



FÁBIO JOSÉ FILARDI VASQUES

**DOSES DE ZINCO NA GERMINAÇÃO DE *Handroanthus
heptaphyllus*(Vell.) MATTOS**

LAVRAS – MG

2022

FÁBIO JOSÉ FILARDI VASQUES

**DOSES DE ZINCO NA GERMINAÇÃO DE
Handroanthusheptaphyllus(Vell.) MATTOS**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de
Lavras, como parte do cronograma
acadêmico de Graduação em
Ciências Biológicas, para a
obtenção do título de bacharel.

Prof (a). Dr. (a) Elisa Monteze Bicalho

Orientador (a)

Mateus Moreira Bernardes

Coorientador (a)

LAVRAS – MG

2022

FÁBIO JOSÉ FILARDI VASQUES

DOSES DE ZINCO NA GERMINAÇÃO DE *Handroanthusheptaphyllus* (Vell.) MATTOS

**DOSES OF ZINC ON THE GERMINATION OF *Handroanthusheptaphyllus* (Vell.)
MATTOS**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de
Lavras, como parte do cronograma
acadêmico de Graduação em
Ciências Biológicas, para a
obtenção do título de bacharel.

APROVADA em 26 de setembro de 2022.

Dr. Aline Aparecida Silva Pereira UFLA

Ms. Ana Maria Oliveira Ferreira UFLA

Ms. Mateus Moreira Bernardes UFLA

Prof (a). Dr (a). Elisa Monteze Bicalho

Orientador (a)

LAVRAS – MG

2022

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	8
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
a. Delineamento Experimental.....	11
b. Material vegetal.....	12
c. Curva de embebição.....	12
d. Montagem do experimento.....	13
e. Parâmetros germinativos e termoestabilidade de membrana	14
f. Quantificação de peróxido de hidrogênio	14
g. Análise estatística	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	

RESUMO

Handroanthus heptaphyllus é uma espécie arbórea da família Bignoniaceae, nativa da Mata Atlântica. Esta espécie ocorre em diversos domínios de vegetação, mas neste trabalho iremos focar em sua ocorrência no Cerrado. A espécie estudada é imune ao corte. O Cerrado brasileiro é considerado área prioritária para conservação da biodiversidade, está situado na parte central do Brasil, entre as latitudes 6 e 20"s ocupando cerca de 180×10^6 ha, sendo um terço desta área usado pela agricultura mecanizada. Este bioma apresenta grande maioria dos solos pobres em micronutrientes. Entretanto, observa-se um aumento das concentrações de Zn nos solos do Cerrado como um resultado das atividades antrópicas. Nas plantas, a toxicidade do Zn aumenta com sua biodisponibilidade, pois é pouco móvel. Este último depende de diversos fatores, como pH, exsudato radicular, comunidades microbianas e matéria orgânica do solo, que limitam ou promovem sua biodisponibilidade. O excesso de Zn pode alterar o desenvolvimento da planta. No entanto, algumas plantas desenvolveram a capacidade através de tolerância e adaptação climática de crescer em ambientes com altas concentrações de Zn onde as sensíveis não conseguem. Os objetivos principais são avaliar os efeitos de diferentes doses de Zn na germinação de sementes de *Handroanthus heptaphyllus* e se essas doses favorecem ou não a germinação das sementes desta espécie. As principais hipóteses são: as doses de Zn irão causar efeitos de estresse/dano na germinação; ou os efeitos serão de melhora na germinação das sementes de *H. heptaphyllus*. Foram feitas a montagem do experimento com a solução de zinco em quatro diferentes doses (0, 75, 150 e 200 mg.L⁻¹), estas doses que foram utilizadas foram tiradas de um outro trabalho de germinação no Cerrado com uma outra espécie, as coletas das sementes nas fases 2 e de três dias de germinação, as análises de maceração, extração e quantificação do peróxido de hidrogênio e o teste de termoestabilidade e determinaram-se os parâmetros germinativos. A velocidade de germinação foi maior nas doses mais altas de zinco, as doses mais altas melhoraram a germinação e a termoestabilidade, a dose de 150 mg.L⁻¹ manteve os níveis de peróxido de hidrogênio elevado e durante o período seco ocorreu drástica queda do peróxido de hidrogênio até atingir fase 2. O Zn atua na melhoria da germinação e vigor das sementes, podemos ver isso na dose de 150 mg.L⁻¹.

Palavras-chave: Velocidade de germinação. Peróxido de hidrogênio.

ABSTRACT

Handroanthus heptaphyllus is a tree species in the Bignoniaceae family, native to the Atlantic Forest. This species occurs in several domains of occurrence, but in this work, we will focus on its occurrence in the Cerrado. This species is immune to cutting. The Cerrado is considered a priority area for biodiversity conservation, located in the central part of Brazil, between latitudes 6 and 20° occupied about 180 x 106 ha, one of this area being mechanized agriculture. Most soils are poor in micronutrients. However, an increase in Zn growth toxicities is observed in soils. However, some changes in pH can promote the ability by altering and modifying the plant's development to grow in large with Zn effects where assessment cannot. Different doses of Zn in the germination of seeds of *Handroanthus heptaphyllus* and these doses favor or not the germination of the seeds of this species. of *H. heptaphyllus*. The experiment was set up with a zinc solution at four different doses (0, 75, 150 and 200 mg.L⁻¹), these doses and were taken from another germination work in the Cerrado with another species, the collections of seeds in phases 2 and three days of germination, the analysis of maceration, extraction and quantification of hydrogen peroxide and the thermostability test and germination parameters were determined. The speed of germination was at the highest doses of zinc, as higher doses improved germination and thermostability, a dose of 150 mg.L⁻¹ maintained high levels of hydrogen peroxide and during the dry period there was a drastic drop in peroxide. of hydrogen until reaching phase 2. Zn acts to improve seed germination and vigor, we can see this at a dose of 150 mg.L⁻¹.

