

## **Aplicação da quitosana como pré-condicionamento (prime) na indução de tolerância à seca na germinação de sementes de milho**

**Athos Rodrigues Soares Viana<sup>2</sup>, Paulo César Magalhães<sup>4</sup>, Carlos César Gomes Júnior<sup>2</sup>, Daniele Maria Marques<sup>3</sup> e Déa Alécia Martins Netto<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo CNPq.

<sup>2</sup> Estudante do Curso de Agronomia da Univ. Fed. de São João del-Rei, Bolsista PIBIC do Convênio FAPEMIG/CNPq/Embrapa.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Lavras, Bolsista Embrapa.

<sup>4</sup> Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo.

### **INTRODUÇÃO**

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta anual, robusta e ereta, resultado da seleção e domesticação da espécie pelos antigos povos da América Central, sendo depois propagado para o mundo inteiro (Paterniani et al., 2000; Magalhães et al., 2002). Atualmente no cenário agrícola brasileiro, a maior produção de milho compreende os meses de janeiro a abril (safrinha), época em que ocorre o déficit hídrico e conseqüentemente a redução no potencial produtivo da cultura (Shioga et al., 2011).

O processo germinativo se inicia com a absorção de água por embebição, entretanto, para que a semente ative seus processos metabólicos, há necessidade de ela alcançar um nível adequado de hidratação. Potenciais hídricos negativos, especialmente no começo da embebição, inviabilizam a seqüência dos eventos germinativos da semente durante a absorção de água (Fonseca; Perez, 2003).

No milho, o déficit hídrico compromete o desenvolvimento em diferentes estádios da planta, principalmente na germinação, que pode desta forma reduzir a produtividade em torno de 20 a 30% (Bergamaschi et al., 2004; Magalhães; Durães, 2006). Logo, a escassez de água provoca distúrbios morfofisiológicos apresentados nas fases iniciais de formação, histodiferenciação de tecidos e células meristemáticas da semente (Magalhães; Durães, 2006).

A busca por maior tolerância à seca vem aumentando, e a prática de aplicação de produtos para uniformizar a germinação e melhorar o desenvolvimento inicial da plântula tem recebido grande atenção por parte dos pesquisadores. O pré-condicionamento (prime) germinativo é uma técnica que visa à indução de recobrimento e estabilidade da semente a partir de compostos naturais e/ou sintéticos (Jisha et al., 2013).

A aplicação da quitosana surge como uma boa opção e vem trazendo bons resultados na agricultura, podendo aumentar o crescimento e desenvolvimento das plantas. A sua aplicação altera positivamente várias características, como aumento na altura de plantas, número de ramificações da parte aérea, número de folhas, área foliar, atributos de biomassa (Mondal et al., 2013). Estudos recentes enfatizam o potencial da quitosana para induzir tolerância ao déficit hídrico em plantas (Lizárraga-Paulín et al., 2011).

Dentro deste contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da quitosana na indução à tolerância à seca na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Estresses Abióticos em parceria com o Laboratório de Análise de Sementes (LAS), ambos na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas-MG. O genótipo de milho utilizado foi o BRS 1030, híbrido de baixa tolerância à seca, oriundo do programa de melhoramento da Embrapa.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) constando-se de quatro concentrações de quitosana (0, 1500, 3000 e 4500 ppm) em duas condições: ÁGUA (simulando condição normal) e Polietileno Glicol (PEG 8000) (simulando condição de déficit hídrico por diferença de potencial osmótico) com 5 repetições por tratamento. As sementes de milho foram colocadas em rolo de papel germitest com 20 sementes por repetição, totalizando 100 sementes para cada tratamento.

O preparo do PEG 8000 seguiu a metodologia proposta por Michel e Kaufmann (1973). Para o preparo das concentrações de quitosana, utilizou-se água acidificada (ácido acético) a 0,1%, seguindo a metodologia de Martins (2016). As sementes foram expostas às respectivas concentrações de quitosana por um minuto e em seguida foram submetidas às condições ÁGUA e PEG em um volume de 69,5 mL/repetição/bandeja.

As variáveis avaliadas foram Índice de Velocidade de Protrusão da Radícula (IVPR), Comprimento do Sistema Radicular (CSR), Número de Raízes (NR) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG), seguindo a metodologia proposta pelas Regras de Análise de Sementes (Regras..., 2009).

Para a análise estatística dos resultados, foi feita a análise de variância (ANAVA) e o teste de comparação de médias Skott-Knott, a 0,05% de significância

( $P \leq 0.05$ ), no programa Sisvar versão 4.3 (Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, Brasil).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de milho tratadas com as concentrações de quitosana não se diferenciaram estatisticamente para as condições ÁGUA e PEG para o índice de velocidade de protrusão da radícula ( $P \leq 0.05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Índice de Velocidade de Protrusão da Radícula (IVPR) em função das diferentes concentrações de quitosana nas condições ÁGUA e PEG para sementes de milho.

	Quitosana (ppm)			
	0	1500	3000	4500
ÁGUA	19,50 Aa*	19,50 Aa	19,50 Aa	20,00 Aa
PEG	19,00 Aa	19,25 Aa	19,25 Aa	19,75 Aa

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente para  $P \leq 0.05$ , pelo teste de Scott-Knott.

Letra minúscula: compara as concentrações de quitosana dentro de uma mesma condição.

Letra maiúscula: compara as condições dentro de uma mesma concentração de quitosana.

As concentrações de quitosana não diferiram para a mesma condição ÁGUA e PEG no comprimento do sistema radicular (CSR) e no número de raízes (NR) ( $P \leq 0.05$ ) (Tabelas 2 e 3). No entanto, as sementes de milho apresentaram maior CSR e NR na condição ÁGUA quando comparadas à condição PEG ( $P \leq 0.05$ ) (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2** - Comprimento do sistema radicular (CSR) em função das diferentes concentrações de quitosana nas condições ÁGUA e PEG para sementes de milho.

	Quitosana (ppm)			
	0	1500	3000	4500
ÁGUA	29,17 Aa*	31,19 Aa	32,27 Aa	31,06 Aa
PEG	9,51 Ba	8,12 Ba	12,72 Ba	11,10 Ba

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente para  $P \leq 0.05$ , pelo teste de Scott-Knott.

Letra minúscula: compara as concentrações de quitosana dentro de uma mesma condição.

Letra maiúscula: compara as condições dentro de uma mesma concentração de quitosana.

**Tabela 3** - Número de Raízes (NR) em função das diferentes concentrações de quitosana nas condições ÁGUA e PEG para sementes de milho.

	Quitosana (ppm)			
	0	1500	3000	4500
ÁGUA	5,25 Aa*	6,25 Aa	5,00 Aa	5,75 Aa

PEG	1,00 Ba	3,00 Ba	3,25 Ba	1,50 Ba
* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente para $P \leq 0.05$ , pelo teste de Scott-Knott. Letra minúscula: compara as concentrações de quitosana dentro de uma mesma condição. Letra maiúscula: compara as condições dentro de uma mesma concentração de quitosana.				

Para o índice de velocidade de germinação (IVG), as sementes de milho não apresentaram diferença estatística das concentrações de quitosana para a condição ÁGUA ( $P \leq 0.05$ ) (Tabela 4). Entretanto, na condição PEG a concentração de 3.000 ppm de quitosana foi superior estatisticamente às demais ( $P \leq 0.05$ ) (Tabela 4). Na condição ÁGUA o IVG foi maior em relação à condição PEG ( $P \leq 0.05$ ) (Tabela 4).

**Tabela 4** - