

## UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

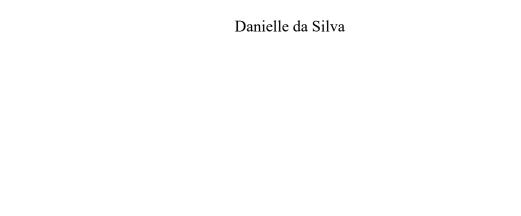
## CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

# PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E PLANTAS

Danielle da Silva

Efeito das poliaminas na germinação de sementes em *Feijoa sellowiana* (O. Berg) O. Berg (Myrtaceae)

Florianópolis



Efeito das poliaminas na germinação de sementes em *Feijoa sellowiana* (O. Berg) O. Berg (Myrtaceae)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Orientador: Prof. Paulo Tamaso Mioto, Dr.

Coorientadora: Profa. Neusa Steiner, Dra.

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

da Silva, Danielle

Efeito das poliaminas na germinação de sementes em Feijoa sellowiana (O. Berg) O. Berg (Myrtaceae) / Danielle da Silva ; orientador, Paulo Tamaso Mioto, coorientador, Neusa Steiner, 2021.

59 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Florianópolis, 2021.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. Acca sellowiana. 3. Goiabeira-serrana. 4. Inibidores de biossíntese de poliaminas . 5. Germinação de Sementes. I. Tamaso Mioto, Paulo . II. Steiner, Neusa. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. IV. Título.

#### Danielle da Silva

# Efeito das poliaminas na germinação de sementes em *Feijoa sellowiana* (O. Berg) O. Berg (Myrtaceae)

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

#### Profa. Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

#### Prof. Marcos Vinícius Marques Pinheiro, Dr.

Universidade Estadual do Maranhão

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Prof<sup>a</sup>. Mayara Krasinski Caddah, Dr<sup>a</sup>.

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas

Prof. Paulo Tamaso Mioto, Dr.

Orientador

Florianópolis, 24 de agosto de 2021.



#### **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Valdecir da Silva e Claudete Moraes da Silva, pelo amor incondicional, por todo apoio emocional e financeiro, dando forças mesmo à distância para a conclusão deste trabalho.

Ao meu irmão, Lucas Diego da Silva, pela amizade, companheirismo e motivação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo que me foi concedida.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Paulo Tamaso Mioto e à Profa. Dra. Neusa Steiner, pela orientação, dedicação, paciência e por compartilharem seus conhecimentos.

A Eliton Popovicz Seidel, pelo amor, companheirismo, compreensão e paciência.

A Universidade Federal de Santa Catarina pelo ensino público, gratuito e de qualidade, e ao programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas pela oportunidade de desenvolver esta dissertação e pela infraestrutura concedida.

A todos os integrantes do Laboratório de Fisiologia Vegetal, em especial à Loisiana Feuser dos Santos, Daniela Goeten, Vanessa Miranda, Oscar Afonso Loaiza Loaiza e Guilherme de Almeida Garcia Rodrigues.

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.

Aos amigos e colegas que me proporcionaram momentos de descontração, em especial à Ana Flávia Augustin e à Karin Bilk.

Obrigada!

#### **RESUMO**

Feijoa sellowiana (O. Berg) O. Berg, conhecida como goiabeira-serrana, é uma mirtácea nativa da serra catarinense. A germinação de sementes é um dos estágios vitais no ciclo de vida dessas plantas. O aumento no nível de poliaminas (PAs) é um dos primeiros eventos que ocorrem durante a germinação e pode ser limitante para o crescimento. As principais PAs nas plantas são a putrescina (Put), a espermidina (Spd) e a espermina (Spm). Diante disso, o trabalho teve como objetivo estudar o efeito dos inibidores de Put, Spd e Spm na germinação de sementes de F. sellowiana visando compreender o efeito individual de cada poliamina durante esta etapa. Os frutos maduros foram coletados em um pomar comercial do município de São Joaquim/SC. O trabalho foi dividido em dois experimentos. No primeiro, foi realizada a caracterização biométrica dos frutos e sementes, avaliação da qualidade fisiológica das sementes e a dinâmica de germinação das variedades (Alcântara, Helena, Mattos e Nonante). No segundo, as sementes foram submetidas aos testes de germinação com inibidores de biossíntese de poliaminas em concentração de 1mM para cada tratamento (D-ARG, DFMO, D-ARG + DFMO, 4MCHA e APCHA). A caracterização das variedades deste estudo evidenciaram elevada variação fenotípica, sugerindo um alto potencial genético da goiabeira serrana para a conservação do germoplasma. As variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante apresentaram sementes com alta qualidade fisiológica e elevado poder germinativo, acima de 97,7%. Foi possível observar que ação combinada dos inibidores de biossíntese de PAs (D-ARG + DFMO) reduziu expressivamente a germinação das sementes, sugerindo que, dentre todas as PAs analisadas, a Put é a mais importante no processo de germinação e que suas vias de biossíntese são complementares. Ao analisar o perfil de PAs endógenas observou-se que os níveis de PAs livres em sementes embebidas com H<sub>2</sub>O e inibidores não se alteraram em resposta aos inibidores, e que apresentaram conteúdos mais elevados de Spd, em comparação a Put e Spm. Isso que nos fez levantar duas possibilidades: os efeitos observados na germinação são efeito de alteração de outras vias metabólicas; e que a quantificação das PAs tenha sido feita antes que as vias biossintéticas fossem ativadas ao longo do processo de germinação. Esses resultados evidenciam a importância das PAs na germinação de sementes de F. sellowiana e no envolvimento com outras vias metabólicas.

**Palavras-chave:** *Acca sellowiana*. Inibidores de biossíntese de poliaminas. Germinação de sementes.

#### **ABSTRACT**

Feijoa sellowiana (O. Berg) O. Berg, known as "goiabeira-serrana", is a native species of Myrtaceae presents in the Santa Catarina mountain range. Seed germination is one of the vital stages in the life cycle of these plants. The increase in the level of polyamines (PAs) is one of the first events to happen during germination and its concentrations are limiting for growth. The main PAs in plants are putrescine (Put), spermidine (Spd) and spermine (Spm). Therefore, this work aimed to study the effect of Put, Spd and Spm inhibitors on F. sellowiana seed germination in order to understand the individual effect of each polyamine during this stage. The ripe fruits were collected in a commercial orchard in the city of São Joaquim/SC. The work was divided into two experiments. The first one consisted on the biometric characterization of the fruits and seeds, the evaluation of the physiological quality of the seeds and the germination dynamics of the varieties (Alcântara, Helena, Mattos and Nonante) was carried out. In the second experiment, the seeds were submitted to germination tests with polyamine biosynthesis inhibitors at a concentration of 1mM for each treatment (D-ARG, DFMO, D-ARG + DFMO, 4MCHA and APCHA). The characterization of the varieties in this study showed high phenotypic variation, suggesting a high genetic potential of the "goiabeira-serrana" for germplasm conservation. The varieties Alcântara, Helena, Mattos and Nonante have seeds with high physiological quality and high germination power, around 97.7%. It was possible to observe that the combined action of PAs biosynthesis inhibitors (D-ARG + DFMO) significantly reduced seed germination, suggesting that, among all PAs analyzed, Put is more important in the germination process and that its pathways biosynthesis are complementary. By analyzing the profile of endogenous PAs, it was observed that the levels of free PAs in seeds soaked with H<sub>2</sub>O and inhibitors did not change in response to inhibitors, and that they presented higher contents of Spd, compared to Put and Spm. This made us raise two possibilities: the effects observed on germination are due to alterations in other metabolic pathways; and that the quantification of PAs was done before the biosynthetic pathways were activated throughout the germination process. These results show the importance of PAs in the germination of F. sellowiana seeds and in their involvement with other metabolic pathways.

**Keywords:** Acca sellowiana. Polyamine biosynthesis inhibitors. Seed germination.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biossíntese de poliaminas em plantas. Inibidores de biossíntese de
poliaminas mostrados em vermelho: D-arginina (D-ARG); Difluorometilornitina (DFMO);
trans-4-metilciclohexilamina (4MCHA); N-(3-aminopropil) ciclohexilamina (APCHA);
metilglioxal bis (guanil hidrazona) (MGBG). Com ação conhecida sobre as enzimas
circundadas com uma caixa verde: arginina descarboxilase (ADC); ornitina descarboxilase
(ODC); espermidina sintase (SPDS); espermina sintase (SPMS); S-adenosilmetionina
descarboxilase (SAMDC), respectivamente
Figura 2. Espécie do estudo (Feijoa sellowiana). A- Goiabeira-serrana adulta em
período de floração no pomar comercial Goiaba Adrina em São Joaquim/SC; <b>B-</b> Flor; <b>C-</b> Frutos
maduros; <b>D-</b> Sementes despolpadas em laboratório
Figura 3. Curva de embebição de sementes de Feijoa sellowiana. (a) Curva de
embebição da variedade Helena, linhas pontilhadas indicam o final de cada fase da embebição.
Primeira linha pontilhada indica o fim da fase I (7 horas), segunda linha pontilhada indica o fim
da fase II (192 horas) e o início da fase III da germinação. (b) Curva de embebição da variedade
Nonante, linhas pontilhadas indicam o final de cada fase da embebição. Primeira linha
pontilhada indica o fim da fase I (5 horas), segunda linha pontilhada indica o fim da fase II (187
horas) e o início da fase III da germinação. O ajuste das equações foi significativo quando p
<0,05, (n = 4)
Figura 4. Dinâmica de germinação das variedades Alcântara (preto), Helena
(vermelho), Mattos (verde) e Nonante (azul) de Feijoa sellowiana. Linha tracejada (preto)
indicada a porcentagem de germinação 100%. As linhas pontilhadas indicam quando cada uma
da das variedades completaram a porcentagem máxima de germinação. Sementes foram
coletadas em abril de 2020. Média dos dados $\pm$ Desvio padrão (n=3)35
Figura 5. Dinâmica de germinação de Feijoa sellowiana var. Nonante nos diferentes
tratamentos: Controle (H2O); N-(3-aminopropil) ciclohexilamina (APCHA); Trans-4-
metilciclohexilamina (4MCHA); D-arginina (D-ARG), Difluorometilornitina (DFMO), D-
ARG + DFMO
Figura 6. Conteúdo de poliaminas endógenas em sementes de Feijoa sellowiana var.
Nonante no tratamento controle e com inibidores de biossíntese de poliaminas. (A) Putrescina
livre (μmol.g <sup>-1</sup> MS), ( <b>B</b> ) Espermidina livre (μmol.g <sup>-1</sup> MS), ( <b>C</b> ) Espermina livre (μmol.g <sup>-1</sup> MS),

( <b>D</b> ) Poliaminas totais livres (μmol.g <sup>-1</sup> MS), ( <b>E</b> ) Razão de poliaminas [PUT(SPD+SPM) <sup>-1</sup> ] (MS).
41
Figura 7. Dinâmica de germinação de Feijoa sellowiana var. Nonante nos diferentes
tratamentos: Controle $(H_2O)$ ; N-(3-aminopropil) ciclohexilamina $(APCHA)$ ; Trans-4-
metilciclohexilamina (4MCHA); D-arginina (D-ARG), Difluorometilornitina (DFMO), D-
ARG + DFMO

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos para inibição da biossíntese de poliaminas em sementes de
Feijoa sellowiana var. Nonante e seus efeitos na putrescina (Put), espermidina (Spd) e
espermina (Spm)
Tabela 2. Biometria dos frutos das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante
de Feijoa sellowiana. Massa do fruto inteiro (MFI); Massa da casca (MC); Massa da polpa
(MP); Rendimento de polpa (RP)
Tabela 3. Biometria de sementes das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante
de Feijoa sellowiana. Sementes por fruto (SF); Número de sementes por fruto (NSF); Peso
médio por semente (PM)
Tabela 4. Peso de mil sementes de sementes (PMS) e número de sementes por
quilograma (Nº de sementes/kg) das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de Feijoa
sellowiana31
Tabela 5. Conteúdo de água e viabilidade de sementes de variedades de Feijoa
sellowiana32
Tabela 6. Porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e
tempo médio de germinação (TMG) das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de
Feijoa sellowiana35
Tabela 7. O efeito da aplicação dos inibidores de biossíntese de poliaminas na
porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de
germinação (TMG) em sementes de Feijoa sellowiana var. Nonante37

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C – Grau Celsius

4MCHA - Trans-4-metilciclohexilamina

ABA – Ácido abscísico

ADC – Arginina Descarboxilase

AGM – Agmatina

APCHA – N-(3-aminopropil) ciclohexilamina

ARG – Arginina

ATP – Trifosfato de Adenosina

BOD – Demanda Bioquímica de Oxigênio

CAD – Cadaverina

CO<sub>2</sub> – Dióxido de Carbono

CV - Coeficiente de Variância

D-arg - D-arginina

DFMA – Difluorometilarginina

DFMO - Difluorometilornitina

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DP – Desvio Padrão

EPAGRI/SC - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina

g – Grama

GA – Giberelinas

H<sub>2</sub>O – Água

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IVG – Índice de Velocidade de Germinação

MF - Massa Fresca

mg – Miligrama

MGBG – metilglioxal bis (guanil hidrazona)

mM - Milimolar

MS - Massa seca

NCPA – *N*-carbamoilputreseína

NCPAH – *N*-carbamoilputreseína amido-hidrolase

NH<sub>3</sub> – Amônia

ODC – Ornitina Descarboxilase

ORN – Ornitina

PAs – Poliaminas

pH – Potencial Hidrogeniônico

PUT – Putrescina

rpm – Rotações por Minuto

SAM – S-adenosilmetionina

SAMDC – S adenosilmetionina-descarboxilase

SC – Santa Catarina

SPD – Espermidina

SPDS – espermidina sintase

SPM – Espermina

SPMS – espermina sintase

TMG - Tempo Médio de Germinação

UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina

 $\alpha = p - N$ ível de Significância

µmol - Micromol

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 GERMINAÇÃO DE SEMENTES	14
1.2 BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS	16
1.3 INIBIDORES DA BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS	18
1.4 PLANTA DE ESTUDO – Feijoa sellowiana (O. Berg.) O. Berg	19
2 PERGUNTAS DE PESQUISA	
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 EXPERIMENTO 1	23
4.1.1 Coleta de material e biometria de frutos e sementes	23
4.1.2 Peso de mil sementes e número de sementes por quilograma	24
4.1.3 Teste de viabilidade por Tetrazólio	24
4.1.4 Conteúdo de Água	24
4.1.5 Curva de embebição	24
4.1.6 Teste de Germinação – Variedades	25
4.2.2 Determinação e quantificação de poliaminas endógenas	27
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
5.1 BIOMETRIA DOS FRUTOS E SEMENTES DAS VARIEDADES DE Feijoa sellowiana	28
5.2 CONTEÚDO DE ÁGUA E VIABILIDADE DE SEMENTES DAS VARIEDADES Feijoa sellowiana	DE
5.3 CURVA DE EMBEBIÇÃO	
5.4 DINÂMICA DE GERMINAÇÃO DAS VARIEDADES DE Feijoa sellowiana	
5.5 GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Feijoa sellowiana</i> COM INIBIDORES DE BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS	
5.6 CONTEÚDO DE POLIAMINAS ENDÓGENAS EM SEMENTES DE <i>Feijoa</i> sellowiana TRATADAS COM INIBIDORES DE BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS	40
6 CONCLUSÃO	43
7 PERSPECTIVAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
9 APÊNDICE	57

APÊNDICE 1 – TESTE PRÉVIO DE GERMINAÇÃO COM INIBIDORES DE	
BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS	57

## 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 GERMINAÇÃO DE SEMENTES

A germinação de sementes é um estágio vital no desenvolvimento das espermatófitas, que se inicia com a disponibilidade de sinais ambientais ideais (BEWLEY et al., 2013) e é considerada um fator determinante para a produtividade da planta (HASANUZZAMAN et al., 2013). O processo de germinação inicia com a absorção de água, mobilização da reserva alimentar, síntese de proteínas e consequentemente protrusão da radícula (BEWLEY, 1997). As mudanças fisiológicas, bioquímicas e morfológicas durante a germinação estão relacionadas à taxa de sobrevivência das plântulas e ao crescimento vegetativo que afetam sua produtividade e a qualidade (ALI; ELOZEIRI, 2017).