Keywords: Germination speed. Hydrogen peroxide.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Handroanthusheptaphyllus*, também conhecida como ipê-rosa, pertence à família Bignoniaceae da ordem Lamiales, que possui cerca de 120 gêneros, sendo 100 espécies incluídas atualmente nos gêneros *Handroanthus* e *Tabebuia* (LORENZI, 1992). *H. heptaphyllus* pode ser encontrada em regiões de climas tropical úmido e subúmido, climas tropical e subtropical de inverno seco e subtropical, com verão quente, de acordo com a classificação de Köppen. Ocorre em ambientes de regime pluvial uniforme, pode a precipitação ser variável no ano, entretanto tolera déficit hídrico moderado e temperatura média anual entre 18 e 26° C (CARVALHO, 2003).

O domínio Cerrado abrange aproximadamente 33% do território do Estado de São Paulo, mas, atualmente, existem fragmentos isolados de Cerrado que correspondem a menos de 7% de sua área original. Uma das consequências da remoção natural da vegetação e degradação do solo é a perda de fertilidade química, ou seja, redução do teor de nutrientes (CASAGRANDE, 2012).

No Cerrado a maioria dos solos são profundos e bem drenados pela lixiviação de nutrientes. A predominância das argilas de baixa atividade (exemplo de caulinita e óxidos de ferro) é responsável pela maior parte do comportamento do solo, principalmente em termos de troca iônica, retenção de água e características de adsorção de fosfato. O teor de matéria orgânica é maior do que na maioria das condições tropicais e é importante, particularmente como fonte de nutrientes (GOEDERT, 1983).

Nas áreas de Cerrado, onde o agronegócio trouxe um novo cenário de entrada de agrotóxicos, resíduos orgânicos e inorgânicos e fertilizantes levaram ao aumento dos teores de elementos potencialmente tóxicos no solo, como este elemento (MARQUES et al., 2004). Segundo Faquin (2005) a concentração ótima de zinco, de acordo com as espécies, varia de 20 a 120 mg/kg na matéria seca das plantas, e as deficiências do nutriente são usualmente associadas com teores <20 mg/kg e toxidez >400 mg/kg. É importante ressaltar que o Zn em altas concentrações, é potencialmente tóxico para as plantas (LI et al., 2002) e que sua toxidez em plantas pode favorecer a redução da produção de matéria seca da parte aérea, quanto da biomassa radicular; necrose da radícula ao entrar em contato com o solo; morte da plântula e inibição do crescimento vegetal (CARNEIRO et al., 2002; LI et al. 2011).

As plantas do Cerrado enfrentam características comuns do meio, tais como: elevada acidez, toxidez de alumínio, alta deficiência de nutrientes, alta capacidade de fixação de fósforo e baixa capacidade de troca de cátions (CHAVES, 2001). Estas têm mostrado diferentes estratégias para lidar com altos níveis de metais como o Zn em seu ambiente de crescimento (SIDHU, 2016).

O efeito do Zinco (Zn) esperado na germinação das sementes é negativo, embora dependa da espécie vegetal e da concentração (LOPES, 2010). O Zn é um elemento essencial e altamente importante sobre seu papel biogeoquímico nos sistemas solo-planta (BROADLEY et al., 2007; CASTILLO-GONZÁLEZ et al., 2018; NRIAGU, 2019). O Zn pertence ao grupo de elementos traços essenciais que são vitais em pequenas quantidades para os organismos vivos para funções metabólicas normais (STURIKOVA et al., 2018). No entanto, esse elemento traço essencial pode se tornar letal para a biologia vegetal acima das concentrações supra-ótimas (NRIAGU, 2019). Portanto, um fornecimento ideal de Zn para as plantas é crucial para que as funções metabólicas normais se mantenham sem deficiência de Zn ou fitotoxicidade (STURIKOVA et al., 2018).

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes doses de Zn em sementes de *H. heptaphyllus*. As principais hipóteses é que as doses de Zn irão causar efeitos de condição estressante na germinação ou os efeitos sejam de melhora na germinação das sementes de *H. heptaphyllus*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

O Cerrado brasileiro é considerado a savana mais rica do mundo, sendo um *hotspot* de biodiversidade, e faz encontro com a Caatinga, Mata Atlântica, Pantanal e Floresta Amazônica (BARBOSA, 2014). Nesse bioma de características semi-áridas e fitofisiologias de vegetação xeromórficas, apenas 3% deste bioma são protegidos legalmente por meio de unidades de conservação de proteção integral como, por exemplo, parques nacionais (FRANÇOSO et al., 2015).

O ipê-rosa (*H. heptaphyllus*) é uma árvore semi-heliófila, caducifólia, decídua, hermafrodita e secundária tardia a clímax que ocorre em algumas regiões do domínio Cerrado e pode atingir de 10 a 35 metros de altura com diâmetro de até 80 cm, apresenta um tronco cilíndrico reto, folhas caducas opostas, compostas, digitadas, serreadas e glabras, de 5 a 7 folíolos oblongos, coriáceos e denteados (CARVALHO, 2003).

Nativa da Mata Atlântica, de ocorrência principal em vegetação secundária nas Florestas Estacional Semidecidual e Decidual e Florestas Ombrófila Densa a Mista, do Pantanal mato-grossense e ChacoSul-Matogrossense, esta possui flores hermafroditas na cor variável de roxa à rosa escuro, inflorescência paniculada, frutos secos deiscentes do tipo cápsula ou siliqua alongada, sinuoso, estriado, e com sementes aladas e achatadas. É uma espécie facilmente cultivada em quase qualquer estado de umidade. Sua floração vistosa e exuberante surge entre os meses de julho a setembro, enquanto sua frutificação de setembro a outubro (CARVALHO, 2003).

Nas plantas, a toxicidade do zinco (Zn) aumenta com sua biodisponibilidade, este depende de diversos fatores, como pH, exsudato radicular, comunidades microbianas e matéria orgânica do solo, que limitam ou promovem sua biodisponibilidade (DUPLAY, 2014; KWON et al., 2017; WYSZKOWSKI e MODRZEWSKA, 2016). O zinco tem um papel central na estrutura da cromatina, expressão e regulação gênica, metabolismo de ácidos nucleicos, carboidratos, lipídios, proteínas e carbono fotossintético (GAI et al., 2017; NOULAS et al., 2018).

