses dois hormônios apresenta sinalizações de rápida amplificação, permitindo que a semente possa responder prontamente aos desafios impostos pelo ambiente, iniciando ou suspendendo a germinação dependendo das condições encontradas (BEWLEY et al., 2013). Além de estimularem a germinação induzindo a síntese de enzimas que fragilizam a parede celular, permitindo a protrusão da radícula, as giberelinas também

atuam degradando moléculas repressoras da germinação, como os fatores de transcrição DELLA (PISKUREWICZ; LOPEZ-MOLINA, 2009).

Os tratamentos de PEG+Flu e PEG+ABA+Flu não apresentaram germinação. Esse resultado contradiz parcialmente os dados de Li e colaboradores (2015), onde foi observado que a aplicação de 10  $\mu$ M de fluridone inibia os efeitos do estresse salino em sementes de *S. salsa*, permitindo a germinação. Porém, neste mesmo trabalho, quando o estresse salino foi aplicado em conjunto com fluridone e ABA exógeno, a germinação caiu bruscamente, chegando a zero com a utilização de 100  $\mu$ M de ABA. Ao contrário de Li (2015), Zhang e colaboradores (2010) afirmam que a aplicação de fluridone não influenciou na germinação de *Brassica napus* em estresse salino.

O fluridone atua bloqueando a fitoeno desaturase, o que catalisa a desnaturação do fitoeno em fitoflueno na via de biossíntese de carotenoides; a inibição do fitoflueno pelo fluridone leva diretamente a uma diminuição nas xantofilas, o substrato da enzima NCED; a NCED cliva as xantofilas em xantoxinas, que são precursoras do ABA. Logo, a ação do fluridone na via dos carotenoides leva a inibição da biossíntese de ABA (WORARAD, 2017).

Mutantes com deficiência na síntese de carotenoides frequentemente exibem sensibilidade ao déficit hídrico (NAMBARA; MARION-POLL, 2005), demonstrando que a inibição do ABA em condições de estresse pode ser o suficiente para impedir a germinação. Seguindo nessa mesma linha, Du e colaboradores (2013) sugerem que o balanço entre carotenoides, ABA e também auxinas é crítico para o desenvolvimento de plântulas de *Oryza sativa* em diferentes condições de estresse. Neste sentido, os dados do presente trabalho indicam que a aplicação de 200  $\mu$ M de ABA prejudica a germinação sob déficit hídrico em sementes de *A. sellowiana*.

### **Metabolismo da germinação de sementes de *A. sellowiana* sob déficit hídrico**

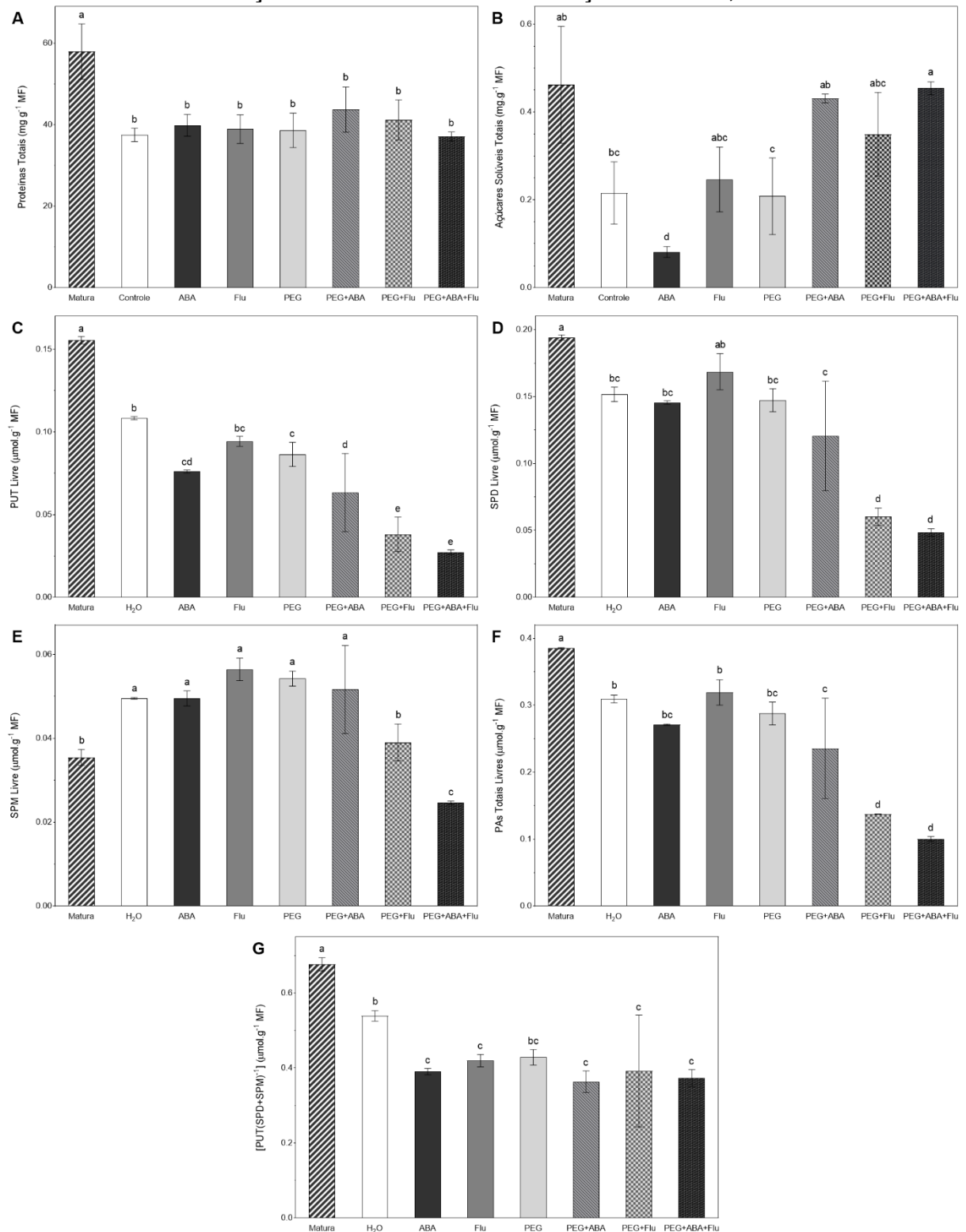
As plantas utilizam diversas estratégias para responder aos estresses abióticos e esses mecanismos adaptativos envolvem mudanças em processos bioquímicos que refletem o comportamento fisiológico do organismo. Entre esses mecanismos, o acúmulo de solutos como açúcares e aminoácidos, e a produção de proteínas específicas pode ser associado ao estresse osmótico (YANCEY, 1982; NASER, 2010).