O início da germinação das sementes é estritamente regulado pelo balanço endógeno dos hormônios vegetais, como giberelina (GA), ácido abscísico (ABA) e etileno, além de outras moléculas sinalizadoras, que incluem espécies reativas de oxigênio (ROS) e poliaminas (PAs) (HOLDSWORTH; BENTSINK; SOPPE, 2008; KUCERA; COHN; LEUBNER-METZGER, 2005). Os teores de GA e ABA tendem a ser negativamente correlacionados e alteram o equilíbrio dos repressores de germinação, que devem ser inativados para que a germinação ocorra (PISKUREWICZ et al., 2008). Assim, GA promove a germinação de sementes degradando estes repressores, enquanto ABA os estimula (PISKUREWICZ; LOPEZ-MOLINA, 2009).

Geralmente, o processo de germinação exibe três fases (BEWLEY, 1997; BEWLEY et al., 2013): a fase I é caracterizada pela rápida absorção inicial de água por uma semente, ocorrendo um aumento da massa fresca (NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010). Durante esta fase de absorção de água, iniciam-se processos fisiológicos, incluindo a síntese proteica a partir do RNAm existente e a retomada de atividades respiratórias, tais como vias respiratórias glicolíticas e a via oxidativa das pentoses (HAN; YANG, 2015). A fase I também está associada ao reparo do DNA, que pode ter sido danificado durante a fase de dessecação do desenvolvimento da semente, e esse reparo do DNA envolve a DNA ligase que é ativada com a embebição (WEITBRECHT; MÜLLER; LEUBNER-METZGER, 2011; TUAN et al., 2019). O reparo de mitocôndrias existentes também é iniciado durante a fase I da germinação. Como as sementes maturas contêm uma pequena quantidade de trifosfato de adenosina (ATP), o reparo das mitocôndrias durante a embebição desempenha um importante papel na produção de

ATP necessária para o processo de germinação (RAJJOU et al., 2012). Uma vez que a taxa de absorção de água da semente diminui e se torna estável, as sementes em germinação entram na fase II (BEWLEY, 1997). Uma série de eventos ocorre durante esta fase, incluindo o reparo contínuo de DNA e mitocôndrias existentes, a síntese de novas mitocôndrias e a síntese de proteínas a partir de transcritos de genes recém-sintetizados. Além disso, a iniciação da expansão embrionária e o enfraquecimento do tegumento ocorrem durante esta fase (BAI et al., 2016; DEKKERS et al., 2013; GALLAND et al., 2014). A protrusão da radícula através do tegumento, que é definida como germinação, marca o final da fase II e o início da fase III (NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010). A fase III é caracterizada principalmente pela mobilização de reservas depositadas em tecidos de armazenamento, como o endosperma; o que desencadeia novos aumentos na captação de água, sucedidos pelo crescimento da plântula (NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010). A divisão celular, a síntese de DNA e o alongamento das células da radícula também ocorrem durante a terceira fase (TUAN et al., 2019).

O aumento no nível de poliaminas livres é um dos primeiros eventos que ocorrem durante a germinação de sementes e estimulam o crescimento (BAE et al., 2018) sendo que as concentrações endógenas destas moléculas podem ser limitantes para esse processo (ARAGÃO et al., 2015). Entre as PAs livres, putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm) foram identificados durante o processo de germinação de Cedrela fissilis (Meliaceae) e no crescimento inicial de plântulas (ARAGÃO et al., 2015). Maiores teores de Spd e Spm foram observados na fase final de desenvolvimento de sementes de Ocotea catharinensis (Lauraceae) e podem estar associados ao alongamento celular (SANTA-CATARINA et al., 2006). Estes estudos destacam a importância do incremento nos níveis de PAs durante o processo de germinação (LIU et al., 2016). Pieruzzi e colaboradores (2011) relataram que Spd e Spm poderiam desempenhar papel mais importante no processo de germinação de sementes do que Put, mas estes autores não explicam e ou demonstram os efeitos específicos de cada uma delas. Lando e colaboradores (2019) observaram que em sementes de Trichocline catharinensis (Asteraceae), a relação de PAs [(Put + Spd) /Spm] aumentou durante as fases I e II. Na fase III, tiveram uma redução no teor de Put, indicando que níveis mais altos de Put durante esta fase estão associados à germinação. Dessa forma, os níveis de PAs totais e a razão entre PAs [Put/(Spd+Spm)] variam entre as espécies vegetais, órgãos, tecidos e durante os estádios de desenvolvimento (KUZNETSOV; SHEVYAKOVA, 2007).

Estudos com plântulas de *Arabidopsis thaliana* demonstraram que o conteúdo de PAs livres e conjugadas são maiores no início da germinação, durante o período de embebição, e

decrescem quando há protrusão da radícula (PUGA-HERMIDA et al., 2006). Dias-Costa (2018), também observou que em sementes de *Polygala sellowiana* (Polygalaceae), a Put foi a poliamina mais abundante na fase III da germinação em tratamento com GA. Por outro lado, no estudo realizado por Zandoná (2019), todas as poliaminas (Put, Cad, Spm e Spd) foram encontradas em grandes quantidades na fase III, em sementes de *Calibrachoa sellowiana* (Solanaceae) embebidas com GA<sub>3</sub>. A relação entre GAs e PAs foi também reportada por Lando e colaboradores (2019) no qual o efeito estimulador de GA<sub>3</sub> e Fluridone foi associado ao aumento do conteúdo de Put e Spd em relação à Spm.

#### 1.2 BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS

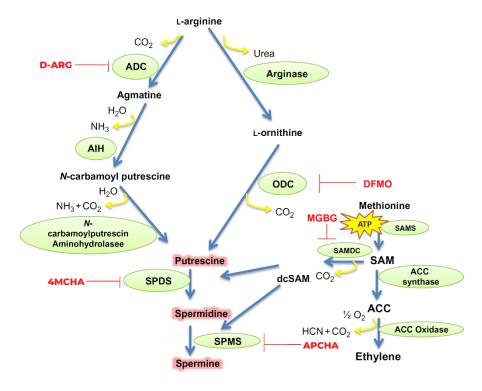
Em plantas vasculares, as PAs são bases nitrogenadas alifáticas de baixo peso molecular contendo dois ou mais grupos amino (BAGNI, 1989), e estão localizadas no citoplasma, vacúolos, mitocôndrias, cloroplastos e parede celular (ALCÁZAR et al., 2010). As três principais PAs presentes nas plantas são a Put, a Spd e a Spm (YANG et al., 2008). Todas elas atuam na regulação de diversos processos fisiológicos, tais como: expressão gênica, síntese de proteínas e DNA, controle da divisão e diferenciação celular, em processos de crescimento e desenvolvimento, como: quebra de dormência, germinação de sementes, floração e senescência (SILVEIRA et al., 2006; XU, 2015; PIERUZZI et al., 2011; SHI; CHAN, 2014; MUSTAFAVI et al., 2018). E estão envolvidas em respostas a estresses bióticos e abióticos (MINOCHA; MAJUMDAR; MINOCHA, 2014) e nas vias morfogenéticas *in vitro* (embriogênese somática e organogênese) (SANTA-CATARINA et al., 2006; STEINER et al., 2007).

As vias biossintéticas e metabólicas das poliaminas nas plantas foram minuciosamente estudadas (WIMALASEKERA; TEBARTZ; SCHERER, 2011; TAVLADORAKI; CONA; FEDERICO, 2012). A putrescina é o produto central da via biossintética comum das PAs. Ela contém dois grupos amino e é um precursor sintético de Spd e Spm (XU; WU; ZHANG, 2009). Existem duas diferentes rotas de biossíntese de Put nas plantas (**Figura 1**). Na primeira, o átomo de carbono número 8 é removido da arginina (Arg) pela arginina descarboxilase (ADC) para formar agmatina (Agm) e CO<sub>2</sub>; o átomo de nitrogênio número 2 é removido de Agm para formar *N*-carbamoilputreseína (NCPA) e NH<sub>3</sub>; o NCPA é hidrolisado pela *N*-carbamoilputreseína amido-hidrolase (NCPAH) e o seu grupo carbamil é removido para formar Put, CO<sub>2</sub> e NH<sub>3</sub> (CHEN et al., 2019; SINGH et al., 2018). Em alguns casos, esta é a principal via de síntese de Put em plantas (DOCIMO et al., 2012; PEGG, 2016). Na segunda rota, a ornitina (Orn) é produzida a partir de Arg pela arginase. Em seguida, a ornitina descarboxilase (ODC) remove

o grupo carboxila do átomo de carbono número 1 da Orn para formar Put e CO<sub>2</sub> (DOCIMO et al., 2012; PEGG, 2016).

O gene ODC foi perdido em *Arabidopsis thaliana* e muitos membros das Brassicaceae (HANFREY et al., 2010), indicando que a via da ornitina não é essencial para o crescimento normal nesse grupo de plantas. Spd e Spm são sintetizados pela espermidina sintase (SPDS) e espermina sintase (SPMS), respectivamente, através da adição de grupos aminopropil a Put e Spd (CHEN et al., 2019). Os grupos aminopropil são derivados da metionina, que é primeiro convertida em S-adenosilmetionina (SAM) e, depois, descarboxilada numa reação catalisada pela SAM-descarboxilase (SAMDC). O SAM descarboxilado resultante é utilizado como um doador de aminopropil. O SAM é um precursor comum para as PAs e o etileno, e o SAMDC regula as duas vias biossintéticas (KAUR-SAWHNEY et al., 2003; SINGH; BASU; KUMAR, 2018).

Figura 1. Biossíntese de poliaminas em plantas. Inibidores de biossíntese de poliaminas mostrados em vermelho: D-arginina (D-ARG); Difluorometilornitina (DFMO); trans-4-metilciclohexilamina (4MCHA); N-(3-aminopropil) ciclohexilamina (APCHA); metilglioxal bis (guanil hidrazona) (MGBG). Com ação conhecida sobre as enzimas circundadas com uma caixa verde: arginina descarboxilase (ADC); ornitina descarboxilase (ODC); espermidina sintase (SPDS); espermina sintase (SPMS); S-adenosilmetionina descarboxilase (SAMDC), respectivamente.



Fonte: Com adaptações, Singh, Basu e Kumar (2018).

### 1.3 INIBIDORES DA BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS

A atividade de ADC pode ser inibida pelos inibidores competitivos irreversíveis Difluorometilarginina (DFMA) e D-arginina (D-ARG), e a atividade de ODC pode ser inibida por Difluorometilornitina (DFMO) (GROSSI et al., 2016; YAMAMOTO et al., 2016). A DFMO parece atuar especificamente na ornitina descarboxilase e basicamente não tem ação conhecida sobre nenhuma outra enzima. Consequentemente, ela tem sido utilizada para inibir a biossíntese de putrescina. Uma vez administrada a DFMO, as quantidades de putrescina e espermidina diminuem rapidamente.

O metilglioxal bis (guanil hidrazona), MGBG, é amplamente utilizado para a inibição da S-adenosilmetionina-descarboxilase, afetando a biogênese da espermidina e espermina, *in vivo* e *in vitro*, pela redução dos níveis de SAM descarboxilase (SINGH; BASU; KUMAR, 2018). A trans-4-metilciclohexilamina (4MCHA) e o *N*-(3-aminopropil) ciclohexilamina (APCHA) atuam mais especificamente, inibindo a síntese de espermidina ou espermina, respectivamente, e que ainda podem ser utilizados para estudar a regulação da S-adenosilmetionina descarboxilase (SHIRAHATA et al., 1993).

Algumas pesquisas relatam que a inibição da biossíntese de poliaminas pode retardar e até bloquear a germinação de sementes, como é o caso de sementes de *Picea abies* (Pinaceae) (HUANG; VILLANUEVA, 1992) e ervilha (Pisum sativum) (VILLANUEVA; HUANG, 1993). Os inibidores DFMA e DFMO inibem o crescimento do eixo embrionário durante a germinação de sementes e o crescimento de segmentos epicótilos extraídos em grão-de-bico (Cicer arietinum). Em ambos os casos, o efeito é parcialmente revertido pela adição de poliaminas (VALLE; FERNANDEZ; NICOLAS, 1989). Aplicação de DFMO em pistilos jovens de tomate (Solanum lycopersicum) imediatamente após a polinização bloqueia o desenvolvimento subsequente do ovário. Essa inibição pode ser superada em parte pela aplicação de Put (COHEN et al., 1982). O DFMA reduz a embriogênese somática em culturas in vitro de cenoura (Daucus carota) c e a adição de poliaminas restaura esta morfogênese (FEIRER et al., 1984). Mirza e Bagin (1991) verificaram que a inibição do crescimento da raiz produzida por concentrações mais altas de Put foi gradual. A inibição do crescimento radicular por DFMO e a reversão dessa inibição pela aplicação de Put parece indicar a necessidade da Put no crescimento de raízes de plântulas em *Arabidopsis* (MIRZA; BAGNI, 1991). Até agora, no entanto, não foi relata a aplicação desses inibidores no processo de germinação de sementes, o que poderia nos dar pistas sobre o quão indispensável cada uma das PAs é para a germinação.

#### 1.4 PLANTA DE ESTUDO – Feijoa sellowiana (O. Berg.) O. Berg

Feijoa sellowiana (O. Berg) O. Berg, anteriormente conhecida como Acca sellowiana (O. Berg) Burret, pertence à família Myrtaceae, conhecida popularmente como feijoa, goiabeira-serrana ou goiabeira-do-campo. É considerada com grande potencial comercial (MATTOS, 1986), devido ao alto potencial organoléptico de seus frutos (BARNI et al., 2004; SANTOS et al., 2011), ambiental, por ser indicada para o enriquecimento de áreas degradadas por apresentar flores e frutos atrativos e apreciados pela avifauna entre outros animais (LORENZI, 2002) e ornamental pela beleza de suas flores (MATTOS, 1986).