Embora seja um micronutriente essencial, altas concentrações de Zn pode ser fitotóxico e reduzir a germinação das sementes (DUARTE et al., 2012). As sementes sensíveis a este elemento são dependentes da dose, variando entre as espécies de plantas (KRANNER e COLVILLE, 2011) de acordo com sua capacidade de regular a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) induzidas por Zn e danos oxidativos relacionados (GOMES et al., 2013).

Os íons Zn participam dos sistemas de defesa enzimática das células vegetais contra os danos dos radicais livres (CAKAMAK e MARCHNER, 1993) presentes na germinação. A deficiência de Zn é reconhecida mundialmente por limitar o crescimento e a produtividade das culturas, sendo assim uma condição estressante, pois é necessária uma quantidade mínima de Zn (JALAL et al., 2020b). A baixa disponibilidade de Zn tem efeitos drásticos nas atividades enzimáticas e na síntese proteica. O Zn é um dos constituintes fundamentais na síntese de triptofano, ácido indol acético (AIA) – um tipo de auxina -, proteinases, peptidases, desidrogenases e fosfohidrolases que podem melhorar a saúde do solo e das plantas (MARSCHNER, 2012; CASTILLO-GONZÁLEZ et al., 2018).

O Zn é um cofator enzimático e de proteínas, e em excesso reduz a germinação, clorofila, aminoácidos e crescimento das plantas (MANIVASAGAPERUMA et al., 2011; DONCHEVA, 2001). Também pode causar efeitos prejudiciais na cadeia de transporte de

elétrons da mitocôndria, com subsequente dano oxidativo resultante do acúmulo de ROS, interferir na via respiratória e privar as sementes da energia (ATP) necessária para o processo da germinação (GOMES, 2016).

Para sementes secas, a absorção de água ou embebição é necessária para a retomada do metabolismo e início dos eventos celulares que levam à protrusão da radícula, caso contrário as sementes secas poderão morrer sem completar a germinação. A absorção de água pelas sementes é um passo inicial essencial na germinação. Em condições ótimas de disponibilidade de água, a absorção de água pelas sementes é trifásica, refletindo diferentes processos físicos e metabólicos que impulsionam o movimento da água em cada fase. Quando uma semente seca é colocada em contato com a água, há um gradiente de potencial matricial muito grande para o movimento da água nessa. Assumindo que o tegumento da semente é permeável em alguns lugares, a água entrará na semente controladamente (de 8 a 16 horas) em resposta ao baixo potencial matricial da semente seca. A fase I, ou embebição per se, é em grande parte uma consequência das forças matriciais e a absorção de água que ocorre independentemente de como a semente esteja (dormência e viabilidade), reiniciando a atividade respiratória, síntese de enzimas e início da digestão das reservas nas sementes viáveis dormentes (BEWLEY et al., 2013).

À medida que a água é absorvida pela semente, o valor do componente matricial torna-se menos negativo à medida que os componentes celulares e as paredes celulares tornam-se hidratados e o gradiente potencial de absorção de água diminui, diminuindo a taxa de absorção de água, que se aproxima de um período de aumento lento do conteúdo de água. Internamente, o potencial osmótico das células-semente é equilibrado pela pressão de turgescência à medida que as células se aproximam da hidratação total. A absorção adicional de água durante a Fase II deve ser devido à diminuição do potencial osmótico pela mobilização limitada de reservas armazenadas dentro das células que se expandirão e convertem-se em osmoticamente ativas, como amido em açúcares ou proteínas em aminoácidos. A quebra da fitina também pode liberar íons que são osmólitos importantes nas células. Junto ao inchaço dos constituintes celulares, principalmente proteínas, durante a hidratação, causa um aumento no volume da semente que pode resultar em rachaduras da testa. Durante a Fase II, embora a absorção de água seja mínima, grandes eventos metabólicos ocorrem nas sementes. Estes eventos metabólicos como, por exemplo, as ativações da respiração e do metabolismo e a síntese enzimática, podem ser prejudicadas pela falta de ATP causados pelo zinco durante esta Fase. Nas sementes não dormentes, ocorrem na preparação

para a emergência da radícula alguns eventos adicionais. São concluídos na Fase II processos como reforma do citoesqueleto celular e reparo de danos ao DNA acumulados no armazenamento seco. Dentro de 8 h após a embebição, as subunidades de microtúbulos da proteína tubulina se organizam no citoesqueleto que está claramente associado à membrana plasmática adjacente às paredes celulares. A incorporação de nucleotídeos no DNA antes da duplicação do DNA ou divisão celular indica que o reparo do DNA é um evento inicial que ocorre durante a Fase II (BEWLEY et al., 2013).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma molécula reativa que desempenha um papel duplo nos processos fisiológicos e de desenvolvimento das plantas e na resistência ao estresse. A relação mútua entre as funções positivas e negativas desempenhadas pelo H_2O_2 em sistemas biológicos depende da concentração deste, das condições fisiológicas e das especificidades dos processos afetados pelo H_2O_2 . Assim, é difícil distinguir claramente entre os papéis benéficos (sinalizadores) e deletérios (causando danos) desempenhados pelo H_2O_2 (WOJTYLA, 2016).

Os principais processos associados à germinação envolvem a reativação do metabolismo, a retomada da respiração celular, a biogênese das mitocôndrias, o reparo do DNA, a tradução e/ou degradação de mRNAs armazenados, a transcrição e tradução de novos mRNAs e o início da mobilização de reservas, estes processos caracterizam a Fase II da germinação (BENTSIK e KOORNNEEF, 2008; NONOGAKI et al., 2010; BEWLEY et al., 2013).