Neste trabalho, foi observada uma diminuição no conteúdo de proteínas totais após o início da embebição (**Figura 6, A**), não havendo, entretanto, diferença entre os tratamentos. O início da mobilização de proteínas indica que os mecanismos que inibem a degradação de reservas durante a maturação da semente foram superados e que as proteinases armazenadas, antes inativas, passam a atuar sobre seu substrato, liberando aminoácidos essenciais para o processo de germinação (MÜNTZ et al., 2001).

Resultado semelhante foi obtido por Rodrigues e colaboradores (2019): analisando a germinação de sementes de *Aspidosperma polyneuron* em diferentes potenciais osmóticos, os autores observaram que em -0,8 MPa o conteúdo das proteínas glutelina e albumina era degradado durante o processo de germinação, enquanto que a concentração de globulina e prolamina apresentou pouca variação entre a semente madura e a terceira fase da germinação. Durante a germinação de sementes de *Coffea arabica*, Shimizu e Mazzafera (2000) não observaram alteração do conteúdo total de proteínas. A mobilização de proteínas durante a germinação das sementes é documentada em diversas espécies vegetais, ocorrendo variações quando as plantas são expostas a diferentes tipos de estresse (KHAN, 2012). Entretanto, essas alterações geralmente são observadas apenas na análise de proteínas e peptídeos específicos (SHIMIZU; MAZZAFERA, 2000).

Os açúcares solúveis totais diminuíram após a germinação em água (**Figura 6, B**), ocorrendo o mesmo comportamento nos tratamentos com fluridone e PEG. O menor conteúdo de açúcares foi observado no tratamento com ABA. Khan e colaboradores (2012) encontraram resultados contrastantes aos desse trabalho, constatando um acúmulo de açúcares solúveis em sementes de *Triticum aestivum* sob déficit hídrico e concluindo que esse resultado se devia a alta presença de ABA nessas condições. Os açúcares estão envolvidos não apenas na síntese de outros compostos e produção de energia, mas também na expressão gênica e sinalização (NASER, 2010). Os tratamentos PEG+Flu e PEG+ABA+Flu apresentaram conteúdo de açúcares semelhante ao da semente madura; visto que estes tratamentos não germinaram, as reservas não foram metabolizadas e se mantiveram estáveis até a coleta das sementes ao final do experimento.

**Figura 6.** Conteúdo de proteínas, açúcares solúveis totais e poliaminas de sementes *A. sellowiana* em soluções com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG



(A) Proteínas totais ( $\text{mg.g}^{-1}$  FW), (B) Açúcares solúveis totais ( $\text{mg.g}^{-1}$  FW), (C) Putrescina livre ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  FW), (D) Espermidina livre ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  FW), (E) Espermina livre ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  FW), (F) Poliaminas totais livres ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  FW), (G) Razão de poliaminas [ $\text{PUT}(\text{SPD}+\text{SPM})^{-1}$ ] ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  FW). Sementes germinadas em água (H<sub>2</sub>O), ácido abscísico a 200  $\mu\text{M}$  (ABA), fluridone a 200  $\mu\text{M}$  (Flu), PEG 6000 (-0,8 MPa), PEG+ABA, PEG+Flu e PEG+ABA+Flu. Média dos dados  $\pm$  DP (n=3). Sementes coletadas em 2018 e 2019. Não ocorreu germinação nos tratamentos PEG+Flu e PEG+ABA+Flu das variedades Alcântara e Helena.

É importante ressaltar que, enquanto o PEG apresentou conteúdo de açúcares semelhante ao controle e o ABA teve a menor concentração entre todos os tratamentos, PEG+ABA apresentou alto conteúdo de açúcares solúveis, com valor diretamente comparável ao da semente matura, mesmo após a germinação. Esse fato demonstra um possível efeito sinérgico entre o déficit hídrico e o ABA exógeno, no que se refere ao acúmulo de açúcares solúveis durante a germinação. Açúcares são potentes reguladores de diversos processos relacionados ao estresse em plantas: sinais induzidos por açúcares podem controlar a expressão de genes e alterar a estabilidade de proteínas; essa sinalização está intimamente relacionada com hormônios vegetais, particularmente com o ABA (BRADFORD; NONOGAKI, 2007), e essa relação entre ABA, estresse e açúcares pode ser observada no tratamento PEG+ABA, presente na **Figura 6, B**.