Apesar de ser nativa do planalto meridional brasileiro e do nordeste uruguaio (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000), é cultivada quase que exclusivamente em outros países, como França, Itália, Rússia, Nova Zelândia, Estados Unidos, Israel e Colômbia (THORP; BIELESKI, 2002), sendo o nosso país importador dos frutos desta espécie, produzidos principalmente na Colômbia (BENINCÁ, 2014). Este fato demonstra a importância do cultivo comercial dessa frutífera no Sul do Brasil.

No Sul do Brasil, a goiabeira-serrana mostra-se adaptada a condições de clima frio, ocorrendo com maior frequência em áreas com altitudes superiores a 800 m, em formações de bosques e matas de araucária (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000). A distribuição das populações ocorre em alguns pomares comerciais com extensão variando de um a dois hectares (ESEMANN-QUADROS et al., 2008) e a quintais de residências (TONETTO, 2018), que são oriundos de mudas feitas a partir de sementes.

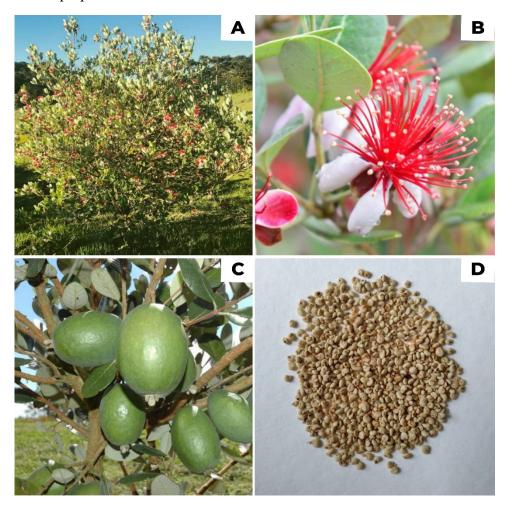
Em Santa Catarina, a goiabeira-serrana vem sendo pesquisada desde a década de 80, pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC) e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), com o objetivo de selecionar genótipos superiores e desenvolver um sistema de produção que permita seu cultivo em escala comercial (AMARANTE; SANTOS, 2011). Como resultado do trabalho, em 2007 foram lançadas as primeiras variedades brasileiras, "Alcântara" e "Helena" e, em 2008, as variedades "Mattos" e "Nonante" (DUCROQUET et al., 2007; DUCROQUET et al., 2008).

A goiabeira-serrana (**Figura 2 A**) é um arbusto ou arboreta, perinifólia, geralmente estando entre dois e seis metros de altura (MATTOS, 1986). As folhas são opostas, pequenas e pecioladas (DUCROQUET; RIBEIRO, 1991). A espécie é monóclina, sendo predominantemente alógama (DUCROQUET; RIBEIRO, 1991), e apresentando auto-

incompatibilidade tardia (FINATTO, 2011). A floração ocorre nos meses de outubro a janeiro, e as flores (Figura 2 B) são constituídas de quatro sépalas discretas, quatro pétalas carnosas e profundamente recurvadas, apresentando coloração branca por fora e púrpura por dentro, e existem, em média, 60 estames purpúreos por flor (DUCROQUET; RIBEIRO, 1991; DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000; FINATTO, 2008). O fruto (Figura 2 C) é classificado como um pseudofruto do tipo pomo, por ser a flor epígina, com ovário ínfero e aderente (FRANÇA, 1991), variando de formato de redondo a ovalado, sempre apresentando tons de verde, mesmo após a maturação (MATTOS, 1986). Esse fruto é similar ao da goiabeira comum (*Psidium guajava* L.) (AMARANTE et al., 2008), diferindo deste último por apresentar casca verde espessa, rica em taninos e não comestível. A polpa ainda apresenta cor entre gelo e o amarelado, sabor singular doce-acidulado e aroma penetrante (MATTOS, 1986). O rendimento da polpa é também bastante variável, geralmente atingindo valores máximos de 50% (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000; DEGENHARDT, 2001). A maturação dos frutos se estende por cerca de até quatro semanas, distribuída entre o final de fevereiro e final de maio (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000). As sementes (Figura 2 D) são numerosas, podendo ocorrer mais de 100 por fruto (DEGENHARDT, 2001), diminutas, duras e encontram-se embebidas em uma polpa firme e gelatinosa, podendo apresentar formato que varia de gota até coração (SEIDEMANN, 1994). Além de serem fotoblásticas positivas (percentuais de germinação mais altos na luz) (SANTOS; FERREIRA; ÁQUILA, 2004), as sementes são ortodoxas, podendo ser armazenadas em baixas temperaturas por longo período, mantendo seu poder germinativo (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000).

Em relação à propagação da feijoa, várias técnicas têm sido empregadas. A via sexuada por sementes é sua principal forma de propagação, por ser um método prático e econômico (ROCHA; FACHINELLO; SCHUCH, 1994; FAIAD et al., 2003), resultando em uma taxa de germinação superior a 93% (DAHMER et al., 2008). Porém, este método apresenta desvantagem pois não reproduz o fenótipo da planta mãe, características desejadas pelos produtores (MÜLLER, 2008). No entanto, esta técnica é amplamente utilizada para a obtenção de porta-enxertos, pois apresenta alto vigor (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000).

**Figura 2.** Espécie do estudo (*Feijoa sellowiana*). **A-** Goiabeira-serrana adulta em período de floração no pomar comercial Goiaba Adrina em São Joaquim/SC; **B-** Flor; **C-** Frutos maduros; **D-** Sementes despolpadas em laboratório.



Fonte: A- Goiaba Serrana Adrina; B- Aires Mariga; C- Nilson Teixeira; D- Primária.

Na propagação assexuada, são empregados os métodos da enxertia e estaquia (SHARPE; SHERMAN; MILLER, 1993). Porém, estes métodos de via assexuada não se mostraram eficientes, por não apresentarem compatibilidade, baixo rendimento, além de demandarem de maior tempo e elevado custo das mudas produzidas (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000). Além disso, a propagação clonal tem sido intensamente estudada nessa espécie por meio das técnicas de propagação *in vitro* a partir da embriogênese somática (GUERRA et al., 1997, CANGAHUALA-INOCENTE, 2007, PESCADOR et al., 2009).

Nos últimos anos, estudos deram enfoque na relação entre PAs e o desenvolvimento do embrião em *Feijoa sellowiana*. Cangahuala-Inocente e colaboradores (2009) relataram que a Put exerceu papel importante nos estádios iniciais da embriogênese zigótica, enquanto a Spm

apresentou seus efeitos no final do desenvolvimento embrionário. Esses resultados destacam a importância de informações sobre o incremento nos níveis de PAs durante o processo de formação da semente da goiabeira-serrana, pois a principal forma de propagação desta espécie é por sementes (ROCHA; FACHINELLO; SCHUCH, 1994). Sendo a germinação a primeira fase de desenvolvimento no ciclo de vida desta espécie, estudos envolvendo os processos fisiológicos nessa fase ainda são escassos e mais informações são necessárias, pois a espécie é bastante utilizada para a recuperação de áreas degradadas e a demanda para a produção de mudas de qualidade vem aumentando (REGO et al., 2009). Dentro desse contexto, pesquisas buscando entender o que controla a germinação da espécie nos permitirá desenvolver tecnologias capazes de melhorar a qualidade das sementes da goiabeira serrana e, consequentemente, sua produção.

#### 2 PERGUNTAS DE PESQUISA

- As sementes das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de Feijoa sellowiana provenientes de um pomar comercial apresentam variação na biometria de frutos e sementes e na dinâmica de germinação?
- As poliaminas (Put, Spd e Spm) são essenciais para a germinação de sementes de Feijoa sellowiana?
- Qual (quais) dos três tipos mais comuns de poliaminas (Put, Spd e Spm) causariam efeitos mais marcantes sobre a germinação de sementes de *Feijoa sellowiana*?

#### **3 OBJETIVOS**

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito dos inibidores de putrescina, espermidina e espermina na germinação de sementes de *Feijoa. sellowiana* visando compreender o efeito individual de cada poliamina na germinação.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar os parâmetros biométricos de frutos e sementes entre as variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de *Feijoa sellowiana* em um pomar comercial.
- Avaliar a qualidade fisiológica e a dinâmica de germinação das sementes entre as variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de Feijoa sellowiana.

- Estudar o efeito dos inibidores da biossíntese de putrescina, espermidina e espermina na germinação das sementes de *Feijoa sellowiana*.
- Analisar o perfil de poliaminas endógenas das sementes de Feijoa sellowiana submetidas aos diferentes inibidores de síntese de poliaminas durante a germinação.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Essa pesquisa foi dividida em dois experimentos, sendo:

- Experimento 1: foi realizada a coleta e análise de dados da caracterização biométrica dos frutos e sementes, avaliação da qualidade fisiológica do lote de sementes e a dinâmica da germinação para as variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de *Feijoa sellowiana*. Além disso, foi realizada a curva de embebição das sementes para as variedades Helena e Nonante. A coleta e análise de dados entre as quatro variedades foi realizada com o objetivo de definir qual variedade seria utilizada no próximo experimento, levando em conta os resultados obtidos e o maior número de sementes disponíveis.
- Experimento 2: ao analisar os resultados do experimento 1 foi escolhida a variedade Nonante, por apresentar alto poder germinativo e alta qualidade fisiológica. Com isso, foi realizado os testes de germinação com inibidores de biossíntese de poliaminas e a quantificação de poliaminas endógenas (Put, Spd, Spm, PAs totais livres e a Razão de PAs [Put/(Spd+Spm)].

#### 4.1 EXPERIMENTO 1

#### 4.1.1 Coleta de material e biometria de frutos e sementes

Os frutos das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante foram adquiridos do Pomar Comercial Goiaba Serrana Adrina, no município de São Joaquim, Santa Catarina, Brasil, cidade localizada na região do planalto serrano catarinense. Os frutos maduros foram adquiridos comercialmente em abril de 2020, sendo adquiridos cerca de 6kg de frutos por variedade.

Os frutos foram despolpados e as sementes foram extraídas a partir de maceração enzimática com uso de 2 mL pectinase (Pectinex Ultra Tropical - Novozymes®) por litro de polpa, durante 2 horas a 35 °C. Para as análises biométricas foram analisados, ao acaso, dez frutos inteiros de cada variedade e pesados em balança semi-analítica (0,001 g). Foram realizadas avaliações de massa do fruto inteiro (g) (MFI), massa da casca (g) (MC), massa da

polpa (g) (MP), sementes por fruto (g) (SF), número de sementes por fruto (NSF) e peso médio por semente (mg) (PM). O rendimento de polpa (RP) foi obtido a partir da relação entre a massa fresca da polpa e a massa fresca do fruto, com conversão posterior para porcentagem:

$$RP = \frac{massa\ fresca\ da\ polpa\ (g)}{massa\ fresca\ do\ fruto\ (g)} \times 100$$

#### 4.1.2 Peso de mil sementes e número de sementes por quilograma

A determinação do peso de mil sementes (PMS) foi realizada de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS) utilizando oito repetições de 100 sementes (BRASIL, 2009), calcula-se o peso de sementes, pela fórmula:

$$PMS = \frac{peso \ da \ amostra \ x \ 1.000}{n^{o} \ total \ de \ sementes}$$

A análise de PMS foi utilizada para estimar o número de sementes por quilograma, comparados com base nos valores mínimos e máximos de referência apresentados pela Instruções para análise de sementes de espécies florestais (BRASIL, 2017).

### 4.1.3 Teste de viabilidade por Tetrazólio

O teste de viabilidade foi realizado com quatro repetições de 20 sementes para as variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante. As sementes foram embebidas em água destilada por 12 horas, seccionadas longitudinalmente e imersas em uma solução de 2,3,5-trifeniltetrazólio (1%) durante duas horas, sendo mantidas no escuro a 35°C durante esse período (SARMENTO et al., 2013). Posteriormente, as sementes foram classificadas em viáveis e não viáveis a partir da coloração e aspecto dos tecidos.

#### 4.1.4 Conteúdo de Água

Para a obtenção do conteúdo de água, foram realizadas quatro repetições de 25 sementes para cada variedade, Alcântara, Helena, Mattos e Nonante, sendo mantidas em estufa a 105 ± 3 °C durante 24 horas para obtenção dos valores de massa fresca (g), massa seca (g) e conteúdo relativo de água da semente, conforme Brasil (2009).

#### 4.1.5 Curva de embebição

Para analisar a dinâmica de absorção de água das sementes foi realizada uma curva de embebição para as variedades Helena e Nonante utilizando quatro repetições de 25 sementes

para cada variedade. As sementes foram desinfestadas em álcool (70%) por 50 segundos, seguido de imersão em hipoclorito de sódio (1%) por 1 minuto, com posterior lavagem em água destilada por 3 vezes (adaptado de FANTINEL et al., 2017). As sementes foram mantidas em placas de Petri com substrato de papel Germitest<sup>®</sup> umedecido com 2,5g de água por g de papel, em germinador tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) com fotoperíodo de 12 horas a 25°C. As sementes foram pesadas antes da embebição, a cada 15 minutos por 2 horas, a cada 30 minutos por 1,5 horas, a cada 45 minutos por 1 hora, a cada 1 hora por 7 horas, a cada 12 horas por 3 dias e depois a cada 24 horas até que fosse atingido 51% de germinação (adaptado de BRASIL, 2009).

#### 4.1.6 Teste de Germinação – Variedades

Para avaliar a dinâmica de germinação das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante foram realizadas três repetições de 15 sementes. As sementes foram desinfestadas como descrito no item 4.1.5 e colocadas para germinar em placas de Petri com substrato de papel Germitest<sup>®</sup> umedecido com 2,5g de água por g de papel, em germinador tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) com fotoperíodo de 12 horas a 25 °C por 30 dias. A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente, a partir do início do teste de germinação, considerando-se como germinadas aquelas com a protrusão da radícula (BEWLEY et al., 2013).

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

#### 4.2 EXPERIMENTO 2

Após a realização dos testes de germinação com as variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante (ver resultados na **Tabela 6**), analisamos os resultados e observamos que as variedades não apresentaram diferenças estatísticas significativas, indicando que todas as variedades apresentavam alto vigor e viabilidade. A partir disso, foi escolhida a variedade Nonante para seguir com o experimento 2, que além de apresentar elevado poder germinativo, era a variedade que apresentava o maior número de sementes disponíveis para realizar os testes de germinação com inibidores de biossíntese de poliaminas e as análises bioquímicas de determinação e quantificação de poliaminas endógenas.