A oxidação de proteínas pode alterar as funções das proteínas como resultado de modificações feitas em suas propriedades enzimáticas e de ligação (DAVIES, 2005). De fato, o acúmulo de H_2O_2 e os danos oxidativos associados, juntamente com um declínio nos mecanismos antioxidantes, podem ser considerados uma fonte de estresse que pode afetar a conclusão bem-sucedida da germinação. No entanto, H_2O_2 também é considerado um hub de sinalização para a regulação da dormência e germinação das sementes, e a regulação precisa do acúmulo de H_2O_2 pela maquinaria antioxidante celular é crucial para alcançar um equilíbrio entre a sinalização oxidativa que promove a germinação (BAILLY et al., 2008).

3. MATERIAL E MÉTODOS

a. Delineamento Experimental

O experimento foi conduzido em BODs localizadas no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas (LCDP) na Universidade Federal de Lavras (UFLA)- Lavras – MG. Foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos relacionados a doses de Zn: 0, 75, 150 e 200 mg.L⁻¹, com 5 repetições com 20 sementes cada. Para as análises de termoestabilidade e peróxido de hidrogênio foram utilizados três períodos de coleta (semente seca, 42 e 72 horas após o início de embebição). Estas doses foram baseadas em faixas de zinco encontradas naturalmente em solos do Cerrado (BICALHO et al., 2017).

b. Material vegetal

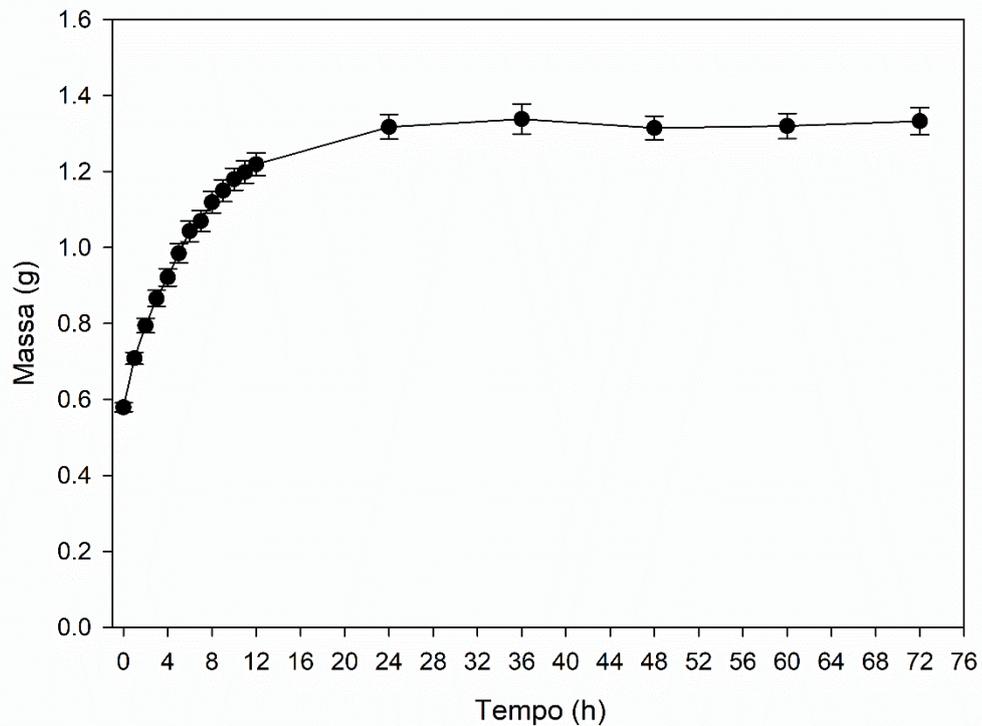
As sementes de *Handroanthusheptaphyllus* foram obtidas do Laboratório de Sementes Florestais do campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA)- Lavras –MG, tendo sido coletadas no ano de 2022. Depois de obtidas as sementes, foram armazenadas em sacos de papel kraft e colocadas na câmara de germinação a 30°C até o início dos testes.

c. Curva de embebição

A curva de embebição é necessária para verificar quanto de água foi absorvida pela semente, ou seja, qual o peso hídrico correspondente nas sementes. O peso fresco foi aferido utilizando 5 repetições de 20 sementes. Após as sementes de ipê-rosa tiveram o tegumento e as alas removidas e foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 1,0% por 5 minutos e lavadas três vezes em água deionizada e a obtenção do peso fresco inicial, as sementes foram colocadas em placas de Petri sobre papel filtro umedecido com água deionizada, mantidas a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ \text{C}$) e tendo seu peso aferido a cada uma hora durante as primeiras 12 horas. Posteriormente, foram feitas pesagens sucessivas a cada 12 horas até que houvesse a estabilização da curva ou germinação das sementes, durando 72 horas. Com isso, a curva de embebição das sementes foi construída, definiu-se os períodos correspondentes a fase II que foram utilizados como ponto de coleta para análises bioquímicas. Foi utilizada a fase II porque é a fase em que ocorre a ativação da respiração, síntese de ATP e síntese metabólica, interferindo na quantidade de energia necessária para a germinação.

Pela curva de embebição (Figura 1), foi determinado o período correspondente à fase II como sendo por volta de 42 horas após o início da embebição, momento em que a curva apresenta uma leve estabilizada.

Figura 1 – Curva de embebição de sementes de *H. heptaphyllus*.



Os valores representam média \pm erro padrão. Fonte: Do autor (2022)

Verificou-se com a curva de embebição até o ponto em que esta se estabiliza, e estima-se o tempo da curva de embebição, ficando em torno de 42 horas. Após esse tempo foi feita a primeira coleta das sementes para a Fase II da germinação, e após 30 horas (totalizando 72 horas) foi feita a segunda coleta de sementes para três dias de germinação.

d. Montagem do experimento

Retirou-se o tegumento das sementes a fim de aumentar a germinação junto com as alas para análise pré-teste da velocidade de germinação das sementes e a porcentagem de sementes germinadas de ipê-rosa. Essas foram colocadas em placas de Petri, com duas folhas de papel de germinação umedecidas com água deionizada e contadas diariamente suas germinações, contando com cinco repetições de 20 sementes cada, com total de 100 sementes. As placas de Petri foram colocadas em uma BOD à 30°C com fotoperíodo 12/12.