Os açúcares apresentam múltiplas funções protetivas nas células, podendo agir como solutos osmoprotetores que estabilizam as membranas plasmáticas e mantêm a pressão de turgor (KHAN, 2012), além de interagir com outras macromoléculas, podendo levar a formação de um estado vítreo da semente, altamente viscoso e estável (BUITINK et al., 2003). Açúcares não-redutores, juntamente com proteínas de estresse, como proteínas de choque térmico e LEA, estão envolvidos na estabilização de estruturas macromoleculares, permitindo que as células vegetais retenham a integridade e funcionalidade das membranas durante os processos de dessecação e reidratação da semente (BUITINK; HOEKSTRA; LEPRINCE, 2002).

Além das modificações na metabolização de proteínas e açúcares, o balanço entre ABA e GA também interfere na regulação de outras moléculas que atuam no ciclo de vida vegetal, entre elas as poliaminas, mensageiros secundários envolvidos no processo de germinação das sementes e na sinalização do estresse (DIAS et al., 2009). Durante a embriogênese e, posteriormente, durante a germinação, são observadas flutuações nas concentrações de putrescina, espermidina e espermina no eixo embrionário das sementes, mas o conteúdo endógeno de poliaminas e a sensibilidade da planta a essas moléculas varia de espécie para espécie (KRASUSKA et al, 2014).

Na **Figura 6** é possível observar o conteúdo endógeno de putrescina, espermidina e espermina para sementes de *A. sellowiana* tratadas com diferentes combinações de ABA, Flu e PEG. O conteúdo de putrescina da semente matura foi o mais alto entre todos os tratamentos (**Figura 6, C**), decaindo após a germinação

independente do tratamento aplicado. Em Costa (2018) e Zandoná (2019), sementes de *Polygala sellowiana* e *Calibrachoa sellowiana*, respectivamente, foram tratadas com GA visando a quebra da dormência; para essas duas espécies o conteúdo de putrescina aumentou após a germinação das sementes.

Lando e colaboradores (2019) avaliaram sementes de *Trichocline catharinensis* tratadas com ABA e fluridone: as sementes germinadas em fluridone apresentaram as maiores concentrações de putrescina e espermidina, sendo que o oposto ocorreu no tratamento com ABA. O acúmulo de putrescina está relacionado com o aumento da tolerância ao déficit hídrico em plantas de *A. thaliana* (ALCÁZAR et al., 2010b). Gu e colaboradores (2019) observaram os efeitos da aplicação de espermidina e putrescina exógenas sobre a promoção do acúmulo de GA em sementes de *T. aestivum* expostas ao frio: nesse experimento tanto a espermidina quanto a putrescina estimularam o aumento do conteúdo de ABA, porém a putrescina apresentou efeito mais intenso. Em condições de estresse salino, o conteúdo de putrescina endógeno é espécie-dependente: em *O. sativa*, *T. aestivum* e *Vitis vinifera* a concentração aumenta, enquanto que para *Malus sylvestris* e *Phaseolus vulgaris* a concentração diminui (GARG; SHARMA, 2019). Neste trabalho não foi observada diferença no conteúdo de putrescina das sementes germinadas de *A. sellowiana*, independente da presença de estresse.

Para a espermidina (**Figura 6, D**), não foi possível observar diferença estatística entre a semente madura e todos os tratamentos onde ocorreu germinação. Os dados se aproximam dos obtidos por Zandoná (2019), que também observou alto conteúdo de espermidina em sementes maduras de *C. sellowiana*, assim como nas sementes germinadas tratadas com GA. Já Costa (2018), observou uma diminuição acentuada no conteúdo de espermidina após a germinação de sementes de *P. sellowiana*. Em culturas embriogênicas de *A. angustifolia*, a aplicação de espermidina exógena resultou em aumento da concentração de ABA e do conteúdo de putrescina e espermidina endógenas, demonstrando uma relação direta entre os níveis de poliaminas e o ABA (STEINER et al., 2007).

Buscando compreender o efeito da espermidina em condições de déficit hídrico, a aplicação exógena foi realizada por diversos autores. O aumento do conteúdo de espermidina através dessa técnica permitiu a inibição dos efeitos deletérios do déficit hídrico em plântulas de *Cucumis sativus* (LI et al., 2013) e *Valeriana officinalis* (MUSTAFABI et al., 2015). Este processo ocorreu através do

aumento da atividade de enzimas antioxidantes e estímulo do acúmulo de prolina, que, como observado por Silva e colaboradores (2015), é um aminoácido fundamental que age na manutenção da integridade da membrana plasmática e diminui a degradação da clorofila presente nas plântulas.

Utilizando a mesma técnica, aplicando espermidina na irrigação de plântulas de *Trifolium repens* expostas ao déficit hídrico induzido por PEG 6000, Li e colaboradores (2014) observaram maior estabilidade nas membranas plasmáticas das células foliares, além de maior atividade de enzimas antioxidantes. Em suma, concluíram que a aplicação de espermidina exógena apresenta ação osmoprotetora sobre as células vegetais, favorecendo o acúmulo de solutos e a eliminação de espécies reativas de oxigênio em plântulas submetidas ao estresse osmótico durante o desenvolvimento.

