

## Estresse hídrico na germinação de sementes de tomilho (*Thymus vulgaris* - Lamiaceae)

Water stress in germination of seeds of thyme (*Thymus vulgaris* - Lamiaceae)

**Raquel Stefanello**

**Géssica Gaboardi de Bastiani**

**Luiz Augusto Salles das Neves**

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM – Santa Maria – Rio Grande do Sul - Brasil

### Resumo

Em condições de estresse hídrico as espécies apresentam sensibilidade diferenciada de acordo com a concentração do soluto no meio. Desta forma, objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito do estresse hídrico na germinação de sementes e no desempenho de plântulas de tomilho. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado e diferentes potenciais osmóticos simulados com soluções aquosas de polietileno glicol (PEG 6000). Os efeitos das soluções foram avaliados por meio dos testes de germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, comprimento e massa seca de plântulas. A redução do potencial hídrico do substrato promoveu decréscimo significativo na germinação das sementes de tomilho. Conclui-se que a germinação das sementes e o desempenho das plântulas de tomilho são afetados negativamente sob estresse hídrico a partir de  $-0,30$  MPa.

### Abstract

Species present different sensitivity to hydric stress according to solute concentration in medium. In this way, the main goal of this project was to evaluate the effects of water stress in thyme seeds germination and seedlings performance. In order to do so, we use a completely randomized experimental design as well as different osmotic potentials simulated with polyethylene glycol (PEG 6000) aqueous solutions. Effects from different solutions were evaluated by germination tests; first count, germination speed index, length and seedlings dry mass. We observed that reduction in water potential from substrate resulted in a significant decrease in thyme seeds germination. Therefore, we conclude that thyme seeds germination, as well as seedlings performance, are negatively affected by water stress from  $-0.30$  MPa.

### Palavras-chave

PEG 6000. Processo germinativo. *Thymus vulgaris*.

### Keywords

PEG 6000. Germination process. *Thymus vulgaris*.

## 1. Introdução

Durante o processo de germinação das sementes é necessário que existam condições favoráveis de luz, temperatura, oxigênio e disponibilidade de água (Carvalho e Nakagawa, 2012). A água é o agente ativador de uma série de reações de degradação e síntese, assim como crescimento e diferenciação de tecidos durante o processo de transformação do embrião em plântula (Peske et al., 2012). As sementes respondem diferentemente à quantidade de água no substrato sendo que quando em excesso pode tanto inibir como promover a germinação (Cardoso, 2012).

A compreensão das relações hídricas é importante para o entendimento do processo germinativo das sementes em situações de estresse. O estresse exerce um papel relevante na determinação de como o clima e o solo limitam a disposição das espécies vegetais (Taiz e Zeiger, 2013). Um dos produtos comumente utilizados em laboratório para simular o estresse hídrico é o polietileno glicol 6000 (PEG 6000), que é quimicamente inerte e apresenta alto peso molecular, não pode passar pela parede celular e, portanto, é utilizado para avaliar a resistência à seca no estágio de germinação e criar diferentes níveis de potencial hídrico (Hellal et al., 2018).

O estudo da propagação das plantas em diferentes níveis de potencial hídrico simulado vem sendo realizado por vários pesquisadores, no entanto, não foram identificados trabalhos que avaliaram os efeitos do PEG 6000 na germinação de sementes de tomilho. O tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é uma planta da família Lamiaceae, cultivada através de sementes, distribuída em países subtropicais. Seus componentes principais são os fenóis, timol (40%) e carvacrol (15%) (Segvić et al., 2007). O timol tem sido estudado em decorrência de seus efeitos bacterianos e antifúngicos, já o carvacrol por seu efeito bactericida (Vieira de Melo et al., 2000). Devido ao efeito antifúngico desta espécie, os extratos podem ser usados na agricultura como fungicida, pela capacidade de se decompor rapidamente após o uso e ser seguro para organismos vivos, especialmente insetos benéficos (Branauškiene et al., 2003). Sua propagação ocorre via sementes, preferindo regiões secas, áridas, expostas ao sol e solos arenosos e calcários, devendo ser evitada a umidade e terras compactadas (Castro e Chemale, 1995).