#### 4.2.1 Teste de germinação com inibidores de biossíntese de poliaminas

As sementes da variedade Nonante foram desinfestadas como descrito no item 4.1.5 e quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento (**Tabela 1**), sendo eles: T1 - Controle (H<sub>2</sub>O), T2 - D-arg (1mM). T3 - DFMO (1mM), T4 - D-arg (1mM) + DFMO (1mM), T5 - APCHA (1mM) e T6 - 4MCHA (1mM), foram incubadas em placas de Petri de plástico de 90 mm de diâmetro, com substrato de papel Germitest<sup>®</sup> e umedecidas com 2,5 mL de solução contendo os inibidores, realizando no total de 6 aplicações em 24h, 48h, 72h, 96h e 120h. Após esse período as sementes continuaram a ser umedecidas com 2,5mL de água quando necessário e acondicionadas em câmaras de germinação tipo B.O.D (Eletrolab, EL212/4), com fotoperíodo de 12 horas a 25 °C e o experimento foi monitorado por 30 dias.

**Tabela 1.** Tratamentos para inibição da biossíntese de poliaminas em sementes de *Feijoa sellowiana* var. Nonante e seus efeitos na putrescina (Put), espermidina (Spd) e espermina (Spm).

Tratamentos	Inibidores _	Efeitos o	dos inibidores nas p	oliaminas
Tratamentos	imbluores _	Put	Spd	Spm
T1	Controle (H <sub>2</sub> O)	presente	presente	presente
<b>T2</b>	D-arginina (1mM)	presente	presente	presente
Т3	DFMO (1mM)	presente	presente	presente
T4	D-arginina (1mM) + DFMO (1mM)	ausente	ausente	ausente
<b>T5</b>	4MCHA (1mM)	presente	ausente	ausente
Т6	APCHA (1mM)	presente	presente	ausente

As concentrações de inibidores foram baseadas em testes prévios realizados com a variedade Nonante de *F. sellowiana* com os mesmos tratamentos descritos na **Tabela 1** (ver resultados em **Apêndice 1**).

A contagem das sementes germinadas foi realizada diariamente, a partir do início do teste de germinação, considerando-se como germinadas aquelas com a protrusão da radícula (BEWLEY et al., 2013). Tais dados foram utilizados para os cálculos de IVG e o TMG, segundo a equação proposta por Maguire (1962) e Ranal e Santana (2006).

Para análises bioquímicas, as sementes foram coletadas ao sexto dia (Fase II - antes da protusão da radícula) e armazenadas a -20 °C até o momento da análise de quantificação de poliaminas endógenas.

#### 4.2.2 Determinação e quantificação de poliaminas endógenas

Para determinação de PAs, três amostras (200 mg) de sementes provenientes do início da fase II da germinação (sexto dia) dos tratamentos (**Tabela 1**): T1, T2, T3, T4, T5 e T6 foram analisadas. As amostras foram maceradas em 1,6 mL de ácido perclórico a 5% (v/v). As PAs livres foram extraídas, dansiladas e quantificadas, de acordo com Steiner e colaboradores (2007). PAs livres foram determinados diretamente a partir do sobrenadante. Para a derivatização das PAs livres foi utilizado cloreto de dansil e quantificadas por HPLC usando uma coluna de fase reversa C18 de 5 μm (Shimadzu Shin-Pack CLC ODS). A quantificação das PAs foi realizada utilizando um detector de fluorescência a 340 nm (excitação) e 510 nm (emissão). As áreas de pico e os tempos de retenção foram medidos em comparação com PAs padrão Put, Spd e Spm, sendo utilizado 1,7-diaminoheptano (DAH) como padrão interno.

#### 4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E 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 peso de mil sementes, conteúdo de água, teste do tetrazólio, porcentagem de germinação, IVG, TMG e conteúdo de poliaminas endógenas os dados passaram por testes para verificar se eles atenderam aos pressupostos de normalidade dos resíduos e homocedasticidade por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente (p < 0,05). A análise estatística foi efetuada utilizando o *software* R (R CORE TEAM, 2021), submetendo os dados, primeiramente, à análise de variância (ANOVA). Quando constatada diferença entre os tratamentos pelo teste F (p < 0,05), efetuou-se a comparação de médias pelo teste de Tukey com  $\alpha$  = 0,05 (SOKAL; ROHLF, 2012).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### 5.1 BIOMETRIA DOS FRUTOS E SEMENTES DAS VARIEDADES DE Feijoa sellowiana

Foram observadas diferenças na característica dos frutos entre as variedades avaliadas (**Tabela 2**), como massa do fruto inteiro, massa da casca, massa da polpa e rendimento de polpa. A variedade Mattos apresentou maior massa do fruto inteiro com, 128,93 ± 21,28 g. A massa média dos frutos inteiros de "Helena" encontradas neste estudo (97,55 ± 19,20 g) foi menor do que a obtida por Souza e colaboradores (2015) com 118,9 gramas. Para "Alcântara" observouse frutos mais pesados do que relatados anteriormente por Ducroquet e colaboradores (2007) com média de 80 g, por Buratto (2018), com 96,66 g e por Menin (2019), com uma média de 77,49 ± 12,52 g. Todas as variedades apresentaram pesos superiores ao encontrado em genótipos do Meio Oeste Catarinense com valores mínimos de 77,8 g e valores máximos de 88,7 g (SÁNCHEZ-MORA et al., 2020) e nas variedades Alcântara, Helena e Nonante coletadas por Miranda (2019) em São Joaquim/SC, com uma média de 48,1 g, 53,6 g e 49,2 g, respectivamente.

**Tabela 2.** Biometria dos frutos das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de *Feijoa sellowiana*. Massa do fruto inteiro (**MFI**); Massa da casca (**MC**); Massa da polpa (**MP**); Rendimento de polpa (**RP**).

Variedades	MFI (g)	MC (g)	MP (g)	RP (%)
Alcântara	$117,25 \pm 14,56$	$81,76 \pm 10,82$	$35,19 \pm 6,65$	$29,95 \pm 4,47$
Helena	$97,55 \pm 19,20$	$72,26 \pm 16,65$	$25,00 \pm 6,18$	$25,82 \pm 5,31$
Mattos	$128,93 \pm 21,28$	$98,20 \pm 16,11$	$31,93 \pm 9,98$	$24,51 \pm 5,68$
Nonante	$122,99 \pm 21,94$	$73,82 \pm 17,79$	$39,66 \pm 6,83$	$35,41 \pm 3,90$
CV (%)	17	19	23	17

Média dos dados ± desvio padrão (DP) (n=10). CV= coeficiente de variância. Sementes coletadas em abril de 2020.

Os primeiros estudos para goiabeira-serrana revelaram que a massa total do fruto pode variar de 30 a 250g (DEGENHARDT et al., 2003). A caracterização das variedades desse estudo em comparação com outros estudos evidência elevada variação fenotípica para a espécie. Sarmento e colaboradores (2018) relatam que em frutos de espécies nativas são comuns essas variações e demonstram fluxo gênico alto entre indivíduos, por ser uma espécie predominantemente alógama (SANTOS et al., 2005), além de fatores ambientais do local de ocorrência (GUSMÃO; VIEIRA; FONSECA, 2006). Essa variação pode indicar um elevado potencial genético da espécie para a conservação de germoplasma, coleta de sementes e no

processo de conservação da biodiversidade das formações ecossistêmicas que ocorrem naturalmente (GUSMÃO; VIEIRA; FONSECA, 2006; CARDOSO, 2009).

A polpa da goiaba-serrana é a única parte do fruto consumida *in natura*, quanto mais alto o seu rendimento, mais atrativo o fruto se torna para o mercado consumidor, além de ser um fator-chave para a escolha da matéria-prima ideal pela indústria de alimentos na produção de geleias, sucos e sorvetes (MORZELLE et al., 2015). De acordo com Amarante e Santos (2011), o rendimento de polpa pode chegar até 50%. Nas variedades do pomar comercial analisado neste trabalho (**Tabela 2**), obtivemos valores de 24,51% (Helena) a 35,41% (Nonante), corroborando com os valores apresentados pela EPAGRI/SC no lançamento das variedades, variando de 25 a 33% (DUCROQUET et al., 2007; DUCROQUET et al., 2008). Rendimento acima dos 35% foram observados por Souza e colaboradores (2018) em uma Estação Experimental da Embrapa no Rio Grande do Sul para dois genótipos (EC8 e EC9), com 43,28% e 47,83%, respectivamente e por Ieler (2017) que registrou em um pomar experimental de goiabeira-serrana no Instituto Federal Catarinense – Campus Rio do Sul para um cruzamento de Helena x Mattos com 47,64% e o cruzamento Alcântara x Helena com 37,16 %.

A variedade Mattos apresentou a maior porcentagem de casca (**Tabela 2**) quando comparado a massa do fruto inteiro com média de 76,16% (98,20 ± 16,11 g). Apesar de não ser característica atrativa para os consumidores do fruto *in natura*, a casca pode ser utilizada mesmo assim. Amarante e colaboradores (2017), relatam que a casca da feijoa, principal subproduto do processamento do fruto, apresenta fonte de bioativos, como compostos fenólicos e vitaminas antioxidantes (apresentando maior teor de vitamina C do que a polpa). Apesar de apresentar elevado potencial de uso, não existem até o momento, estudos quanto a valorização para o processamento na indústria (SARTORI, 2018).

A variedade Nonante possui o maior número de sementes por fruto (185  $\pm$  42), entretanto o número de sementes por fruto teve uma ampla variação, com CV= 45% entre as demais variedades (**Tabela 3**). Tonetto (2018) encontrou valores de 27  $\pm$  19 sementes por fruto para uma população natural localizada em Santa Maria/RS. O número de sementes por fruto para "Alcântara", "Helena" e "Nonante" foram superiores ao descrito por Miranda (2019) para as mesmas variedades coletadas em São Joaquim/SC com uma média de 120  $\pm$  73 (Alcântara),  $52 \pm 19$  (Helena) e  $53 \pm 22$  (Nonante).

**Tabela 3.** Biometria de sementes das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de *Feijoa sellowiana*. Sementes por fruto (**SF**); Número de sementes por fruto (**NSF**); Peso médio por semente (**PM**).

Variedades	SF (g)	NSF	PM (mg)
Alcântara	$0,62 \pm 0,18$	$126 \pm 49$	$3.8 \pm 0.5$
Helena	$0,43 \pm 0,24$	$79 \pm 49$	$3,6 \pm 0,8$
Mattos	$0,32 \pm 0,25$	$67 \pm 63$	$4.8 \pm 0.4$
Nonante	$1,03 \pm 0,42$	$185 \pm 42$	$4,5 \pm 0,6$
CV (%)	48	45	15

Média dos dados ± desvio padrão (n=10). CV= coeficiente de variância. Sementes coletadas em abril de 2020.

Apesar do maior número de sementes por fruto não ser uma característica desejável na fruticultura (FREE, 1993; TURRA, 2017), do ponto de vista ecológico, este parâmetro é um indicador de sucesso para reprodução da planta, pois serão maiores as chances da perpetuação da espécie ao longo das gerações (ROUBIK, 1989). Sánchez-Mora (2019) em seu estudo realizado em pomares experimentais de Água Doce e Fraiburgo (SC) evidenciou que a característica número de sementes está diretamente relacionada com o rendimento de polpa e poderia ser relacionada com a auto-compatibilidade da goiabeira-serrana. Essa relação é justificada para as variedades Alcântara, Helena e Nonante, uma vez que suas flores são auto-compatíveis (TURRA, 2017).

Um dos fatores que influencia o número de sementes por fruto é a restrição de polinizadores, que acarreta a variação natural da quantidade de pólen depositado sobre o estigma das flores (FINATTO, 2008). Além disso, a elevada precipitação e baixas temperaturas na época de floração diminuem a abundância de polinizadores (FINARDI, 2003), ocasionando uma redução da produtividade. Sendo que dois estudos apontaram que a presença de polinização cruzada proporciona maior número de sementes por frutos, o mais recente de Turra (2017) com dados registrados para as variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante no Paraná e o de Patterson (1990), para as variedades Apollo, Triumph, Mammoth e Gemini da Nova Zelândia.

O peso médio por semente em todas as variedades (**Tabela 3**) foram próximos com média de 4,2 mg, sendo esse valor maior do que encontrado por Tonetto (2018) 2,5 mg e menores do que os registrados por Miranda (2019) para uma população natural com 7,5mg. Essa alta variação pode ser confirmada pelas diferenças descritas entre as sementes do tipo Brasil (originado na serra catarinense, frutos com sementes grandes 0,45 a 0,60 g para 100 sementes) e do tipo Uruguai (presente no Rio Grande do Sul, com sementes menores 0,20 g para 100 sementes) (DUCROQUET; HICKEL; NODARI, 2000; SCHOTSMANS et al., 2011).

Para o atributo peso de mil sementes os valores encontrados nesse experimento (**Tabela 4**) foram menores do que os 9,5 até 42,3 g encontrados por Ieler e colaboradores (2017) para diferentes cruzamentos de goiaba-serrana cultivados em Santa Catarina. A variedade Mattos com seus 4,3215g foi semelhante aos 4,420g registrado por Donazzolo e colaboradores (2015) para o genótipo G2 do município de Vacaria no Rio Grande do Sul.

**Tabela 4.** Peso de mil sementes de sementes (**PMS**) e número de sementes por quilograma (Nº de sementes/kg) das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de *Feijoa sellowiana*.

Variedades	PMS (g)	N° de sementes/kg
Alcântara	$3,6965 \pm 0,0137 \text{ b}$	270.526
Helena	$3,5125 \pm 0,0123 \text{ b}$	284.697
Mattos	$4,3215 \pm 0,0677$ a	231.401
Nonante	$4,6274 \pm 0,0123$ a	216.104

Média dos dados  $\pm$  DP (n=8). Diferentes letras indicam diferença significativa com p < 0,05, de acordo com o Teste de Tukey. Sementes coletadas em abril de 2020.

O peso de mil sementes também é utilizado para estimar o número de sementes por quilograma. As variedades Helena (284.697 sementes/kg) e Alcântara (270.526 sementes/kg) apresentaram um número de sementes por quilograma dentro do limite proposto por Brasil (2013) na Instruções para Análise de Sementes Florestais, onde é mencionada variação de 250.000 até 416.000 sementes/kg. As outras duas variedades ficaram com valores abaixo do limite registrado, sendo elas, Nonante com 216.104 sementes/kg e Mattos com 231.401 sementes/kg. Essas variações encontradas podem ser atribuídas ao fato das sementes de feijoa apresentarem ampla amplitude de valores na característica tamanho e peso médio de sementes, por conta da procedência de material de diferentes regiões do Brasil, que apresentam variações edafoclimáticas distintas.