Quando observamos as baixas quantidades de putrescina e espermidina nos tratamentos contendo déficit hídrico e fluridone (PEG+Flu e PEG+ABA+Flu), onde não ocorreu germinação, podemos concluir que a presença e a quantidade dessas poliaminas é diretamente relacionada ao processo de germinação. Como a semente matura, não germinada, apresenta alta concentração de poliaminas, também é possível afirmar que a quantidade de putrescina e espermidina de PEG+Flu e PEG+ABA+Flu, bastante reduzida quando comparada aos demais tratamentos, está associada a ação do fluridone durante a exposição das sementes ao déficit hídrico.

Para *A. sellowiana*, o conteúdo de espermina aumentou em todos os tratamentos onde ocorreu germinação (**Figura 6, E**), quando comparada aos valores da semente matura. Esse mesmo comportamento foi observado por Zandoná (2019) em *C. sellowiana*; e o contrário foi visto por Lando e colaboradores (2019) para *T. catharinensis*, onde o maior conteúdo de espermina foi encontrado na semente matura, decaindo durante as fases da germinação.

Considerando a relação entre espermina e déficit hídrico, Radhakrishnan e Lee (2013) observaram que plantas de *Glycine max* cv. Taekwangkong cultivadas em soluções osmóticas de PEG desenvolveram maior produção de sementes quando tratadas com espermina. As sementes produzidas nessas condições também apresentaram maior concentração de proteínas e polifenóis devido a ação protetora de enzimas antioxidantes. Neste caso, a exposição das plantas ao déficit hídrico induziu um maior acúmulo de ABA, porém esse valor foi reduzido quando as mesmas foram tratadas com espermina exógena (RADHAKRISHNAN; LEE, 2013).



Liu e colaboradores (2016) avaliaram que a aplicação de espermidina e espermina exógenas aumentava significativamente os conteúdos de IAA e GA durante a germinação de sementes de *T. aestivum* expostas ao déficit hídrico, enquanto que a putrescina exógena estimulava o aumento do conteúdo de ABA. O ABA é um hormônio-chave com papéis importantes no estresse abiótico (YAMAGUCHI-SHINOZAKI; SHINOZAKI, 2006) e muitos genes induzidos pela seca são responsivos ao ABA, apesar de vias independentes também serem ativadas em resposta às condições de déficit hídrico (ALCÁZAR et al., 2006).

As poliaminas totais livres (**Figura 6, F**) e a razão entre as poliaminas (**Figura 6, G**) obedeceram ao mesmo padrão observado na putrescina em *A. sellowiana*: queda após a germinação. Os tratamentos de PEG+Flu e PEG+ABA+Flu, onde as sementes não germinaram, apresentaram o menor conteúdo de poliaminas totais livres, novamente evidenciando a importância dessas moléculas não só na presença do déficit hídrico, mas na germinação como um todo. Como as poliaminas agem como inibidores do estresse oxidativo em plantas, neutralizando radicais livres ou se ligando a moléculas antioxidantes (ALCÁZAR et al. 2010a), sua presença e ação são fundamentais para o sucesso da germinação, especialmente em condições de estresse. Mesmo com amplos indícios de uma relação entre a germinação das sementes e as poliaminas, a dinâmica desse processo é claramente espécie-dependente (KRASUSKA; GNIAZDIWSKA, 2012).

## 5. Conclusão

Considerando a emergência de alterações climáticas nas próximas décadas, especialmente a menor frequência de chuvas no período que as sementes de feijoa são dispersas no ambiente, os resultados deste trabalho indicam uma maior adaptabilidade das variedades de *A. sellowiana* 'Helena' e 'Alcântara' ao déficit hídrico durante a germinação, quando comparadas à população natural analisada. Este estudo aponta a importância dessas variedades catarinenses na conservação da espécie e da Floresta Ombrófila Mista.

Com relação às avaliações fisiológicas e bioquímicas realizadas, foi possível concluir que a presença do inibidor da biossíntese de ABA, fluridone, impede completamente a germinação de *A. sellowiana* em -0,8 MPa, demonstrando a importância do ABA no processo de superação das condições de estresse osmótico.

Curiosamente, a presença de ABA exógeno não aumentou o vigor das sementes sob déficit hídrico quando comparado ao PEG sem ABA, inclusive reduziu a uniformidade da germinação. A observação dos valores de poliaminas livres totais de forma comparativa entre os tratamentos com presença e ausência de protrusão da radícula, permitiu concluir que essas moléculas estão envolvidas no processo de germinação, particularmente nas condições de déficit hídrico impostas durante este experimento.

## 6. Perspectivas e Considerações Finais

A quantificação hormonal de ABA e GA poderia auxiliar fortemente na compreensão da germinação das sementes tratadas com as combinações de PEG, ABA e fluridone, esclarecendo o papel do balanço ABA/GA nesse caso. Quando consideramos os tratamentos que não germinaram, o conteúdo hormonal poderia explicar diretamente este resultado. Novos testes de germinação com soluções osmóticas e diferentes concentrações de ABA exógeno poderiam concluir se a aplicação desse hormônio interfere negativamente na germinação de *A. sellowiana* ou se apenas um ajuste de concentração é necessário para que o efeito da aplicação de ABA seja positiva em déficit hídrico.

Os resultados deste trabalho evidenciam a importância de novas investigações sobre a variabilidade genética de populações vegetais e sua relação com a fisiologia de sementes e os desafios a serem superados nas condições de mudanças climáticas. Os dados aqui mencionados exemplificam a importância dos bancos de germoplasma e dos estudos fisiológicos da germinação para a manutenção da biodiversidade de *A. sellowiana*.