Dada a relevância deste tema e a escassez de informações sobre estresses abióticos em sementes da família Lamiaceae, objetivou-se com esse trabalho avaliar o efeito do estresse hídrico na germinação de sementes e no desempenho de plântulas de tomilho.

## 2. Material e métodos

Para as avaliações do efeito do estresse hídrico na germinação de sementes de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), utilizou-se solução aquosa de polietileno glicol nas concentrações correspondentes a zero; -0,10; -0,20; -0,30 e -0,40 MPa. No nível zero (testemunha) se utilizou somente água destilada. A quantidade de PEG necessária para obtenção dos diferentes potenciais foi obtida em Vilella et al. (1991).

O potencial fisiológico das sementes foi avaliado em câmara B.O.D, com regime de 24 horas de luz, através do teste de germinação realizado em caixas plásticas transparentes com quatro repetições de 100 sementes. As sementes foram acondicionadas sobre três folhas de papel *germitest* umedecidas com água destilada ou com as respectivas soluções de PEG 6000 na proporção de 2,5 vezes o peso seco do papel. Após a semeadura, as caixas plásticas foram mantidas na temperatura de 20 °C, sendo a primeira contagem de germinação realizada após sete dias e a última aos 21 dias (quando foi finalizado o teste). Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais (Brasil, 2009). Para avaliação do índice de velocidade de germinação (IVG), as contagens das sementes germinadas foram efetuadas diariamente, no

mesmo horário utilizando-se como critério de germinação, a protrusão da raiz primária. O IVG foi calculado empregando-se a fórmula de Maguire (1962).

Para avaliação do comprimento, as plântulas normais foram obtidas a partir da semeadura de quatro repetições de 20 sementes umedecidas com água destilada ou solução. Os rolos de papel contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação por sete dias, à temperatura de 20 °C, quando então, foi avaliado, aleatoriamente, o comprimento total, da parte aérea e da raiz de 10 plântulas em cada repetição, com o auxílio de uma régua milimetrada. O comprimento médio das plântulas foi obtido somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas normais mensuradas, com resultados expressos em centímetros (cm). Em seguida, as dez plântulas normais de cada repetição resultantes do teste de comprimento foram mantidas em sacos de papel, em estufa com temperatura de 60 °C, até a obtenção de massa constante (48 h). Posteriormente, as plântulas foram novamente pesadas em balança de precisão, com resolução de 0,001 g, sendo os resultados expressos em miligramas (mg).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, onde os tratamentos constituíram-se das diferentes concentrações de PEG 6000. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e, quando constatado efeito significativo, foi realizada a análise de regressão pelo programa Sisvar (Ferreira, 2011).

### 3. Resultados e discussões

Através da análise dos dados de germinação das sementes de tomilho verificou-se diferença em função dos potenciais osmóticos da solução (Fig. 1). Na ausência do polietileno glicol, as sementes apresentaram em média germinação de 89%, observando-se decréscimo significativo nas demais concentrações de PEG 6000, alcançando valores inferiores a 50% a partir do potencial -0,30 MPa (Fig. 1A).

Os resultados de vigor obtidos na primeira contagem de germinação e no IVG indicaram redução da percentagem de plântulas normais e da velocidade de germinação com o decréscimo do potencial hídrico da solução (Fig. 1A e B). Resultados semelhantes foram encontrados por Machado et al. (2017), onde observaram redução na percentagem de plântulas na primeira contagem de germinação de sementes de crambe (*Crambe abyssinica*) sob estresse hídrico a partir de -0,20 MPa. Além disso, Arcoverde et al. (2017) concluíram que a redução da disponibilidade hídrica do substrato a partir do potencial hídrico de -0,20 MPa prejudicou a germinação e o crescimento de plântulas de niger (*Guizotia abyssinica*) e Stefanello et al. (2017) verificaram redução na porcentagem de germinação de sementes de chia (*Salvia hispanica*) e linhaça (*Linum usitatissimum*), com o aumento da concentração de PEG 6000 até -0,30 MPa. Adicionalmente, o potencial hídrico a partir de -0,30 MPa torna-se uma condição limitante na germinação e desenvolvimento de plântulas normais de canola (*Brassica napus*) (Santos et al., 2012).