## 5.2 CONTEÚDO DE ÁGUA E VIABILIDADE DE SEMENTES DAS VARIEDADES DE Feijoa sellowiana

A viabilidade das sementes não apresentou diferenças significativas para as variedades analisadas (**Tabela 5**), sendo consideradas com alta viabilidade. O conteúdo de água inicial das sementes foi abaixo de 12,25%, valor inferior ao encontrado por Gomes e colaboradores (2013) (36%) e Donazzolo e colaboradores (2020) (28%), e superior ao descrito por Tonetto (2018) com 4,9%, essas diferenças encontradas no conteúdo de água inicial em sementes dessa espécie, podem ser explicadas pelo grau de maturação fisiológica e as condições climáticas na época de colheita da goiabeira-serrana (SARMENTO, 2012). O conhecimento do conteúdo de água das

sementes nos permite obter informações para manter a qualidade fisiológica durante o seu armazenamento. De acordo com Gomes e colaboradores (2013) as sementes de feijoa foram recentemente classificadas fisiologicamente quanto ao armazenamento como intermediárias, tolerando baixos níveis de umidade, podendo ser mantidas refrigeradas a 8°C, e ainda manter elevadas taxas de germinação (80%), mesmo após dois anos de armazenamento (DONAZZOLO et al., 2015).

**Tabela 5.** Conteúdo de água e viabilidade de sementes de variedades de *Feijoa sellowiana*.

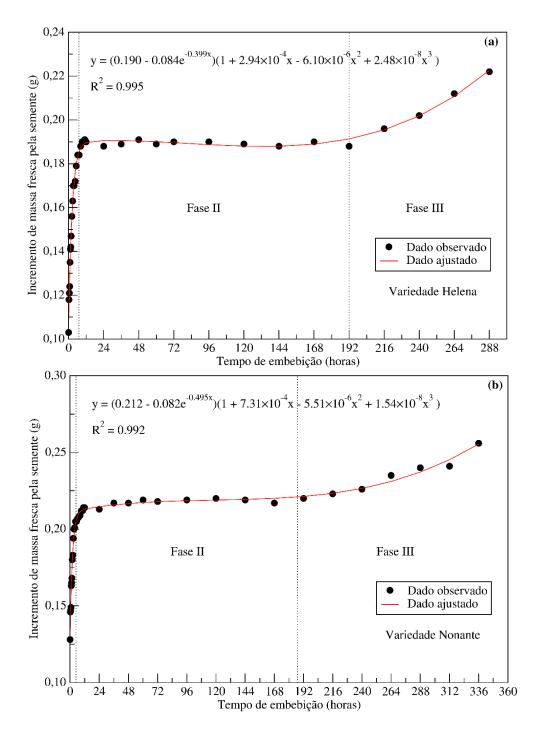
Variedades	Conteúdo de água da semente (%)	Reação positiva ao 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio (%)
Alcântara	$12,25 \pm 1,75$	$99 \pm 3$
Helena	$9,89 \pm 1,18$	$96 \pm 3$
Mattos	$9,51 \pm 1,44$	$98 \pm 3$
Nonante	$10,03 \pm 1,53$	$99 \pm 3$

Média dos dados  $\pm$  desvio padrão (n=4). Não houve diferenças significativas com p < 0,05, de acordo com o *Teste F*. Sementes coletadas em abril de 2020.

## 5.3 CURVA DE EMBEBIÇÃO

A reidratação das sementes por meio de embebição é fundamental para reativar os eventos metabólicos essenciais para o início da germinação (NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010). Em condições ideais, a absorção de água pelas sementes é trifásica, refletindo diferentes processos físicos e metabólicos que impulsionam o movimento da água em cada fase (BEWLEY et al., 2013). A germinação das sementes de F. sellowiana das variedades Helena (Figura 3-A) e Nonante (Figura 3-B) foram bem ajustadas ao modelo trifásico, conforme definido pelos pontos de inflexão na curva de embebição. "Helena" e "Nonante" iniciaram suas germinações no 8º dia após o início da embebição, encerraram no 12º e 14º, respectivamente, quando 51% das sementes estavam germinadas. Na variedade Helena houve elevada absorção de água nas primeiras 7 horas, com aumento de 0,081g (78,64%) da massa fresca, constituindo a fase I. Após, ocorreu um período de estabilização do peso até às 192 horas. Esse intervalo de latência caracteriza a fase II, sendo caracterizada por redução drástica na velocidade de absorção, marcada pela reativação do metabolismo, com aumento da difusão de solutos para regiões de marcante metabolismo, principalmente, na região do embrião (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS-FILHO, 2005). Ainda, foi observado aumento gradual de 0,119g (115,53%) da massa fresca das sementes na fase III, quando comparado à semente matura. Esse incremento de massa no fim da fase II e início da fase III é induzido pela expansão das células vegetais, que ocorre a partir da absorção de água e alongamento da parede celular, culminando com a protrusão da radícula (BEWLEY et al., 2013).

**Figura 3.** Curva de embebição de sementes de *Feijoa sellowiana*. **(a)** Curva de embebição da variedade Helena, linhas pontilhadas indicam o final de cada fase da embebição. Primeira linha pontilhada indica o fim da fase II (7 horas), segunda linha pontilhada indica o fim da fase III (192 horas) e o início da fase III da germinação. **(b)** Curva de embebição da variedade Nonante, linhas pontilhadas indicam o final de cada fase da embebição. Primeira linha pontilhada indica o fim da fase II (5 horas), segunda linha pontilhada indica o fim da fase II (187 horas) e o início da fase III da germinação. O ajuste das equações foi significativo quando p <0,05, (n = 4).



Na fase I, a variedade Nonante absorveu água rapidamente nas primeiras 5h e teve um aumento de 60,15% da massa fresca, e passou por um período de latência (fase II) relativamente curto de 187 horas, comparado a fase II de *Psidium cattleianum* (araçá) apresentado por Dias (2015), que durou cerca de 360 horas. A protrusão da radícula ocorreu no final da fase II (192h) e a germinação completa marcada (51% de sementes) ocorreu por volta de 336 horas de embebição (**Figura 3-B**), com um incremento de massa de 0,128g (100%).

A duração de cada uma dessas fases de embebição depende de certas propriedades inerentes da semente (e.g. conteúdo de substrato, permeabilidade do tegumento, tamanho da semente) e das condições prevalecentes durante a hidratação (e.g. temperatura, conteúdo de água inicial, água e oxigênio disponível) (BEWLEY et al., 2013). Isso justifica os resultados obtidos por Miranda (2019), ao realizar a curva de embebição para as sementes da população natural de *F. sellowiana*. Neste trabalho, houve uma elevada absorção de água nas primeiras 2 horas, constituindo a fase I, seguida de um período de estabilização do peso até às 12 horas, caracterizando a fase II. Por fim, a fase III foi finalizada com 528 horas (22º dia) quando ocorreu 51% da germinação.

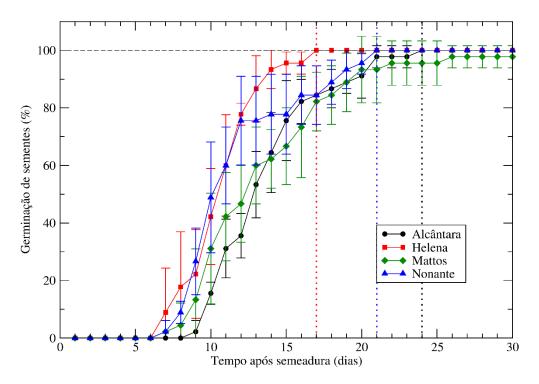
## 5.4 DINÂMICA DE GERMINAÇÃO DAS VARIEDADES DE Feijoa sellowiana

Quando observamos a dinâmica de germinação de sementes de goiabeira-serrana (**Figura 4**), todas as variedades avaliadas apresentaram viabilidade de germinação acima de 97,7%, sendo consideradas com alta qualidade fisiológica. As variedades Alcântara, Helena e Nonante apresentaram 100% de germinação.

Quanto à dinâmica de germinação de sementes, as variedades apresentaram altos índices (**Tabela 6**), sendo os maiores valores de índice de velocidade de germinação (IVG), apresentados por Helena (1,43) e Nonante (1,36), seguidos de Mattos (1,19) e Alcântara (1,14). De acordo com Marguire (1962) a análise do IVG tem como o princípio de que quanto mais rápido for o processo de germinação, maior será a expressão de vigor das sementes. Esse alto vigor e uniformidade pode ser um reflexo dos altos níveis de endogamia observados em plantas manejadas, refletindo uma estreita base genética desses grupos (DONAZZOLLO et al., 2020). Apesar do IVG não apresentar diferenças estatísticas significativas para as variedades, um fator morfofisiológico deve ser levado em consideração. O alto índice de velocidade de germinação apresentado por Helena (1,43) em contraste com Mattos (1,19), pode ser explicado pelo tamanho de suas sementes. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2000), sementes menores

germinam mais rapidamente do que sementes maiores, devido à menor quantidade de água necessária para a embebição.

**Figura 4.** Dinâmica de germinação das variedades Alcântara (preto), Helena (vermelho), Mattos (verde) e Nonante (azul) de *Feijoa sellowiana*. Linha tracejada (preto) indicada a porcentagem de germinação 100%. As linhas pontilhadas indicam quando cada uma da das variedades completaram a porcentagem máxima de germinação. Sementes foram coletadas em abril de 2020. Média dos dados ± Desvio padrão (n=3).



O tempo médio de germinação (TMG) (**Tabela 6**) corrobora com os resultados de IVG, atingindo valores de 11 dias para Helena, 12 para Nonante, seguidos de 13 dias para Mattos e de 14 dias para Alcântara. Quanto menor o TMG, maior é o vigor associado as sementes.

**Tabela 6.** Porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (**IVG**) e tempo médio de germinação (**TMG**) das variedades Alcântara, Helena, Mattos e Nonante de *Feijoa sellowiana*.

Variedades	Germinação (%)	IVG	TMG (dias)
Alcântara	$100 \pm 0$	$1,14 \pm 0,07$	$14 \pm 1$
Helena	$100 \pm 0$	$1,43 \pm 0,15$	$11 \pm 0.9$
Mattos	$97,7 \pm 3,8$	$1,19 \pm 0,18$	$13 \pm 1,6$
Nonante	$100 \pm 0$	$1,36 \pm 0,10$	$12 \pm 1,1$
CV (%)	0,64	10,61	9,64

Média dos dados ± DP (n=3). CV=coeficiente de variância. Não houve diferenças significativas com p < 0,05, de acordo com o *Teste F*. Sementes coletadas em abril de 2020.

De acordo com Vieira e Carvalho (1994), quanto mais vigorosa é a semente, mais rápida é sua germinação. Esses resultados também divergem de Sarmento e colaboradores (2013), de que as sementes de goiabeira-serrana possuem germinação lenta e desuniforme, com um IVG de 0,42 e TMG de 22 dias.

Em um estudo recente Miranda (2019) apresentou porcentagens de germinação bem diferentes para as variedades de *F. sellowiana*: Helena (86,7%), Alcântara (86,7%), Mattos (66,7%) e Nonante (22,2%). O IVG também mudou de acordo com as variedades: Helena (1,14), Alcântara (1,04), Mattos (0,46) e Nonante (0,22). Essas diferenças encontradas no poder germinativo, na mesma espécie, podem ser justificadas pelos lotes de sementes serem de procedências distintas (WIELEWICKI et al., 2006), alta diversidade genética para a espécie, apresentando altos níveis de heterose (SANTOS et al., 2009; SANTOS; DUCROQUET; NODARI, 2011), ou pelas variações climáticas as quais as árvores-matrizes são submetidas em seu processo de formação (GOMES et al., 2016). Sendo essas variações registradas para outras espécies de mirtáceas, *Myrcianthes pungens* (Guabijuzeiro) (FIOR et al., 2010), *F. sellowiana* (goiabeira-serrana), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), *Eugenia involucrata* (cerejeirado-mato) e *E. pyriformis* (uvaia) (GOMES et al., 2016).

### 5.5 GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Feijoa sellowiana* COM INIBIDORES DE BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS

Os primeiros estudos sobre o envolvimento dos PAs no desenvolvimento das plantas focaram nas consequências fenotípicas (e.g. crescimento de raízes e morfologia de plântulas) da suplementação de PAs exógenas e/ou de seus inibidores biossintéticos, fornecendo evidências das funções das PAs nos processos de desenvolvimento e de divisão celular (TIBURCIO et al., 2014). No geral, o crescimento e o metabolismo mais vigorosos das plantas estão associados a maior biossíntese de PAs (ZHAO et al., 2004) e, consequentemente, aos maiores teores de PAs (CAI et al., 2006), tanto em condições normais (KHAN et al., 2012) quanto em condições de estresse (TAKAHASHI et al., 2018). Outros estudos demostraram que a aplicação de PAs exógenas e suas concentrações afetam positivamente a germinação e a quebra de dormência das sementes (FAROOQ et al., 2011; SAVVIDES et al., 2016; HUANG et al., 2017), melhorando a taxa de germinação e a uniformidade, produzindo assim, mudas mais vigorosas (MUSTAFAVI; SHEKARI; ABBASI, 2015). Khan e colaboradores (2012), por exemplo, estudaram a aplicação de PAs em sementes de *Capsicum annum* (pimenta) sob

condições favoráveis e notaram que a Put apresentou o melhor desempenho, promovendo rápida germinação, uniformidade e proporcionando maior vigor às plântulas.

Diversos estudos com níveis endógenos de PAs durante a germinação de sementes também apontam, em sua maioria, para um papel promotor das PAs sobre a germinação. Lando e colaboradores (2020) associaram os valores elevados de razão de PAs com a estimulação da germinação de sementes em *T. catharinensis*, enquanto valores de razão baixos foram associados à inibição da germinação. Em um estudo recente, Liu e colaboradores (2016) concluíram que a Spd e Put são fatores-chave para regular a germinação de sementes de trigo (*Triticum aestivum*) sob estresse hídrico e os efeitos de Spd e Put na germinação foram relacionados aos hormônios e metabolismo dos carboidratos.

Embora todos esses fatores mostrem que as PAs parecem ser capazes de melhorar o processo de germinação, encontramos poucos relatos que discutam se são indispensáveis ou não para esse processo ou se possuem efeitos diferentes entre si. Por isso, neste trabalho buscamos trabalhar com a aplicação de bloqueadores de síntese das PAs. A partir dos resultados da dinâmica de germinação foi selecionada a variedade Nonante, que apesar de não diferir significativamente das demais variedades, apresentou alto poder germinativo (100%) e maior disponibilidade de sementes, os resultados deste experimento foram sumarizados na **Tabela 6**.

**Tabela 7.** O efeito da aplicação dos inibidores de biossíntese de poliaminas na porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (**IVG**) e tempo médio de germinação (**TMG**) em sementes de *Feijoa sellowiana* var. Nonante.

Tratamentos	Germinação (%)	IVG	TMG (dias)
Controle (H <sub>2</sub> O)	$100 \pm 0 \ a$	$1,89 \pm 0,11$ a	$14 \pm 0.80 \text{ b}$
D-ARG (1mM)	$100 \pm 0 \ a$	$1,68 \pm 0,06$ a	$15 \pm 0,61$ ab
DFMO (1mM)	$100 \pm 0 \ a$	$1,83 \pm 0,11$ a	$14 \pm 0.78 \text{ b}$
D-ARG (1mM) + DFMO (1mM)	$52 \pm 7{,}32 \text{ b}$	$0.88 \pm 0.19 \text{ b}$	$16 \pm 1{,}32 a$
APCHA (1mM)	$100 \pm 0 \ a$	$1,83 \pm 0,06$ a	$14 \pm 0.27 \text{ b}$
4MCHA (1mM)	$100 \pm 0$ a	$1,79 \pm 0,07$ a	$15 \pm 0,47$ ab
CV (%)	3,24	6,62	5,36

Média dos dados  $\pm$  DP (n=4). Diferentes letras indicam diferença significativa com p < 0,05, de acordo com o Teste de Tukey.