## Referências

ALCÁZAR, R. et al. Abscisic acid modulates polyamine metabolism under water stress in *Arabidopsis thaliana*. **Physiologia Plantarum**, v. 128, p. 448–455, 2006.

ALCÁZAR, R. et al. Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. **Planta**, v. 231, p. 1237-1249, 2010a.

ALCÁZAR, R. et al. Putrescine accumulation confers drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* plants over-expressing the homologous Arginine decarboxylase 2 gene. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, p. 547-552, 2010b.

AWATIF, A.; ALAAELDIN, E. Metabolic processes during seed germination. In: JIMENEZ-LOPEZ, J. (Ed.). **Advances in Seed Biology**, 2017.

BARTELS, D.; SUNKAR, R. Drought and Salt Tolerance in Plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 24, n. 1, p. 23-58, 2005.

BAUER, M. C.; MEYER, S. E.; ALLEN, P, S. A simulation model to predict seed dormancy loss in the field for *Bromus tectorum* L. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, n. 324, p. 1235–1244, 1998.

BEWLEY D. et al. **Seeds – Physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 392p, 2013.

BICALHO, E. M. et al. Control of macaw palm seed germination by the gibberellin/abscisic acid balance. **Plant Biology**, v. 17, n. 5, p. 990-996, 2015.

BOGONI, J. A.; GRAIPEL, M. E.; PERONI, N. The ecological footprint of *Acca sellowiana* domestication maintains the residual vertebrate diversity in threatened highlands of Atlantic Forest. **PLoS ONE**, v. 13, n. 4, e0195199, 2018.

BRADFORD, K. J. Applications of hydrothermal time to quantifying and modeling seed germination and dormancy. **Weed Science**, v. 50, p. 248–260, 2002.

BRADFORD, K. J. In: KIGEL, J.; GALILI, H. (Eds.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, p. 351–396, 1995.

BRADFORD, K.; NONOGAKI, H. **Seed Development, Dormancy and Germination**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 367p., 2007.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BUITINK, J. et al. The re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Medicago truncatula* Gaertn. seeds. **Seed Science Research**, v. 13, p. 273–286, 2003.

BUITINK, J. et al. Transcriptome profiling uncovers metabolic and regulatory processes occurring during the transition from desiccation-sensitive to desiccation-tolerant stages in *Medicago truncatula* seeds. **Plant Journal**, v. 47, p. 735–750, 2006.

BUITINK, J.; HOEKSTRA, F. A.; LEPRINCE, O. Biochemistry and biophysics of tolerance systems. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Eds.). **Desiccation and survival in plants**. Wallingford: CABI Publishing, p. 293–318, 2002.

CAMARGO, C. G. C.; BRAGA, H.; ALVES, R. Mudanças climáticas atuais e seus impactos no Estado de Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, v. 19, n. 3, 2006.

CHESSON P. et al. Resource pulses, species interactions, and diversity maintenance in arid and semi-arid environments. **Oecologia**, v. 141, p. 236–253, 2004.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; BYNG J. W. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p. 201-217, 2016.

CLEVELAND, D. A.; SOLERI, D.; SMITH, S. E. A biological framework for understanding farmers: plant breeding. **Economic Botany**, v. 54, n. 3, p. 377-394, 2000.

COHEN, A. C. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. **Physiologia Plantarum**, v. 153, n. 1, p. 79-90, 2015.

COSTA, C. D. **Caracterização morfofisiológica e do perfil de poliaminas durante a germinação de sementes de *Polygala sellowiana* A. St. - Hil. & Moq., visando sua propagação e conservação.** 2018. 66f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos, Algas e Plantas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

COSTA, M. C. D. et al. A gene co-expression network predicts functional genes controlling the re-establishment of desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis thaliana* seeds. **Planta**, v. 242, n. 2, p. 435-449, 2015.

DALGLEISH, H. J.; KOONS, D. N.; ADLER, P. B. Can life-history traits predict the response of forb populations to changes in climate variability? **Journal of Ecology**, v. 98, p. 209–217, 2010.

DASZKOWSKA-GOLEC, A. *Arabidopsis* Seed Germination Under Abiotic Stress as a Concert of Action of Phytohormones. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, v. 15, n. 11, 2011.

DEGENHARDT, J. **Varição fenotípica de características de plantas e de frutos de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*).** 2001. 71 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

DEWAN, S. et al. Maternal temperature during seed maturation affects seed germination and timing of bud set in seedlings of European black poplar. **Forest Ecology and Management**, v. 410, p. 126-135, 2018.

DIAS, L. L. C. et al. Polyamines, amino acids, IAA and ABA contents during *Ocotea catharinensis* seed germination. **Seed Science & Technology**, v. 37, p. 42-51, 2009.

DÍAZ-VIVANCOS, P.; BARBA-ESPÍN, G.; HERNÁNDEZ, J. A. Elucidating hormonal/ROS networks during seed germination: insights and perspectives. **Plant Cell Reports**, v. 32, p. 1491-1502, 2013.

DONAZZOLO, J. et al. On farm management of *Acca sellowiana* (Myrtaceae) as a strategy for conservation of species genetic diversity. **Scientia Horticulturae**, v. 259, 108826, 2020.

DONOHUE, K. Completing the cycle: maternal effects as the missing link in plant life histories. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1520, p. 1059-1074, 2009.

DONOHUE, K., L. et al. The evolutionary ecology of seed germination of *Arabidopsis thaliana*: variable natural selection on germination timing. **Evolution**, v. 59, p. 758–770, 2005.