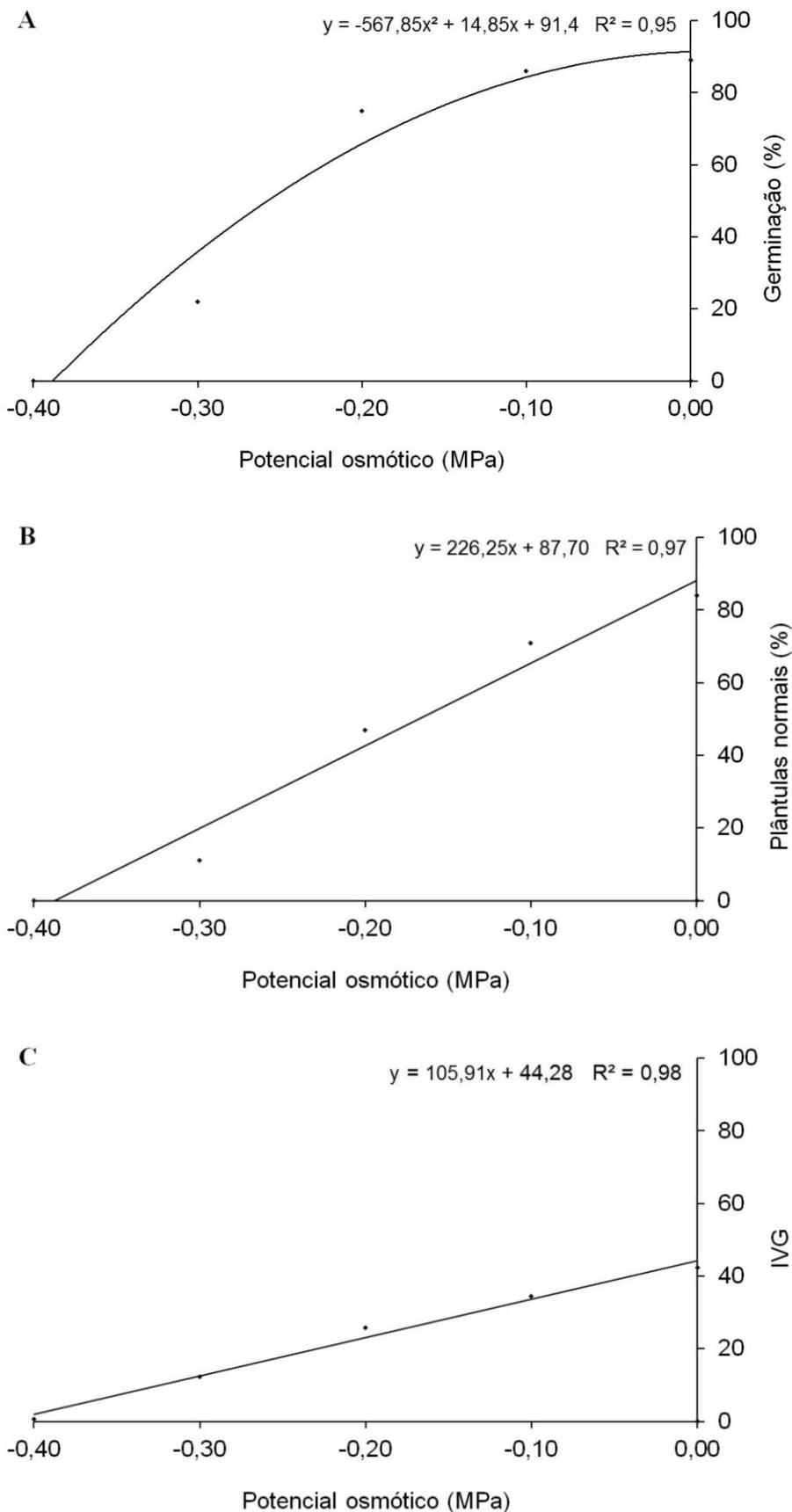


Figura 1. Germinação (A), primeira contagem (B) e índice de velocidade de germinação – IVG (C) de sementes de tomilho submetidas a diferentes potenciais osmóticos em solução de polietileno glicol.

De acordo com Cardoso (2012), a germinação depende do potencial da água com impacto similar ao efeito do decréscimo da temperatura na faixa infra-ótima. Portanto, assim como a temperatura, a diminuição do potencial da água resulta em menores taxas de germinação, até um valor mínimo de potencial de água. As respostas das células ao estresse incluem alterações na divisão e no ciclo celular, modificações no sistema de endomembranas, bem como mudanças na arquitetura da parede celular (Taiz e Zeiger, 2013).

As plantas submetidas à falta de água podem apresentar diferentes modelos de percepção desse fator de estresse, que podem ser definidos pela característica de tolerância à seca pertencente a cada espécie. As células individuais de um órgão submetido à restrição hídrica apresentam alterações no volume, acompanhadas de modificações na água e potencial osmótico (Feng et al., 2016). Quando as sementes são embebidas previamente em uma solução de PEG se induz um potencial hídrico mais negativo, impedindo a absorção de água, podendo retardar a protrusão da raiz primária, reduzir a percentagem de sementes que completam o processo ou inibir completamente a germinação (Cardoso, 2012; Velázquez-Márquez et al., 2015).

Em relação ao comprimento de plântulas de tomilho (Fig. 2A), verificou-se redução de 3,43 cm (total), 2,6 cm (raízes) e 0,9 cm (parte aérea) para 0 cm quando as plântulas foram expostas a -0,4 MPa, ou seja, não ocorreu a formação de plântulas normais na maior concentração de PEG utilizada. Da mesma forma, a massa seca decresceu de 0,9 mg para 0 mg (Fig. 2B).

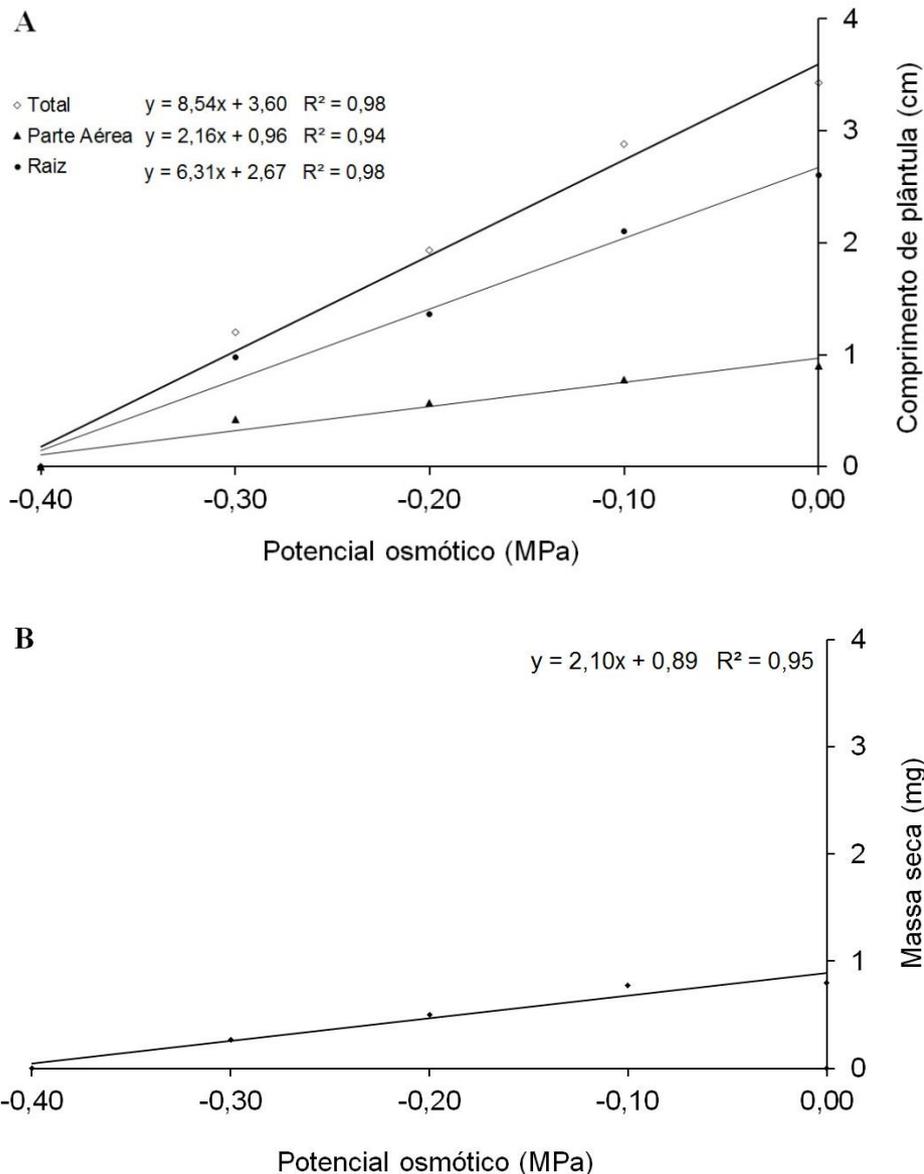


Figura 2. Comprimento (A) e massa seca (B) de plântulas de tomilho submetidas a diferentes potenciais osmóticos em solução de polietileno glicol.

Os resultados deste estudo corroboram com os realizados em cevada (*Hordeum vulgare*) onde o comprimento da parte aérea, o comprimento da raiz, a percentagem de germinação e o peso seco diminuíram quando as sementes foram expostas a diferentes níveis de estresse induzidos com polietileno glicol (Hellal et al., 2018). Além disso, Almeida et al. (2018) observaram que as sementes de café (*Coffea arabica*) germinadas sob estresse hídrico apresentaram redução do comprimento da raiz primária em relação àquelas do controle e Santos et al. (2018) concluíram que quando os potenciais hídricos diminuíram, o comprimento das raízes das plântulas de ipê-roxo (*Handroanthus impetiginosus*) foi reduzido, sendo o efeito mais evidente a partir do potencial osmótico de -0,20 MPa. Similarmente, Arcoverde et al. (2017) verificaram que houve decréscimo do comprimento da parte aérea das plântulas de niger (*Guizotia abyssinica*) conforme redução do potencial hídrico do substrato e, próximo dos potenciais hídricos de -0,40 e -0,35 MPa, não houve formação de parte aérea. Já para a massa seca da raiz, ocorreu o decréscimo em seus valores conforme houve redução do potencial hídrico do substrato.

Por fim, os resultados do teste de germinação e vigor demonstraram que a redução do potencial hídrico do substrato promoveu decréscimo significativo na germinação das sementes e no crescimento inicial de plântulas de tomilho. Esses resultados são de importância ecológica, pois demonstram que as sementes desta espécie apresentam baixa tolerância ao estresse hídrico, necessitando de condições particulares de água para sua germinação. Essa baixa tolerância ao estresse hídrico confere ao tomilho um caráter não adaptativo e indica que a espécie apresenta baixa capacidade de estabelecimento em locais com restrição hídrica, devido aos estreitos limites de germinação.

#### 4. Conclusões

A germinação das sementes e o desempenho das plântulas de tomilho são afetados negativamente sob estresse hídrico a partir de -0,30 MPa.

#### Referências

1. ALMEIDA, J.A.S.; AZEVEDO, M.T.V.L.G.; SALOMON, M.V.; MEDINA, P.F. Water stress in germination, growth and development of coffee cultivars. *Journal of Seed Science*, v. 40, n. 1, p. 082-089, 2018.
2. ARCOVERDE, S.N.S.; MARTINS, E.A.S.; MELO, R.M.; HARTMANN FILHO, C.P.; GORDIN, C.R.B. Germinação e crescimento de plântulas de niger sob diferentes disponibilidades hídricas do substrato e regimes de luz. *Revista Engenharia na Agricultura*, v. 25, n. 4, p. 344-353, 2017.
3. BRANAUSKIENE, R.; VENSKUTONIS, P.R.; VISKELIS, P.; DARBRAUSKIENE, E. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 51, p. 7751-7758, 2003.
4. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399p.
5. CARDOSO, V.J.M. Germinação. In: KERBAUY, G.B. *Fisiologia vegetal*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2012, p. 386-408.
6. CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5 ed. Jaboticabal: Funep, 2012, 590p.
7. CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. *Plantas medicinais: condimentares e aromáticas*. Guairá: Agropecuária, 1995.194 p.
8. FENG, W.; LINDNER, H.; ROBBINS, N.E. & DINNENYA, J. R. Growing out of stress: The role of cell and organ-scale growth control in plant water-stress responses. *The Plant Cell*, v. 28, p. 1769-1782, 2016.
9. FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
10. HELLAL, F.A.; EL-SHABRAWI, H.M.; ABD EL-HADY, M.; KHATAB, I.A.; EL-SAYED, S.A.A.; ABDELLY, C. Influence of PEG induced drought stress on molecular and biochemical constituents and seedling growth of Egyptian barley cultivars. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, v. 16, p. 203-212, 2018.

11. MACHADO, F.H.B.; DAVID, A.M.S.S.; CANGUSSÚ, L.V.S.; FIGUEIREDO, J.C.; AMARO, H.T.R. Physiological quality of seed and seedling performance of crambe genotypes under water stress. *Revista Brasileira de Engenharia Ambiental*, v. 21, n. 3, p. 175-179, 2017.
12. 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.
13. PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. *Sementes: Fundamentos Científicos e Tecnológicos*. 2ª ed. Pelotas, UFPel, 2012, 573 p.
14. SANTOS, A.; SCALON, S.P.Q.; MASETTO, T.E.; NUNES, D. P. Disponibilidades hídricas do substrato na qualidade fisiológica de sementes de canola com diferentes teores de água. *Agrarian*, v. 5, p. 356-364, 2012.
15. SANTOS, P.C.S.; BENEDITO, C.P.; ALVES, T.R.C.; PAIVA, E.P.; SOUSA, E.C.; FREIRES, A.L.A. Water stress and temperature on germination and vigor of *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC). *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 22, n. 5, p. 349-354, 2018.
16. SEGVIC, K.M.; KOSALEC, I.; MASTELIC, J.; PIECKOVÁ, E.; PEPELJNAK, S. Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology*, v. 44, n. 1, p. 36-42, 2007.
17. STEFANELLO, R.; VIANA, B.B.; NEVES, L.A.S. Resposta fisiológica de sementes de chia e linhaça ao estresse hídrico. *Iheringia, Série Botânica*, v. 72, n. 2, p. 161-163, 2017.
18. TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 5 ed. Porto Alegre: Artimed, 2013, 954p.
19. VELAZQUEZ-MARQUEZ, S.; CONDE-MARTÍNEZ, V.; TREJO, C.; DELGADO-ALVARADO, A.; CARBALLO, A.; SUAREZ, R.; MASCORRO, J.O.; TRUJILLO, A.R. Effects of water deficit on radicle apex elongation and solute accumulation in *Zea mays* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 96, p. 29-37, 2015.
20. VIEIRA DE MELO, S.A.B.; COSTA, G.M.N.; GARAU, R.; CASULA, A.; PITTAU, B. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* Linn. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 17, n. 3, 2000.
21. VILLELA, F.A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.