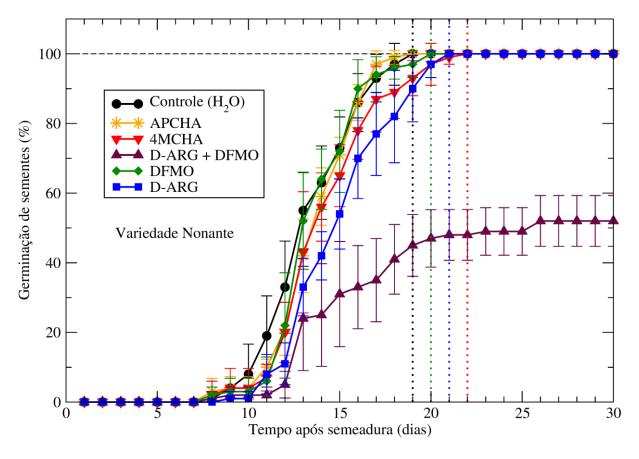
A aplicação dos inibidores de biossíntese de poliaminas tiveram efeito significativo na germinação de sementes de *F. sellowiana*. As sementes embebidas em H<sub>2</sub>O iniciaram a germinação 8 dias após a embebição, estendendo-se até 19 dias, com 100% de germinação (**Figura 5**). Sementes embebidas com DFMO, APCHA, 4MCHA e D-ARG (**Tabela 7**), mantiveram alto IVG (acima de 1,68), obtendo 50% das sementes germinadas a partir do 14° dia e completando 100% de germinação a partir do 19° dia. O tratamento com D-ARG + DFMO

apresentou uma dinâmica de germinação mais lenta com o início da germinação aos 9 dias após a embebição, reduzindo o IVG (0,88) e aumentando o TMG para 16 dias, chegando ao final dos 30 dias com uma redução de 48% da germinação em comparação ao tratamento controle.

Levando-se em conta que apenas o tratamento de D-ARG + DFMO causou uma queda no desempenho da germinação das sementes, podemos associar que, dentre todas as PAs analisadas, a Put é a mais importante no processo de germinação. Em teoria, esse seria o único tratamento (D-ARG + DFMO) no qual a biossíntese de Put foi reduzida, ao passo que a Spd e a Spm teriam suas taxas de biossíntese reduzidas também nos tratamentos com outros inibidores.

Wuddineh e colaboradores (2018) descreveram a existência de duas vias para a biossíntese de Put em plantas, sendo uma delas inibida pela aplicação de DFMO (YAMAMOTO et al., 2016) e outra pela aplicação de D-ARG (LIU et al., 2006).

Figura 5. Dinâmica de germinação de *Feijoa sellowiana* var. Nonante nos diferentes tratamentos: Controle (H<sub>2</sub>O); N-(3-aminopropil) ciclohexilamina (APCHA); Trans-4-metilciclohexilamina (4MCHA); D-arginina (D-ARG), Difluorometilornitina (DFMO), D-ARG + DFMO.



Média dos dados  $\pm$  DP (n=4).

No nosso estudo, não foi observada inibição da germinação com aplicação isolada desses inibidores, sugerindo que as duas vias podem atuar durante a germinação de sementes em *F. sellowiana*. Malmberg e colaboradores (1998) sugeriram que a rota mediada por ODC para a Put é particularmente importante no fornecimento de PAs para divisão, diferenciação e desenvolvimento celular sob condições normais, ao passo que a Put sintetizada pela via ADC é considerada necessária para a expansão celular em respostas ao estresse ambiental (VUOSKU et al., 2006; BRAUC et al., 2012). Nossos resultados apontam em outra direção, uma vez que a germinação foi inibida apenas com a aplicação combinada de D-ARG + DFMO. Isso indica que as duas vias de produção funcionam de maneira redundante, sendo capazes de suprir a produção de PAs para a germinação mesmo quando uma delas não está funcionando.

A dependência das vias na biossíntese de PAs podem ser diferentes entre as espécies vegetais, como o caso de *Arabidopsis thaliana* e outras espécies da família Brassicaceae, nas quais a via ODC não é essencial para o crescimento, podendo ser esse fator responsável pela variação na resposta da aplicação individual desses inibidores (HANFREY et al., 2010). Além disso, as respostas aos inibidores podem ser diferentes de acordo com os tecidos/órgãos das plantas (LIU et al., 2015).

No entanto, Huang e Villanueva (1992) ao estudarem o efeito dos inibidores diciclohexilamina, L-C-alilglicina, 1,4-diamino-butanona, cicloheximida, ciclohexilamina (CHA) e MGBG, em sementes de *Picea abies* (espruce-da-noruega), demonstraram que a germinação dessas sementes pode ser desacelerada quando a produção de Spd e Spm foram simultaneamente inibidas. Em sementes de *Pisum sativum* (ervilha), quando apenas uma das duas PAs foi inibida (ou seja, tratamentos com L-C-alilglicina e CHA), a germinação não foi afetada. Os mesmos autores relatam ainda que, quando foram aplicados os inibidores cicloheximida, indol-3-carboxaldeído, 1,4-diaminobutanona, diciclohexilamina e MGBG, observaram que a inibição simultânea da biossíntese de Spd e Spm também atrasava ou inibia a germinação (VILLANUEVA; HUANG, 1993).

Em sementes de *F. sellowiana* os tratamentos com 4MCHA (inibe Spd e Spm) e APCHA (inibe da Spm) não retardaram, inibiram ou aceleraram a germinação, demonstrando que a inibição de apenas Spm ou a inibição simultânea de Spd e Spm não afeta o processo germinativo, sugerindo que essas poliaminas não são essenciais na germinação desta espécie. Corroborando esses resultados, Gallardo e colaboradores (1994) ao estudarem o efeito da aplicação de CHA, observaram que houve aceleração na germinação em sementes de grão-debico (*Cicer arietinum*), e esse estímulo do crescimento do eixo embrionário foi correlacionada

ao aumento nos níveis endógenos de Put e a redução de Spd e Spm. Em contrapartida, em um estudo mais recente, Huang e colaboradores (2017) investigaram os efeitos da aplicação de Spd exógena e seu inibidor CHA em sementes de milho doce (*Zea mays*) e observaram incremento na porcentagem de germinação e vigor das sementes, enquanto a aplicação de CHA inibiu a germinação. Em suma, os autores concluíram que a germinação é estimulada pela Spd e pode estar intimamente relacionado com o metabolismo de hormônios incluindo GA, ABA e etileno. Para o nosso trabalho, parece haver papel mais proeminente da Put no processo de germinação de *F. Sellowiana*.

## 5.6 CONTEÚDO DE POLIAMINAS ENDÓGENAS EM SEMENTES DE Feijoa sellowiana TRATADAS COM INIBIDORES DE BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS

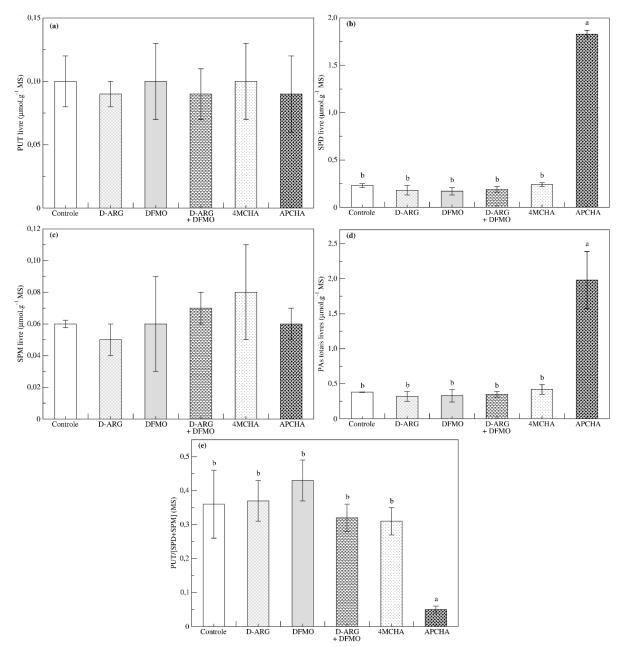
Nas plantas, a primeira poliamina sintetizada é a Put, podendo surgir a partir da ornitina, via ODC, ou da arginina, via ADC (MALMBERG et al. 1998; BITRIÁN et al., 2012). Na **Figura 6** é possível observar o conteúdo endógeno de Put, Spd e Spm para sementes de *F. sellowiana* tratadas com os diferentes inibidores de biossíntese de PAs. Em questão da proporção dos níveis de PAs livres em sementes embebidas com H<sub>2</sub>O e inibidores, as sementes apresentaram conteúdos mais altos de Spd variando de (0,17 – 1,83 μmol.g<sup>-1</sup> MS), em comparação a Put (0,08 – 0,10 μmol.g<sup>-1</sup> MS) e Spm (0,05 – 0,08 μmol.g<sup>-1</sup> MS), proporções semelhantes foram observadas em *F. sellowiana* (MIRANDA, 2019), *A. thaliana* (PUGA-HERMIDA et al., 2006), *Cedrela fissilis* (ARAGÃO et al., 2015) e *T. catharinensis* (LANDO et al., 2019).

Neste trabalho, não foram avaliados os conteúdos de PAs na semente matura, mas em um trabalho recente, Miranda (2019) avaliou o conteúdo de PAs em sementes maturas de *F. sellowiana* e os níveis de Spd (0,19 μmol.g<sup>-1</sup> MF) e Put (0,16 μmol.g<sup>-1</sup> MF) eram mais elevados em comparação a Spd (0,04 μmol.g<sup>-1</sup> MF), fato também observado para as sementes embebidas com H<sub>2</sub>O, sendo essas concentrações bem mais baixas do que as observadas nesse estudo para a mesma espécie.

O tratamento com APCHA (inibe a Spm) apresentou a diferença mais pronunciada na concentração de PAs livres (**Figura 6**) do que quando comparado aos demais tratamentos. O conteúdo de Spd (**Figura 6-B**) aumentou cerca de aproximadamente 8 vezes no tratamento com APCHA (1,83 µmol.g<sup>-1</sup> MS) em relação ao controle (0,23 µmol.g<sup>-1</sup> MS). Esse aumento pode ser explicado pela inibição da enzima espermina sintase, o que pode ter causado um acúmulo de substrato. Mesmo com níveis muito elevados de Spm (**Figura 6-C**), a germinação das

sementes parece não ter sido afetada. Pequenos aumentos no nível de Spm foram observados nos tratamentos com 4MCHA (0,08 μmol.g<sup>-1</sup> MS) e D-ARG + DFMO (0,07 μmol. g<sup>-1</sup> MS), mas os resultados não foram significativamente diferentes. Os conteúdos de PAs totais livres (**Figura 6-D**) foram maiores em sementes embebidas com APCHA (1,98 μmol. g<sup>-1</sup> MS) do que os demais tratamentos, por conta do acúmulo de Spd já relatado. A razão de PAs [Put/ (Spd + Spm)] (**Figura 6-E**) foi maior em sementes embebidas com DFMO e menor no tratamento com APCHA, provavelmente por conta do acúmulo de Spm.

**Figura 6.** Conteúdo de poliaminas endógenas em sementes de *Feijoa sellowiana* var. Nonante no tratamento controle e com inibidores de biossíntese de poliaminas. (**A**) Putrescina livre (μmol.g<sup>-1</sup> MS), (**B**) Espermidina livre (μmol.g<sup>-1</sup> MS), (**C**) Espermina livre (μmol.g<sup>-1</sup> MS), (**D**) Poliaminas totais livres (μmol.g<sup>-1</sup> MS), (**E**) Razão de poliaminas [PUT(SPD+SPM)<sup>-1</sup>] (MS).



Média dos dados  $\pm$  Desvio padrão (n=3). Diferentes letras indicam diferença significativa com p < 0,05, de acordo com o Teste de Tukey. Sementes coletadas ao sexto dia (início da Fase II da germinação). (A e C) Não houve diferenças significativas com p < 0,05, de acordo com o *Teste F*.

Os níveis de PAs endógenos estimulam a síntese e/ou ativação de hormônios, síntese de proteínas, divisão celular e a replicação do DNA (HANDA; MATTOO, 2010; MUSTAFAVI et al., 2018). As mudanças da proporção das PAs individuais sugerem que estas moléculas são importantes marcadores das fases da germinação das sementes (PIERUZZI et al., 2011; ARAGÃO et al., 2015; LANDO et al., 2019), participando ativamente na regulação da dormência e na germinação de sementes (KRASUSKA et al., 2014; ARAGÃO et al., 2015). Em *Arabidopsis*, Takahashi e Kakehi (2010) ao estudaram as funções individuais de cada PA, concluíram que a Spd é a poliamina mais importante para o crescimento das plantas; pois serve de substrato para a síntese do aminoácido hipusina, essencial para a divisão celular. Outras funções para as PAs foram descritas por Astarita e colaboradores (2003) ao estudarem a embriogênese zigótica de *Araucaria angustifolia*, sugerindo que elevados teores de Put no início da embriogênese estaria envolvido com a alta taxa de divisão celular, enquanto a Spm e Spd parecem estar envolvidas no alongamento celular, por serem mais abundantes nas fases finais do desenvolvimento do embrião.

Além disso, o metabolismo das PAs faz parte de uma rede de vias interdependentes que são centrais ao metabolismo do nitrogênio (WUDDINEH; MINOCHA; MINOCHA, 2018), sendo interconectadas com outras vias metabólicas, como a biossíntese de aminoácidos (e.g. glutamato, ornitina, arginina, prolina, citrulina e metionina) (MAJUMDAR et al., 2016). Durante o metabolismo de PAs, Put é sintetizada a partir dos aminoácidos arginina e ornitina pela ação das enzimas ADC e ODC (ARAGÃO et al., 2015). Níveis mais baixos desses aminoácidos foram observados nas sementes de Cedrela legalis, sugerindo que estes aminoácidos foram utilizados para síntese de Put, que apareceu em níveis mais elevados (SOUSA et al., 2016). A interconexão entre as PAs e os aminoácidos foram descritas para as espécies Cedrela fissilis, Ocotea catharinensis e Ocotea odorifera, os autores observaram que os níveis endógenos de aminoácidos e PAs sofrem variações ao longo do processo de desenvolvimento embrionário e germinativo (SANTA-CATARINA et al., 2006; DIAS et al., 2009; PIERUZZI et al., 2009; ARAGÃO et al., 2015). Aragão e colaboradores (2015) relataram que houve redução dos níveis endógenos de arginina e ornitina durante todo o evento germinativo de Cedrela fissilis, indicando conversão desses aminoácidos através das vias ADC e ODC na síntese de PAs.

Nossos resultados, demostram que o tratamento com D-ARG + DFMO não afetou os níveis endógenos de PAs. Apesar dos aminoácidos não terem sido quantificados neste trabalho, a ação combinada desses inibidores pode ter afetado o metabolismo de arginina e ornitina em sementes de F. Sellowiana. Tanto a D-ARG quanto a DFMO são aminoácidos modificados, inibindo suas respectivas enzimas a partir de competição com o substrato. Embora não tenhamos encontrado dados na literatura, é possível que esses compostos estejam inibindo outras enzimas que dependam da arginina e da ornitina e assim prejudicando o metabolismo das sementes. Embora possíveis, acreditamos que teríamos visto pelo menos algum efeito colateral quando aplicamos os inibidores separadamente. O fato de termos detectado algum efeito apenas quando estes foram aplicados simultaneamente, sugere-se que há alguma interferência no metabolismo das PAs. Os aminoácidos arginina e ornitina são os precursores de ampla gama de compostos nitrogenados em todos os organismos vivos (URBANO-GÁMEZ et al., 2020). A arginina estocada, é transformada em ornitina através de uma reação enzimática que libera ureia como produto. A ureia é então capturada e metabolizada pela enzima urease que a hidrolisa liberando NH<sub>3</sub> (DIXON et al., 1980). A amônia liberada pode ser assimilada para a produção de outros aminoácidos (POLACCO et al., 2013). Em sementes de algumas espécies vegetais, a quantidade de nitrogênio alocada em arginina pode corresponder a 40-50% do nitrogênio em proteínas (VANETTEN et al., 1963). Essas reservas são uma importante fonte de nitrogênio para o embrião durante a germinação (WITTE, 2011). A importância desses aminoácidos foi registrada em embriões de maçã (Malus domestica), no qual houve incremento da taxa de germinação com a suplementação de arginina e ornitina, sendo essa aplicação relacionada ao aumento na biossíntese de Put nessa espécie (KRASUSKA et al., 2017). Assim, embora arginina e ornitina sejam aminoácidos importantes no metabolismo vegetal, acreditamos que uma parte importante de seus efeitos possa estar relacionada ao metabolismo das PAs.

#### 6 CONCLUSÃO

A caracterização das variedades desse estudo evidência elevada variação fenotípica em *Feijoa sellowiana*, sugerindo alto potencial genético para a conservação do germoplasma e na coleta de sementes, quando em processo de conservação da biodiversidade das formações ecossistêmicas de ocorrência natural. Em questões fisiológicas, Alcântara, Helena, Mattos e

Nonante apresentam sementes com qualidade fisiológica e poder germinativo elevados, acima de 97,7%.

Com relação às avaliações fisiológicas e bioquímicas realizadas, foi possível concluir que ação combinada dos inibidores de biossíntese D-ARG + DFMO reduziu expressivamente a germinação das sementes, sugerindo que, dentre todas as PAs analisadas, a Put seja mais importante no processo de germinação e suas duas vias de biossíntese são redundantes.

Ao analisar o perfil de PAs endógenas notou-se os níveis de PAs livres em sementes embebidas com H<sub>2</sub>O e inibidores, apresentaram conteúdos mais altos de Spd, em comparação a Put e Spm. O tratamento com APCHA apresentou a diferença mais pronunciada na concentração de PAs livres, do que os demais tratamentos. O conteúdo de Spd aumentou cerca de aproximadamente 8 vezes no tratamento com APCHA, sendo esse aumentando ocasionado pela inibição da enzima espermina sintase, causando um acúmulo de substrato. Salienta-se que as quantidades endógenas de PAs não foram afetadas pela aplicação dos inibidores, no entanto, futuros trabalhos necessitam ser realizados para que estas lacunas sejam elucidadas.

#### 7 PERSPECTIVAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como a ação combinada dos inibidores de biossíntese de PAs parece não ter afetado os níveis endógenos de PAs, foram levantadas duas possibilidades. Os efeitos observados na germinação ocorrem devido a alteração de outras vias metabólicas. Outra, a quantificação das PAs tenha sido feita antes que as vias biossintéticas fossem ativadas ao longo do processo de germinação. Pretendemos refazer alguns experimentos, testando novas concentrações dos inibidores e quantificando as PAs endógenas no final da fase 2 da germinação e no início da fase 3.

A quantificação hormonal de ABA/GA e, especialmente, a quantificação de aminoácidos poderiam auxiliar fortemente na compreensão do metabolismo germinativo nesta espécie. Com esses experimentos, buscaríamos esclarecer a relação das PAs na interação com a síntese de aminoácidos e na ativação/bloqueio da síntese de hormônios em sementes tratadas com os inibidores de biossíntese de PAs. Além disso, sugere-se novos experimentos combinando a aplicação dos inibidores com a suplementação de PAs exógenas em diferentes concentrações, a fim de inferir se a adição de PAs exógenos pode reverter os efeitos dos inibidores.

Os resultados deste trabalho evidenciam a importância das PAs na germinação de sementes de *F. sellowiana* e no envolvimento com outras vias metabólicas. São necessários novos estudos envolvendo os processos fisiológicos na germinação e assim, elucidar os mecanismos envolvidos na etapa de germinação desta, permitindo desenvolver tecnologias que melhorem a qualidade das sementes e, consequentemente, sua produção.

#### 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCÁZAR, R. et al. Polyamines: Molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. **Planta**, v. 231, n. 6, p. 1237–1249, 2010.

ALI, A. S.; ELOZEIRI, A. A. Metabolic Processes During Seed Germination. **Advances in Seed Biology**, 2017.

AMARANTE, C. V. T. et al. Phenolic content and antioxidant activity of fruit of Brazilian genotypes of feijoa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1223-1230, 2017.

AMARANTE, C. V. T.; SANTOS, K. L. Goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). Revista Brasileira de Fruticultura, v. 33, n. 1, 2013.

AMARANTE, C. V. T. et al. Qualidade de goiaba serrana em resposta a temperatura de armazenamento e ao tratamento com 1- metilciclopropeno. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n.12, p.1683-1689, 2008.

ARAGÃO, V. P. M. et al. Free amino acids, polyamines, soluble sugars and proteins during seed germination and early seedling growth of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae), an endangered hardwood species from the Atlantic Forest in Brazil. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 27, n. 2, p. 157–169, 2015.

ASTARITA, L. V.; HANDRO, W.; FLOH, E. I. S. Changes in polyamines content associated with zygotic embryogenesis in the Brazilian pine, *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Brazilian Journal of Botany**, v. 26, n. 2, p. 163-168, 2003.

BAE, D. H. et al. The old and new biochemistry of polyamines. **Biochimica et Biophysica** Acta - General Subjects, v. 1862, n. 9, p. 2053–2068, 2018.

BAI, B. et al. Extensive translational regulation during seed germination revealed by polysomal profiling. **New Phytologist**, v. 214, n. 1, p. 233–244, 2017.

BARNI, E.J. et al. **Potencial de mercado para goiabeira-serrana catarinense** Florianópolis: Epagri, 2004. 48p. (Documento, 212).

BENINCÁ, T. **Pós-colheita de goiabeira serrana: enzimas ligadas ao escurecimento de polpa, revestimentos comestíveis e compostos bioativos**. 2014. 125f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) — Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC.

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

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. The Plant Cell, v. 9, p. 1055-1066, 1997.

BEWLEY, J. D.; BLACK M. **Seeds: Physiology of development and germination**. 2a ed. New York: Plenum Press; 1994. 445 p.

BITRIAN, M. et al. Polyamines under Abiotic Stress: Metabolic Crossroads and Hormonal Crosstalks in Plants. **Metabolites**, v. 2, n. 3, p. 516-528, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais.** Brasília: MAPA/ACS, 2013. 98 p.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- BRAUC, S. et al. Overexpression of arginase in *Arabidopsis thaliana* influences defence responses against *Botrytis cinerea*. **Plant Biology**, v. 14, p. 39-45, 2012.
- BURATTO, A. P. Microencapsulação de polpa de feijoa (*Acca sellowiana*) pelo processo de secagem por atomização (*spray drying*). 2018. 136f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.
- CAI, Q. et al. Reviews of the physiological roles and molecular biology of polyamines in higher plants. **Journal Fujian Educacion College**, v. 7, p. 118–124, 2006.
- CANGAHUALA-INOCENTE, G. C. et al. Dynamics of biochemical and morphophysiological changes during zygotic embryogenesis in *Acca sellowiana* (Berg.) Burret. **Plant Growth Regulation**, v. 59, p. 103-115, 2009.
- CANGAHUALA-INOCENTE, G. C.; DAL VESCO, L. L.; STEINMACHER, D.; TORRES A. C.; GUERRA M. P. Improvements in somatic embryogenesis protocol in Feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret): Induction, conversion and synthetic seeds **Scientia Horticulturae**, v.111, p. 228-234, 2007.
- CARDOSO, J. H. Cultivo e Conservação da Feijoa: Uma Homenagem a Um Agricultor Guardião. Documentos 288 Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 26p., 2009.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: Ciência, tecnologia e produção. 4.ed. Campinas: FUNEP, 2000. 588p.
- CHEN, D. et al. Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses. **Frontiers in Plant Science**, v.9, n. 1945, p. 1–13, 2019.
- COHEN, E. et al. Participation of ornithine decarboxylase in early of tomato fruit development. **Plant Physiology**, v. 70, p. 540-543, 1982.
- DAHMER, N. Estudos sobre a germinação de sementes de goiabeira-serrana. [Resumo expandido]. **XX Congresso Brasileiro de Fruticultura**. 2008.
- DEGENHARDT, J. et al. Avaliação fenotípica de características de frutos em duas famílias de meios-irmãos de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg.) de um pomar comercial em São Joaquim, SC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 475-479, 2003.
- DEGENHARDT, J. Variação 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.
- DEKKERS, B. J. W. et al. Transcriptional dynamics of two seed compartments with opposing roles in Arabidopsis seed germination. **Plant Physiology**, v. 163, n. 1, p. 205–215, 2013.
- DIAS, R. A. R. Classificação fisiológica, composição química e mobilização de reservas de sementes de *Psidium cattleianum* Sabine. 2015. 70f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC.

DIAS-COSTA, C. 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.

DIXON, N. E. et al. Jack bean urease on the mechanism of action of urease on urea, formamide, acetamide, Nmethylurea, and related compounds. **Canadian Journal of Biochemistry**, v. 58, n. 12, p. 1335-1344, 1980.

DOCIMO, T. et al. The first step in the biosynthesis of cocaine in *Erythroxylum coca*: the characterization of arginine and ornithine decarboxylases. **Plant Molecular Biology**, v. 78, p. 599–615, 2012.

DONAZZOLO, J. et al. O armazenamento refrigerado prolonga a viabilidade de sementes de goiabeira-serrana. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 3, p. 748-754, 2015.

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.

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. **Revista Agropecuária Catarinense**, v.4, n.3, p.27-29, 1991.

ESEMANN-QUADROS, K. et al. Estudo anatômico do crescimento do fruto em *Acca sellowiana* Berg. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 296-302, 2008.

FAIAD, M.G.R. et al. Sobrevivência de *Colletrotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. em sementes de feijoa (*Acca sellowiana* Burret) durante o armazenamento. **Brasília: EMBRAPA** (**Comunicado técnico 80**), 2003.

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

FAROOQ, M. et al. Evaluating surface drying and re-drying for wheat seed priming with polyamines: effects on emergence, early seedling growth and starch metabolism. **Acta Physiologia Plantarum**, v. 33, p. 1707-1713, 2011.

FEIRER, R.P.; MIGNON, G.; LITVAY, J.D. Arginine decarboxylase and polyamines required for embryogenesis in wild carrot. **Science**, v. 223, p. 1433-1435. 1984.

FINARDI, C. Caracterização da Biologia Reprodutiva da Goiabeira-Serrana (*Acca sellowiana* Berg.). 2003. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) — Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

FINATTO, T. Caracterização morfofisiológica do sistema de incompatibilidade atuante em goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret) (Myrtaceae). 2008. 80f. Dissertação

- (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- FINATTO, T. Late-acting self-incompatibility in *Acca sellowiana* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v. 59, p. 53-60, 2011.
- FIOR, C. S. et al. Qualidade fisiológica de sementes de guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (Berg) Legrand Myrtaceae) em armazenamento. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 435-442, 2010.
- FRANÇA, S. Fruteiras nativas: preservação e lucro. Manchete Rural, v.4, p. 30-32, 1991.
- FREE, J. B. **Insect Pollination of Crops**. 2nd Enlarged Edition, Academic Press, London, p. 684, 1993.
- GALLAND, M. et al. Dynamic proteomics emphasizes the importance of selective mRNA translation and protein turnover during Arabidopsis seed germination. **Molecular and Cellular Proteomics**, v. 13, n. 1, p. 252–268, 2014.
- GALLARDO, M. et al. Inhibition of polyamine synthesis by cyclohexylamine stimulates the ethylene pathway and accelerates the germination of *Cicer arietinum* seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 91, p. 9-16, 1994.
- GOMES, J. P. et al. Secagem e Classificação de Sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret Myrtaceae quanto à Tolerância à Dessecação e ao Armazenamento. **Flor@m Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 207-2015, 2013.
- GOMES, J. P. et al. Substratos e temperaturas para teste de germinação em sementes de Myrtaceae. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 1, p. 285-293, 2016.
- GROSSI, M. et al. Inhibition of polyamine uptake potentiates the anti-proliferative effect of polyamine synthesis inhibition and preserves the contractile phenotype of vascular smooth muscle cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 231, p. 1334–1342, 2016.
- GUERRA, M.P. et al. In vitro morphogenesis in *Feijoa sellowiana*: somatic embryogenesis and plant regeneration. **Acta Horticulturae**, v. 452, p. 27-35, 1997.
- GUSMÃO, E.; VIEIRA, F. A.; FONSECA, E. M. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. Ex A. Juss.). **Cerne**, v. 12, n. 1, p. 84-91, 2006.
- HAN C., YANG P. Studies on the molecular mechanisms of seed germination. **Proteomics and Systems Biology**, v. 15, p. 1671–1679, 2015.
- HANDA A. K.; MATTOO, A. K. Differential and functional interactions emphasize the multiple roles of polyamines in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 7, p. 540-546, 2010.
- HANFREY, C. et al. Arabidopsis polyamine biosynthesis: absence of ornithine decarboxylase and the mechanism of arginine decarboxylase activity. **Plant Journal**, v. 27, p. 551–560, 2010.
- HASANUZZAMAN, M. et al. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 9643–9684, 2013.

- HOLDSWORTH, M. J.; BENTSINK, L.; SOPPE, W. J. J. Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. **New Phytologist**, v. 179, p. 33-54, 2008.
- HUANG, H.; VILLANUEVA, V. R. Inhibition of polyamine biosynthesis and seed germination in *Picea abies*. **Phytochemistry**, v. 31, p. 3353–3356, 1992.
- HUANG, Y. et al. Exogenous spermidine improves seed germination of sweet corn via involvement in phytohormone interactions, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and relevant gene expression. **BMC Plant Biology**, v. 17, n. 1, p. 1-16, 2017.
- IELER, J. Caracterização físico-química de frutos de diferentes cruzamentos da goiabeiraserrana [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret]. 2017. 34f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) — Instituto Federal Catarinense - Campus Rio do Sul, Rio do Sul, SC.
- IELER, J. et al. Qualidade de Frutos em Diferentes Cruzamentos da Goiaba Serrana na Região do Alto Vale do Itajaí, SC. **Cadernos de Agroecologia**, v. 11, n. 2, 2017.
- KAUR-SAWHNEY, R. et al. Polyamines in plants: An overview. **Journal of Cell and Molecular Biology**, v. 2, p. 1–12, 2003.
- 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.
- 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 Regulation**, v. 33, p. 590–601, 2014.
- KRASUSKA, U.; CIACKA, K.; GNIAZDOWSKA, A. Nitric oxide-polyamines cross-talk during dormancy release and germination of apple embryos. Nitric Oxide, v. 68, n. 1, p. 38-50, 2017.
- KUCERA, B.; COHN, M. A.; LEUBNER-METZGER, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, v. 15, n. 4, p. 281–307, 2005.
- KUMAR, V. et al. Polyamines influence morphogenesis and caffeine biosynthesis in vitro cultures of *Coffea canephora* P. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, p. 217–223, 2008.
- KUZNETSOV, V. V; SHEVYAKOVA, N. I. Polyamines and Stress Tolerance of Plants. **Plant Stress**, v. 1, n. 1, p. 50-71, 2007.
- 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 Regulation**, v. 39, p. 395-410, 2019.
- LIU, J. H. et al. Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine decarboxylase pathway in stress response. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 11, p. 2589–2599, 2006.
- LIU, J.H. et al. Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. **Frontiers in Plant Science**, v.6, 827, 2015.

- 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, 2016.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 3, 352 p.
- 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.
- MAJUMDAR, R. et al. Glutamate, Ornithine, Arginine, Proline, and Polyamine Metabolic Interactions: The Pathway Is Regulated at the Post-Transcriptional Level. **Frontier Plant Science**, v. 7, n. 78, 2016.
- MALMBERG, L. R. et al. Molecular Genetic Analyzes of Plant Polyamines. Critical Reviews in Plant Sciences, v. 17, n. 2, p. 199-224, 1998.
- MARCOS-FILHO, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ; 2005. 495 p.
- MATTOS, J. R. **A goiabeira-serrana.** Porto Alegre: Instituto de Pesquisas de Recursos Naturais Renováveis, 1986, 84p.
- MENIN, D. Desenvolvimento e caracterização de geleia de feijoa (*Acca sellowiana*) com redução de teor de açúcar. 2019. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.
- MINOCHA, R.; MAJUMDAR, R.; MINOCHA, S. C. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship1. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. 2553, p. 1–18, 2014.
- MIRANDA, V. Comportamento fisiológico da germinação de sementes de *Acca sellowiana* sob déficit hídrico. 2019. 52f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- MIRZA, J. I; BAGNI, N. Effects of exogenous polyamines and difluoromethylornithine on seed germination and root growth of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Growth Regulation**, v. 10, p.163–168, 1991.
- MÜLLER, T. S. Fisiologia e metabolismo da embriogênese somática e zigótica de *Acca sellowiana* (Berg) Burret (Myrtaceae). 2008. 106f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- MUSTAFAVI, S. H. et al. Polyamines and their possible mechanisms involved in plant physiological processes and elicitation of secondary metabolites. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 6, p. 1-19, 2018.
- MUSTAFAVI, S. H.; SHEKARI, F.; ABBASI, A. Putriescine improve low-temperature tolerance of fennel seeds. **Cercetări Agronomice în Moldova**, v. 48, p. 69-76, 2015.
- NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination-still a mystery. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 574–581, 2010.
- PATTERSON, K. J. Effects of pollination on fruit set, size, and quality in feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 18, n. 2-3, p. 127-131, 1990.

PEGG, A. E. Functions of polyamines in mammals. **Journal of Biological Chemistry**, v. 291, n.29, p. 14904–14912, 2016.

PESCADOR, R. et al. Structural aspects of the zygotic embryogenesis of *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (Myrtaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 1, 2009.

PIERUZZI, F. P. et al. Polyamines, IAA and ABA during germination in two recalcitrant seeds: *Araucaria* angustifolia (Gymnosperm) and *Ocotea odorifera* (Angiosperm). **Annals of Botany**, v. 108, n. 2, p. 337–345, 2011.

PISKUREWICZ, U. et al. The Gibberellic Acid Signaling Repressor RGL2 Inhibits Arabidopsis Seed Germination by Stimulating Abscisic Acid Synthesis and ABI5 Activity. **The Plant Cell**, v. 20, n. 10, 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 Signaling and Behavior**, v. 4, n. 1, p. 63–65, 2009.

POLACCO, J. C.; MAZZAFERA, P.; TEZOTTO, T. Opinion–nickel and urease in plants: still many knowledge gaps. **Plant Science**, v. 199, p. 79-90, 2013.

PUGA-HERMIDA, M. I. et al. Polyamine contents, ethylene synthesis, and BrACO2 expression during turnip germination. **Biologia Plantarum**, v. 50, 574-580, 2006.

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing.** Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2021.

RAJJOU, L. et al. Seed Germination and Vigor. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, n. 1, p. 507–533, 2012.

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.

REGO, S. S. et al. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperatura, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 31, n.2, p.212-220, 2009.

ROCHA, M. S.; FACHINELLO, J. C; SCHUCH, M. W. Obtenção de porta-enxerto de goiabeira-serrana em diferentes épocas de transplante. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 16, n. 1, p. 248-252, 1994.

ROUBIK, D.W. Ecology and natural history of tropical bees. Camdridge University, 1989.

SÁNCHEZ-MORA, F. D. Caracterização e seleção de genótipos de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* [O. Berg] Burret) para fins de melhoramento e de cultivo. 2019. 205f. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) — Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

SÁNCHEZ-MORA, F. D. et al. Avaliação de frutos de goiabeira-serrana cultivados no meio oeste de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 33, n. 2, p. 1-9, 2020.

SANTA-CATARINA, C. et al. IAA, ABA, polyamines and free amino acids associated with zygotic embryo development of *Ocotea catharinensis*. **Plant Growth Regulation**, v. 49, n. 2–3, p. 237–247, 2006.

- SANTOS, C. M. R.; FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.14, n.2, p.13-20, 2004.
- 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, p. 111-129, 2011.
- SANTOS, K. L. et al. Domesticação da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*) no Sul do Brasil. **Agrociencia**, v. 9, n. 1, p. 29-33, 2005.
- SANTOS, K. L.; DUCROQUET, J. P. H. J.; NODARI, R. O. Caracterização genética de populações naturais de goiabeira serrana (*Acca sellowiana*) com marcadores microssatélites heterólogos. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 75-83, 2011.
- SANTOS, K. L. et al. Traditional Knowledge and Management of *Feijoa (Acca sellowiana)* in Southern Brazil. **Economy Botany**, v. 63, p. 204–214, 2009.
- SARMENTO, M. B. et al. Biometria de frutos e sementes e crescimento pós-seminal de *Acca sellowiana* (O. Berg. Burret) Myrtaceae. **Caderno de Pesquisa UNISC**, v. 30, n. 1, p. 1-8, 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.
- SARMENTO, M. B. Biometria, crescimento inicial e avaliação da qualidade fisiológica em sementes de goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* O. Berg.). 2012. 78f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Sementes) Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- SARTORI, G. V. **Potencial tecnológico da goiaba serrana** [*Acca sellowiana* (O. Berg) **Burret**]. 2018. 119f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.
- SAVVIDES, A. et al. Chemical priming of plants against multiple abiotic stresses: mission possible?. **Trends in Plant Science**, v. 21, n. 4, p. 329-340, 2016.
- SCHOTSMANS, W. C. et al. Feijoa (*Acca sellowiana* [Berg] Burret). In: YAHIA, E. M. (Ed.) Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits, p. 115-135, 2011.
- SEIDEMANN, J. Zur kenntnis der feijoa frucht (*Acca sellowiana* [O. Berg]. Burret). Deutsche Lebensmittel-Rundschau, v. 90, n. 4, p. 112-114, 1994.
- SHARPE, R. H.; SHERMAN, W. B.; MILLER E. P. Feijoa history and improvement. **Proceedings of Florida State Horticultural Society**, v. 106, p. 134-139, 1993.
- SHI, H.; CHAN, Z. Improvement of plant abiotic stress tolerance through modulation of the polyamine pathway. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 56, n. 2, p. 114-121, 2014.
- SHIRAHATA A. et al. Effects of inhibitors of spermidine synthase and spermine synthase on polyamine synthesis in rat tissues. **Biochemical Phermacology**, v. 45, n. 9, p. 1897-1903, 1993.

- SILVEIRA, V. et al. Polyamine effects on the endogenous polyamine contents, nitric oxide release, growth and differentiation of embryogenic suspension cultures of *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Plant Science**, v. 171, p. 91-98, 2006.
- SINGH P., BASU S., KUMAR G. Polyamines Metabolism: A Way Ahead for Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. In: WANI, S. H. (Ed. Academic Press) **Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress in Plants**, 2018.
- 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, 2012.
- SOUSA, K. R. et al. Polyamine, amino acid, and carbohydrate profiles during seed storage of threatened woody species of the Brazilian Atlantic Forest may be associated with seed viability maintenance. **Brazilian. Journal of Botany**, v. 39, p. 985–995, 2016.
- SOUZA, A. G. Caracterização física, química, nutricional e antioxidante em frutos e flores de genótipos de goiabeira-serrana [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret]. 2015. 168f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Centro de Ciências Agrárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC.
- SOUZA, R. S. et al. Caracterização das Frutas de Genótipos de Goiabeira-serrana Cultivados em Sistema de Base Ecológica. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 291 Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 18p., 2018.
- 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.
- TAKAHASHI, T.; KAKEHI, J. I. Polyamines: ubiquitous polycations with unique roles in growth and stress responses. **Annals of Botany**, v. 105, n.1, p. 1–6, 2010.
- TAKAHASHI, Y. et al. Characterization of the Polyamine Biosynthetic Pathways and Salt Stress Response in *Brachypodium distachyon*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 37, p. 625–634, 2018.
- TAVLADORAKI, P. et al. Polyamine catabolism: target for antiproliferative therapies in animals and stress tolerance strategies in plants. **Amino Acids**, v. 42, p. 411-426, 2012.
- THORP, T. G.; BIELESKI, R. Feijoas: origins, cultivation and uses. **HortResearch.** Ed. David, 2002.
- TIBURCIO, A.F. et al. The roles of polyamines during the lifespan of plants: from development to stress. **Planta**, v. 240, p. 1–18, 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.
- TUAN, P. A. et al. Molecular mechanisms of seed germination. In: **Sprouted Grains**. **Elsevier**, 2019. p. 1–24.
- TURRA, E. L. C. Fenologia, biologia reprodutiva e componentes de rendimento de *Acca sellowiana* no sudoeste do Paraná. 2017. 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR.

URBANO-GÁMEZ, J.A. et al. Enzymes Involved in the Biosynthesis of Arginine from Ornithine in Maritime Pine (*Pinus pinaster* Ait.). **Plants**, v. 9, n. 10, p. 1271, 2020.

VALLE, T.; FERNANDEZ, J. J.; NICOLAS, G. Effect of difluoromethylarginine and difluoromethylornithine on seed germination and on epicotyl growth in *Cicer anetinum*. **Plant Physiology Biochemistry**, v. 27, p. 113-117, 1989.

VANETTEN, C. H. et al. Amino Acid Composition of Seeds from 200 Angiospermous Plant Species. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 399-410, 1963.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VILLANUEVA, V.R.; HUANG, H. Effect of polyamine inhibition on pea seed germination. **Journal of Plant Physiology**, v. 141, p. 336-340, 1993.

VUOSKU, J. et al. Consistency of polyamine profiles and expression of arginine descarboxylase in mitosis during zygotic embryogenesis of Scots Pine. **Plant Physiology**, v. 142, n.3, p. 1027-1038, 2006.

WEITBRECHT, K.; MÜLLER, K.; LEUBNER-METZGER, G. First off the mark: Early seed germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 10, p. 3289–3309, 2011.

WIELEWICKI, A. P. et al. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 191-197, 2006.

WIMALASEKERA R., TEBARTZ F., SCHERER, G. F. E. Polyamines, polyamine oxidases and nitric oxide in development, abiotic andbiotic stresses. **Plant Science**, v. 181, p. 593-603, 2011.

WITTE, C. P. Urea metabolism in plants. Plant Science, v. 180, n. 3, p. 431-438, 2011.

WUDDINEH, W.; MINOCHA, R; MINOCHA, S. C. Polyamines in the Context of Metabolic Networks. In: ALCÁZAR, R.; TIBURCIO, A. (Eds) **Polyamines. Methods in Molecular Biology**, v. 1694. Humana Press, New York, NY, 2018.

XU, C.; WU, X.; ZHANG, H. Impact of D-Arg on drought resistance and endogenous polyamines in mycorrhizal *Pinus massoniana*. J. **Nanjing Forestry University**, v. 33, p 19–23, 2009.

XU, L. The effect of polyamineon flower bud differentiation and bud germination of chrysanthemum. **Shandong Agricultural University**, p. 31–36, 2015.

YAMAMOTO, A.; SHIM, I. S.; FUJIHARA, S. Inhibition of putrescine biosynthesis enhanced salt stress sensitivity and decreased spermidine contente in rice seedlings. **Biologia Plantarum**, v. 61, p. 385–388, 2016.

YAMAMOTO, A.; SHIM, I. S.; FUJIHARA, S. Inhibition of putrescine biosynthesis enhanced salt stress sensitivity and decreased spermidine content in rice seedlings. **Biologia Plantarum**, v. 61, p. 385–388, 2016.

YANG, J. et al. Involvement of polyamines in the post-anthesis development of inferior and superior spikelets in rice. **Planta**, v. 228, n. 1, p. 137–149, 2008.

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.

ZHAO, F.; QIN, P. Protective effect of exogenous polyamines on root tonoplast function against salt stress in barley seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 97–103, 2004.

#### 9 APÊNDICE

# APÊNDICE 1 – TESTE PRÉVIO DE GERMINAÇÃO COM INIBIDORES DE BIOSSÍNTESE DE POLIAMINAS

**Figura 7.** Dinâmica de germinação de *Feijoa sellowiana* var. Nonante nos diferentes tratamentos: Controle (**H<sub>2</sub>O**); N-(3-aminopropil) ciclohexilamina (**APCHA**); Trans-4-metilciclohexilamina (**4MCHA**); D-arginina (**D-ARG**), Difluorometilornitina (**DFMO**), D-ARG + DFMO.