DU, H. et al. Carotenoid deficiency impairs ABA and IAA biosynthesis and differentially affects drought and cold tolerance in rice. **Plant Molecular Biology**, v. 83, p. 475-488, 2013.

DUCROQUET, J. P. H. J. et al. As primeiras cultivares brasileiras de goiabeira serrana: SCS 411 Alcântara e SCS 412 Helena. **Agropecuária Catarinense**, v. 20, p. 77-80, 2007.

DUCROQUET, J. P. H. J. et al. Novas cultivares brasileiras de goiabeira serrana: SCS 414- Mattos e SCS 415-Nonante. **Agropecuária Catarinense**, v. 21, p. 79-82, 2008.

DUCROQUET, J. P. H. J.; HICKEL, E. R.; NODARI, R. O. **Goiabeira Serrana (Feijoa sellowiana)**. Série Frutas Nativas 5. Funep, Jaboticabal, 2000.

DUCROQUET, J. P. H. J.; RIBEIRO, P. A goiabeira-serrana: velha conhecida, nova alternativa. **Agropecuária Catarinense**, v. 4, n. 3, p. 27-29, 1991.

EULER, T.; ÅGREN, J.; EHRLÉN, J. Environmental context influences both the intensity of seed predation and plant demographic sensitivity to attack. **Ecology**, v. 95, n. 2, p. 495–504, 2014.

FANTINEL, V. S. et al. Detecção de Fungos em Sementes de *Acca sellowiana* (Berg) Burret. **Floresta e Ambiente**. Rio de Janeiro, v. 24, 2017.

FINATTO, T. **Caracterização morfofisiológica do sistema de incompatibilidade atuante em goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret) (Myrtaceae)**. 2008. 80 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

FOTI, C., KHAH, E. M., PAVLI, O. I. Germination profiling of lentil genotypes subjected to salinity stress. **Plant Biology**, n. 21, p. 480–486, 2019.

GALETTI, M. et al. Functional extinction of birds drives rapid evolutionary changes in seed size. **Science**, v. 304, n. 6136, p. 1086-1090, 2013.

GARG, N.; SHARMA, A. Role of putrescine (Put) in imparting salt tolerance through modulation of put metabolism, mycorrhizal and rhizobial symbioses in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. **Symbiosis**, v. 79, n. 1, 2019.

GHOLAMI, M.; RAHEMI, M.; KHOLDEBARIN, B. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol on seed germination of four wild almond species. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 4, n. 5, p. 785-791, 2010.

GILL, P. K. et al. Changes in germination, growth and soluble sugar contents of *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds under various abiotic stresses. **Plant Growth Regulation**, v. 40, p. 157–162, 2003.

GU, X. et al. Spermidine promotes starch degradation to relieve the inhibitory effect of chilling on wheat seed germination. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 3, a. 32, 2019.

HARRISON, M. T. et al. Characterizing drought stress and trait influence on maize yield under current and future conditions. **Global Change Biology**, v. 20, p. 867–878, 2014.

HICKEL, E. R.; DUCROQUET, J. P. H. J. Polinização entomófila da goiabeira-serrana, *Feijoa sellowiana* (Berg), em Santa Catarina. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 96-101, 2000.

HOHL, M.; PETER, S. Water relations of growing maize coleoptiles: comparison between mannitol and polyethylene glycol 6000 as external osmotica for adjusting turgor pressure. **Plant Physiology**, v. 95, p. 716–722, 1991.

INOCENTE, M. C. **Déficit hídrico em sementes de *Eugenia* spp. (Myrtaceae): resistência e relações com a regenerabilidade de raízes e plântulas**. 2018. 57f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, São Paulo, SP, 2018.

IPCC – Intergovernmental Panel in Climate Change. **Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation**: Special Report of Working Groups I and II of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge/New York: Cambridge University Press/IPCC, 2012.

KHAN, A. A. (Ed). **The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination**. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 547p., 1982.

KHAN, H. A. et al. Exogenous Application of Polyamines Improves Germination and Early Seedling Growth of Hot Pepper. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 3, p. 429-433, 2012.

KHAN, S. U. et al. Abscisic acid and salicylic acid seed treatment as potent inducer of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, p. 43-49, 2012.

KÖCHY, M. Effects of simulated daily precipitation patterns on annual plant populations depend on life stage and climatic region. **BMC Ecology**, v. 8, p. 1–24, 2008.

KRASUSKA, U. et al. Polyamines and nitric oxide link in regulation of dormancy removal and germination of apple (*Malus domestica* Borkh.) Embryos. **Journal of Plant Growth and Regulation**, v. 33, p. 590–601, 2014.

KRASUSKA, U.; GNIAZDIWSKA, A. Nitric oxide and hydrogen cyanide as regulating factors of enzymatic antioxidant system in germinating apple embryos. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, p. 683–692, 2012.

KUCERA, B., COHN, M. A., LEUBNER-METZGER, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, v. 15, p. 281-307, 2005.

LANDO, A. P. et al. The physiological relationship between abscisic acid and gibberellin during seed germination of *Trichocline catharinensis* (Asteraceae) is associated with polyamine and antioxidant enzymes. **Journal of Plant Growth and Regulation**, 2019.

LEGRAND, C.D.; KLEIN, R. M. **Mirtáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1977. 64 p.

LEISHMAN, M. R. et al. Seed and seedling biology in relation to modelling vegetation dynamics under global climate change. **Australian Journal of Botany**, v. 40, p. 599–613, 1992.