Foram colocadas as sementes de ipê-rosa em 20 gerbox em quatro diferentes doses de zinco: 0 (controle, apenas água), 75, 150 e 200 mg.L⁻¹ de zinco. Fez-se cinco repetições para 10 ml por gerbox de total de 20 gerbox. Nas primeiras cinco gerbox com ausência de zinco,

apenas água (controle). As gerbox foram colocadas na câmara de germinação a 30°C e fotoperíodo 12/12. Verificou-se a velocidade da germinação das sementes em diferentes doses de zinco e a diferença de germinações entre as diferentes doses até terminar todo o processo da germinação. Posteriormente coleta as sementes do papel alumínio na caixa de isopor e dos sacos plásticos e realiza-se a maceração destas sementes.

e. Parâmetros germinativos e termoestabilidade de membrana

A germinação das sementes foi acompanhada diariamente, utilizando a protrusão da radícula como critério de germinação, calculou-se a germinação acumulada (G) e índice de velocidade de germinação (MAGUIRE, 1962), de acordo com a fórmula abaixo em que:

$$IVG = \sum \frac{G1}{N1} + \frac{G2}{N2} \dots \dots \cdot \frac{Gn}{Nn'}$$

G= número de sementes germinadas, e N= dias da instalação do teste;

Além disso, determinou-se a termoestabilidade de membrana das sementes de *Handroanthusheptaphyllus* usando condutivímetro, aferida pelo índice de estabilidade da membrana celular (CMS) (SULLIVAN & ROSS, 1979) e calculada usando a seguinte fórmula:

$$\%CMS = \frac{1 - \frac{T1}{T2}}{1 - \frac{C1}{C2}} * 100$$

As letras T e C são as condutividades das amostras dos tratamentos e controle, respectivamente. T1 e T2 correspondem a primeira e segunda condutividade da solução determinada para amostras tratadas, e C1 e C2 são os respectivos valores para o controle. Os resultados foram expressos em % em relação ao controle.

f. Quantificação de peróxido de hidrogênio

Foi realizado segundo o protocolo de VELIKOVA et al. (2000). O armazenamento do material foi em N₂ líquido. Macerou-se 200 mg de MF em nitrogênio líquido com PVPP e homogeneizou-se em 1500 µL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1%. Centrifugou-se a 12000 g por 15 minutos, a 4°C. Coletou-se o sobrenadante. Retirou uma alíquota do sobrenadante (45 µL), pipetou em um eppendorf contendo soluções estoque (tampão fosfato de potássio e iodeto

de potássio) e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 390 nm. As amostras são pipetadas em duplicata. Preparou-se uma solução de H_2O_2 250 μM , proceder o preparo da curva e realizar a leitura a 390 nm. Após adicionar a solução tampão espera-se 5 minutos e depois coloca no espectrofotômetro para serem feitas todas as leituras. O espectrofotômetro lê os dados e retorna com os resultados das amostras.

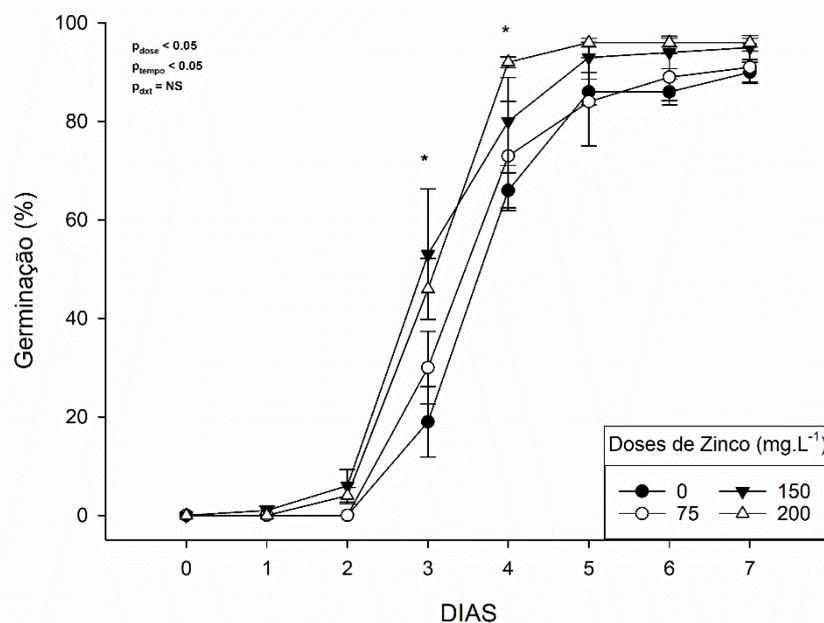
g. Análise estatística

Fez-se uma análise de variância e aplicou-se teste de médias nos dados que apresentaram normalidade a nível de significância 5% pelo teste de Tukey, utilizando-se o software livre Rbio©.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As maiores concentrações de zinco mostraram uma maior velocidade de germinação, germinando mais sementes e em maior velocidade em relação às concentrações menores de zinco, e destas com as placas de concentração de água (controle). Entre os efeitos da solução de zinco temos o adiantamento da porcentagem de germinação, e aumento da germinação ao final da contagem, sendo que após o dia 06 a % final foi igual para as duas concentrações de zinco (na Figura 2).

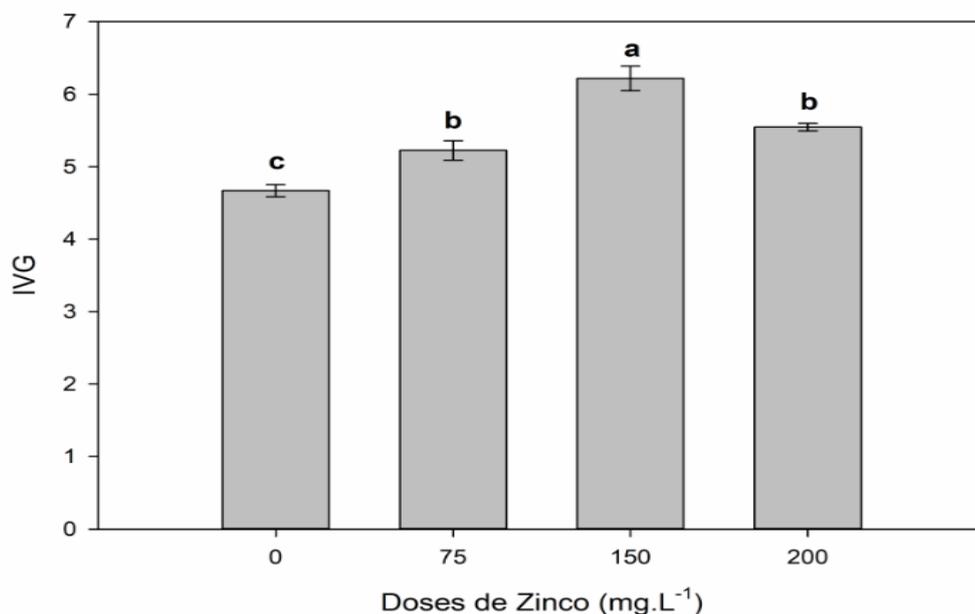
Figura 2 – Curva de germinação acumulada de sementes de *H.heptaphyllus* ao longo de 7 dias em condições de distintas doses de zinco (0, 75, 150 e 200 $mg.L^{-1}$).



As barras indicam a média e o traço erro padrão. Asteriscos indicam diferença estatística entre os dias da curva a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2022).

O ipê-rosa começou a germinar em menos de 48 horas, e após dois dias ocorreu uma explosão de germinações de sementes. Ocorreu um aumento no índice de velocidade de germinação na dose de zinco de 150 mg e também na dose de 200 mg.L⁻¹, embora estatisticamente as doses de 75 e 200 mg.L⁻¹ sejam iguais no IVG (Figura 3).

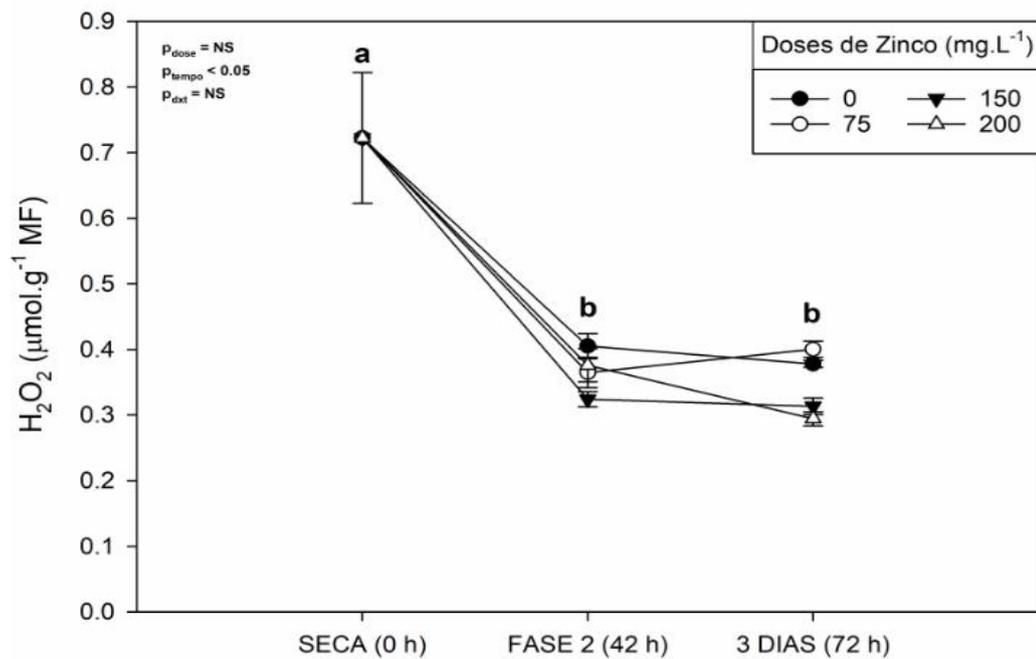
Figura 3 – Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *H. heptaphyllus* germinadas em condições de distintas doses de zinco (0, 75, 150 e 200 mg.L⁻¹)



Os valores representam média ± erro padrão. Letras comparam a diferença estatística entre as doses de zinco. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2022).

As doses de 150 mg.L⁻¹ mantêm os níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) elevado e as de 200 mg.L⁻¹ demonstrou queda de peróxido de hidrogênio. Enquanto a dose de 75 mg.L⁻¹ mostrou níveis de H₂O₂ um pouco elevado na Fase II, apesar de estatisticamente todas as doses terem reduzido na fase II e na primeira não teve diferença (Figura 4).

Figura 4 – Níveis de peróxido de hidrogênio de sementes de *H. heptaphyllus* em 3 fases (Seca – 0h; Fase II – 42h após embebição e 3 dias – 72h após embebição) em condições de distintas doses de zinco (0, 75, 150 e 200 mg.L⁻¹).

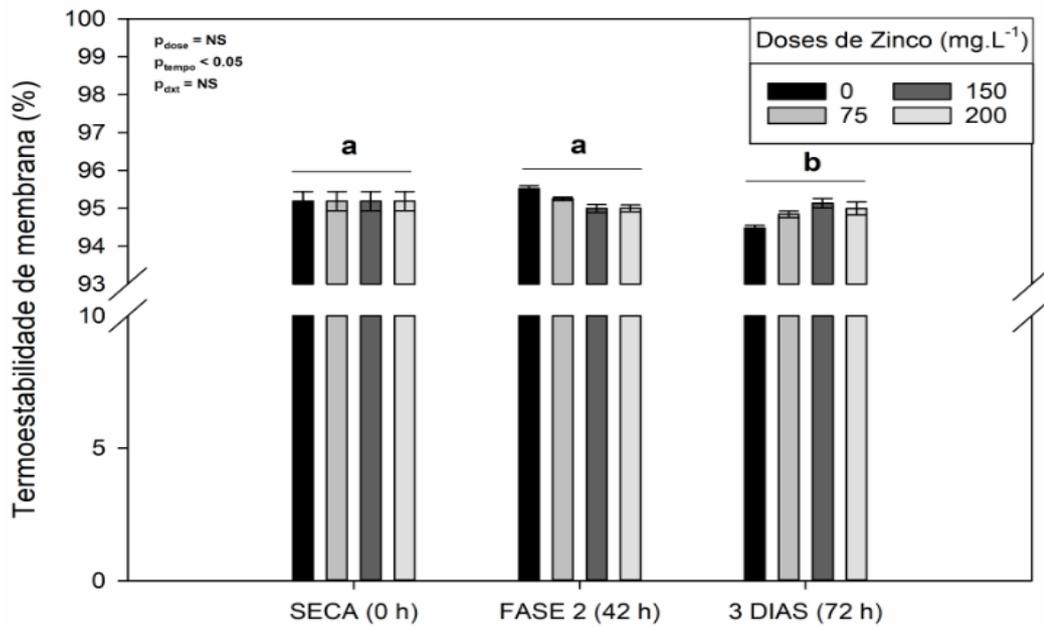


Os valores representam média \pm erro padrão. Letras comparam a diferença estatística entre as fases em que foram realizadas as coletas. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2022).

Nas sementessecas a quantidade de peróxido estava elevada, depois o peróxido foi decaindo de quantidade até atingir a Fase 2. Na Fase 2 as quantidades de peróxido começaram a variar pouco, sendo alcançada primeiro pela dose de 150 mg.L⁻¹ e houve uma queda menor de peróxido nas doses de 0 mg.L⁻¹ e 150 mg.L⁻¹ e um leve aumento da dose de 75 mg.L⁻¹. No período referente a 3 dias após a embebição as doses de zinco permaneceram, não houve queda nem aumento em relação à fase II (Figura 4).

As doses mais altas de zinco foram as que melhoraram a germinação, principalmente a dose de 150 mg.L⁻¹, elas melhoram a termoestabilidade ou mantêm, ou seja, pode ser um tipo de estratégia. As sementes conseguiram manter a estabilidade de membrana por mais tempo. O teste de termoestabilidade mostrou que não houve dano de membrana em todos os tratamentos. Na Fase 2 as doses de 150 mg.L⁻¹ e 200 mg.L⁻¹ tiveram um pequeno nível, enquanto na fase de 3 dias isso ocorreu com as doses de 0 mg.L⁻¹ e 75 mg.L⁻¹ (na Figura 5).

Figura 5 – Porcentagem de termoestabilidade de membrana de sementes de *H. heptaphyllus* em 3 fases (Seca – 0h; Fase II – 42h após embebição e 3 dias – 72h após embebição) em condições de distintas doses de zinco (0, 75, 150 e 200 mg.L⁻¹).



Os valores representam média \pm erro padrão. Letras comparam a diferença estatística entre as fases em que foram realizadas as coletas. Letras iguais indicam que não houve diferença estatística entre as variáveis a nível de significância de 5%. Fonte: Do autor (2022).

O aumento da velocidade de germinação das doses de 75 mg.L⁻¹ e 150 mg.L⁻¹ de zinco proporcionaram protrusão da radícula. Houve uma queda nos níveis de peróxido de hidrogênio até atingir a fase 2. Na Fase 2 a absorção de água é mínima, e o nível de peróxido cai acentuadamente e o peróxido sintetizado pelas sementes é utilizado pelas doses de 0 mg.L⁻¹ e 200 mg.L⁻¹, ou seja, o peróxido é degradado juntamente com reservas para a preparação do crescimento e desenvolvimento do embrião. As fases seca e 2 foram iguais estatisticamente.

5. CONCLUSÃO

Podemos concluir que o zinco nas doses deste trabalho favorece a germinação do ipê-rosa, aumentando a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação, aumentando o vigor das sementes. O zinco não altera a termostabilidade de membrana, mantendo a estabilidade de membrana por mais tempo e não há dano de membrana.

Espécies com características semelhantes de tolerância ao zinco e nativas de habitats savânicos como o Cerrado podem ter um favorecimento e melhora da germinação com as doses apresentadas neste trabalho, e se forem espécies ameaçadas de extinção, pode ser algo favorável para a conservação destas espécies.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. **From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology.** C. R. Biol. 331, 806–814, 2008. doi: 10.1016/j.crvi.2008.07.022
- BARBOSA, Altair Sales. **O Cerrado está extinto e isso e isso leva ao fim dos rios e dos reservatórios de água.** Jornal Opção, Goiânia, ed. 2048, 5 a 11 out. 2014. Disponível em: <<http://www.jornalopcao.com.br/entrevistas/o-cerrado-esta-extinto-e-isso-leva-ao-fim-dos-rios-e-dos-reservatorios-de-agua-16970/>>. Acesso em: 10 out. de 2015.
- BENTSIK, L.; KOORNNEEF, M. **Seed dormancy and germination.** Arabidopsis Book 6, e0119, 2008. doi: 10.1199/tab.0119
- BEWLEY, J.D. et al. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy.** 3 ed. New York, NY: Springer, 2013.
- BICALHO, E. et al. **Integrative effects of Zn and temperature on the germination in Dimorphandra wilsonii Rizz.: Implications of climate changes.** Environmental toxicology and chemistry. V. 36. 2017. 10.1002/etc.3729.
- BROADLEY, M.R. et al. **Zinc in plants.** New Phytologist Foundation, 2007, 173, 677–702.
- CAKAMAK, I.; MARCHNER, H. **Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves.** Plant Soil 155/156, 127e130, 1993.
- CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J.; MOREIRA, F. M. S. **Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 37, p. 1629-1638, 2002.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies Arbóreas Brasileiras.** Coleção Espécies Arbóreas Brasileiras, vol. 1. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1.039p.
- CASAGRANDE, J.C.; SOARES, M.R.; MORAES, M.I.M. **Zinc and Limiting Effects on the Development of Cerrado Forest Species.** Araras, SP: Geophysical Research Abstracts, v. 14, Federal University of São Carlos, 2012.