LI, B. et al. Proteomics reveal cucumber Spd-responses under normal condition and salt stress. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 67, p. 7-14, 2013.

LI, W. et al. Roles of gibberellins and abscisic acid in regulating germination of *Suaeda salsa* dimorphic seeds under salt stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, 1235, 2015.

LIU, J. et al. Polyamines and their ability to provide environmental stress tolerance to plants. **Plant Biotechnology**, v. 24, p. 117-126, 2007.

LIU, Y. et al. Effect of polyamine on seed germination of wheat under drought stress is related to changes in hormones and carbohydrates. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n.12, p. 2759–2774, 2016.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination – Aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAIA, J. et al. The re-establishment of desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis thaliana* seeds and its associated transcriptome. **PLoS One**, v. 6, e29123, 2011.

MARENGO, J. A. et al. Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. **Climate Dynamics**, v. 35, p. 1073-1097, 2010.

MARENGO, J. A. O futuro clima do Brasil. **Revista USP**, n. 103, p. 25-32, 2014.

MARTINS, C. C.; PEREIRA, M. R. R.; MARCHI, S. R. Germinação de sementes de *Melaleuca quinquenervia* em condições de estresse hídrico e salino. **Planta Daninha**, v. 29, n. 1, p. 1-6, 2011.

MATTOS, J. R. **A goiabeira-serrana**. Porto Alegre: Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais Renováveis, 1986, 84p.

MELLO, A. J. M.; PERONI, N. Cultural landscapes of the Araucaria Forests in the northern plateau of Santa Catarina. **Brazil Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 11, p. 51, 2015.

MEYER, R. S.; DUVAL, A. E.; JENSEN, H. R. Patterns and processes in crop domestication: an historical review and quantitative analysis of 203 global food crops. **New Phytology**, v. 196, p. 29–48, 2012.

MILLA, R. et al. Plant domestication through an ecological lens. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 30, p. 463–469, 2015.

MOLES, A. T. et al. Factors that shape seed mass evolution. **PNAS**, v. 102, n. 30, p. 10540–10544, 2005.

MORIN, X.; THUILLER, W. Comparing niche and process-based models to reduce prediction uncertainty in species range shifts under climate change. **Ecology**, v. 90, p. 1301–1313, 2009.

MÜNTZ, K. et al. Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. **Journal of Experimental Botany**, v. 52, n. 362, p. 1741–1752, 2001.

MUSTAFAVI, S. H. et al. Nutritional and biochemical response of water-stressed valerian plants to foliar application of spermidine. **Biological Forum**, v. 7, n. 1, p. 1811-1815, 2015.

NAMBARA, E.; MARION-POLL, A. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. **Annual Reviews of Plant Biology**, v. 56, p. 165-185, 2005.

NASER, L. et al. Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in Persian walnut (*Juglans regia* L.) during germination. **Fruits**, v. 65, n. 2, p. 97-112, 2010.

OKAMOTO, M. et al. CYP707A1 and CYP707A2, which encode abscisic acid 8'-hydroxylases, are indispensable for proper control of seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 141, p. 97–107, 2006.

OKAMOTO, M. et al. High humidity induces abscisic acid 8'-hydroxylases in stomata and vasculature to regulate local and systemic abscisic acid responses in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 149, p. 825–834, 2009.



PANDOLFO, C. et al. Estimativas dos impactos das mudanças climáticas nos zoneamentos da cultura da banana e da maçã no Estado de Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, v.20, n. 2, p. 36-40, 2007.

PAUL, S.; ROYCHOUDHURY, A. Effect of seed priming with spermine/spermidine on transcriptional regulation of stress-responsive genes in salt-stressed seedlings of an aromatic rice cultivar. **Plant Gene**, v. 11, p. 133-142, 2017.

PEDROSA, H. C.; CLEMENT, C. R.; SCHIETTI, J. The domestication of the amazon tree grape (*Pourouma cecropiifolia*) under an ecological lens. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, art. 203, 2018.

PHILIPPI, T.; SEGER, J. Hedging one's evolutionary bets, revisited. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 4, p. 41–44, 1989.

PISKUREWICZ, U. et al. The gibberellic acid signaling repressor RGL2 inhibits *Arabidopsis* seed germination by stimulating abscisic acid synthesis and ABI5 activity. **Plant Cell**, v. 20, p. 2729–2745, 2008.

PISKUREWICZ, U.; LOPEZ-MOLINA, L. The GA-signaling repressor RGL3 represses testa rupture in response to changes in GA and ABA levels. **Plant Signal Behaviour**, v. 4, p. 63–65, 2009.

QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia Plantarum**, 144, 263-276, 2012.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2019.

RADHAKRISHNAN, R.; LEE, I. J. Ameliorative effects of spermine against osmotic stress through antioxidants and abscisic acid changes in soybean pods and seeds. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 263–269, 2013.

RAMÍREZ, F.; KALLARACKAL, J. Feijoa [*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret] pollination: a review. **Scientia Horticulturae**, v. 226, p. 333–341, 2017.

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.

RIBEIRO, M. C. et al. The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

RODRIGUES, G. A. G. et al. Drought stress effects on germination and reserve degradation of *Aspidosperma polyneuron* seeds. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.14, n.4, e5903, 2019.

SAIFERT, L. **Caracterização fenotípica e genética de acessos do banco ativo de germoplasma (BAG) de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret da Epagri de São**

**Joaquim**. 2018. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

SANTOS, K. L. et al. *Acca sellowiana*: Goiabeira serrana. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Ed.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. p. 111-129.

SANTOS, K. L. et al. Domesticação da goiabeira serrana (*Acca sellowiana*) no sul do Brasil. **Agrociencia**, v. 9, n. 1-2, p. 29 – 33, 2005.

SARMENTO, M. B. et al. Biometrics of fruits and seeds and post-seminal growth of *Acca sellowiana* (O. Berg. Burret) Myrtaceae. Santa Cruz do Sul: **Caderno de Pesquisa**, v. 30, n. 1, p. 01-08, 2018.

SARMENTO, M. B. et al. Tetrazolium test to evaluate physiological quality of Brazilian Guava seeds (*Acca sellowiana* O. Berg Burret). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, 2013.

SCHOTSMANS, W. C. et al. *Acca sellowiana* [Berg] burret. In: YAHIA, E. M. (Ed.). **Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits**: Cocona to Mango, v. 3, Schroeder: Woodhead Publishing Limited, p. 115–135, 2011.

SHARMA, A. D. et al. Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphatase activities in *Sorghum bicolor* (L.) Moench seeds. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 6, p. 308-312, 2004.

SHIMIZU, M. M.; MAZZAFERA, P. Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 3, 2000.

SILVA, A. T.; MAZINE, F. F. **A família Myrtaceae na Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, São Paulo, Brasil**. Rodriguésia, Rio de Janeiro, v. 67, n. 1, p. 203-223, 2016.

SILVA, J. et al. Temperature stress in accumulation of free proline of pigeonpea seedlings from seeds treated with polyamines. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 36, n. 1, p. 103-122, 2015.

SILVEIRA, V. et al. Effect of plant growth regulators on the cellular growth and levels of intracellular protein, starch and polyamines in embryogenic suspension cultures of *Pinus taeda*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 76, p. 53–60, 2004.

SIMONS, A. M.; JOHNSTON, M. O. Environmental and genetic sources of diversification in the timing of seed germination: implications for the evolution of bet hedging. **Evolution**, v. 60, n. 11, p. 2280–2292, 2006.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry**: the principles and practice of statistics in biological research. 4. Ed. New York: W.H. Freeman and Company. 937p. 2012.

STEFENON, V. M., GAILING, O., FINKELDEY, R. Genetic structure of plantations and the conservation of genetic resources of Brazilian pine (*Araucaria angustifolia*). **Forest Ecology and Management**, v. 255, p. 2718-2725, 2008.

STEINER, N. et al. Polyamine effects on growth and endogenous hormones levels in *Araucaria angustifolia* embryogenic cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 89, p. 55-62, 2007.

STEWART, A. M. **Reproductive biology and pollination ecology of *Feijoa sellowiana***. 1987. 115 f. Thesis (Ph.D. thesis) - University of Auckland, Auckland, Australia.

TENG, K. et al. Exogenous ABA induces drought tolerance in upland rice: the role of chloroplast and ABA biosynthesis-related gene expression on photosystem II during PEG stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 8, p. 2219-2227, 2014.

TONETTO, T. S. **Produção de sementes, de mudas em viveiro e cultivo a campo de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret: uma abordagem técnica e econômica**. 2018. 231f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

UMBREIT, W. W.; BURRIS, R. H.; STAUFFER, J. F. **Manometric techniques**. Minneapolis: Burgess, 1964.

VIEIRA, M. V. et al. Land use vs. fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1191-1200, 2009.

VUOTTO, M. L. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of *Feijoa sellowiana* fruit. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdam, v.13, p.197–201, 2000.

WALCK, J. L. et al. Climate change and plant regeneration from seed. **Global Change Biology**, v. 17, p. 2145–2161, 2011.

WORARAD, K. et al. Effects of fluridone treatment on seed germination and dormancy associated to gene expression in an ornamental peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). **The Horticulture Journal**, v. 86, n. 3), p. 317–326, 2017.

WU, C. et al. Effects of drought and salt stress on seed germination of three leguminous species. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 78, p. 17954-17961, 2011.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Organization of cis-acting regulatory elements in osmotic and cold-stress responsive promoters. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 2, p. 88-94, 2005.

YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; SHINOZAKI, K. Transcriptional regulatory networks in cellular responses and tolerance to dehydration and cold stresses. **Annual Reviews of Plant Biology**, v. 57, p. 781–803, 2006.

YANCEY, P. H. et al. Living with water stress: evolution of osmolyte system. **Science**, v. 217, p. 1214–1222, 1982.

ZANDONÁ, L. O. **Caracterização estrutural, fisiológica e bioquímica de sementes de *Calibrachoa sellowiana* (Sendtn.) Wijsman**. 2019. 132f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos, Algas e Plantas) – Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

ZANG, X.; KOMATSU, S. A proteomic approach for identifying osmotic-stress-related proteins in rice. **Phytochemistry**, v. 68, p. 426-437, 2007.

ZHANG, W. et al. Profile of plant hormones and their metabolites in germinated and ungerminated canola (*Brassica napus*) seeds imbibed at 8°C in either GA4+7, ABA, or a saline solution. **Journal of Plant Growth and Regulation**, v. 29, p. 91–105, 2010.

ZHU, J. et al. Effects of drought stresses induced by polyethylene glycol on germination of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seeds from natural and plantation forests on sandy land. **Journal of Forest Research**, v. 11, p. 319–328, 2006.

ZHU, J. K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v. 167, p. 313–324, 2016.