CASTILLO-GONZÁLEZ, J. et al. **Zn Metalloenzymes in Plants**. *Interciencia*.43(4):242–248, 2018.

CHAVES, L. J. **Melhoramento e Conservação de Espécies Frutíferas do Cerrado**. 2001, Disponível em: <<http://www.sbmp.org.br/cbmp.2001/palestras/palestra.htm>>. Acesso em: 12 mar. 2008.

DAVIES, M. J. **The oxidative environment and protein damage**. *Biochim Biophys Acta*, 1703(2), 93-109, 2005. doi: 10.1016/j.bbapap.2004.08.007

DONCHEVA, S.; STONYNOVA, Z.; VELIKOVA, V. **“Influence of succinate on zinc toxicity of pea plants,”** *Journal of Plant Nutrition*, vol. 24, no. 6, pp. 789–804, 2001.

DUARTE, D.M. et al. **Toxic trace elements effects on seed germination of four Brazilian Savanna tree species**. *Seed Sci. Technol.* 40, 425–432, 2012.

DUPLAY, J. et al. **Copper, zinc, lead and cadmium bioavailability and retention in vineyard soils (Rouffach, France): The impact of cultural practices**. *Rouffach: Geoderma*, 230, 3. 18-328, 2014.

FAQUIN, V. **Nutrição Mineral de Plantas/Valdemar Faquin**. Lavras: UFLA/FAEPE. Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente, 2005.

FRANÇOSO, R. D. **Habitat loss and the effectiveness of protected areas in the Cerrado biodiversity hotspot**. *Natureza & Conservação*, v. 13, p. 35-40, Jan./June 2015. DOI: 10.1016/j.ncon.2015.04.001.

GAI, A.P.C.; SANTOS, D.S.; VIEIRA, E.A. **Effects of zinc excess on antioxidant metabolism, mineral content and initial growth of *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos and *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith**. *Environ Exp Bot* 144:88–89, 2017.

GOEDERT, W.J. **Management of the Cerrado Soils of Brazil: a review**. Planaltina: Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados/EMBRAPA, *Journal of Soil Science*, 34, 1983.

GOMES, M.P. **Modulation of *Dimorphandra wilsonii* Rizz. seed germination through H₂O₂ production in response to Zn interference of the mitochondrial electron transport chain**. *Environ Exp Bot* 128:51–58, 2016.

GOMES, M.P. et al. **The system modulating ROS content in germinating seeds of two Brazilian savanna tree species exposed to As and Zn.** *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1011–1022, 2013. doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s11738-012-1140-6>.

JALAL, A. et al. **Agro-biofortification of zinc and iron in wheat grains.** *Gesunde Pflanzen*, 72(3):227–236, 2020.

KRANNER, I.; COLVILLE, L. **Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination.** *Environ Exp Bot* 72: 93–105, 2011.

KWON, M.J. et al. **Transformation of zinc-concentrate in surface and subsurface environments: Implications for assessing zinc mobility/toxicity and choosing an optimal remediation strategy.** *Environ. Pollut.* 226, 346–355, 2017.

LI T.; et al. **Rhizosphere characteristics of zinc hyperaccumulator *Sedum alfredii* involved in zinc accumulation.** *Journal of Hazardous Materials*, v. 185, p. 818-823, 2011.

LI X.; et al. **Role of arbuscularmycorrhizal fungi in alleviation of Zn phytotoxicity and mineral nutrition of host plants.** In 17th WCSS, Thailand, 2002.

LOPES, Daniele **Plantas Nativas do Cerrado - Uma Alternativa para Fitorremediação.** v. 37, Goiânia: PUC Goiás, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Editora Plantarum, 252p., 1992.

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

MANIVASAGAPERUMAL, R. **“Effect of zinc on germination, seedling growth and biochemical content of cluster bean (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub),”** *Current Botany*, vol. 2, no. 5, pp. 11–15, 2011.

MARSCHNER P. **Mineral nutrition of higher plants**, 3rd edn. Academic Press, London, 2012.

MARQUES, L.C. et al. **Psychopharmacological assessment of *Pfaffia glomerata* roots (Extract BNT-08) in rodents.** *Phytotherapy Research*. 18, 2004, 566–572.

NOULAS, C.;Tziouvalekas, M;Karyotis, T **Zinc in soils, water and food crops.** J Trace Elem in Med Biol 49:252–260, 2018.

NRIAGU, J. **Zinc toxicity in humans.**Encyclopedia of Environmental Health, ed. 2 Elsevier, Oxford:In: Nriagu, J. (Ed.), pp. 500–508, 2019.

SIDHU, G.P.S.**Physiological, biochemical and molecular mechanisms of zinc uptake, toxicity and tolerance in plants.** J. Global Biosci. 5 (9), 4603–4633, 2016.

SULLIVAN, C. Y.; ROSS, W. M. **Screening for drought and heat resistance in grain sorghum.** In: H. Mussell& R. C. Staples (Eds), Stress physiology of crop plants, p. 263–281, Wiley Interscience, New York, 1979.

STURIKOVA, H. et al. **Zinc, zinc nanoparticles and plants.** J. Hazard. Mater. 2018, 349, 101–110.

VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. **Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines.** Plant Science, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

WOJTYLA, Łukasz et al. **Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During SeedGermination.**Front. Plant Sci. Adam Mickiewicz University in Poznan, Poznan, Poland,7:66, 2016.doi: 10.3389/fpls.2016.00066

WYSZKOWSKI, M.; MODRZEWSKA, B. **Acidity and sorption properties of Zinc-contaminated soil following the application of neutralising substances.** J. Ecology Eng. 17, 2016.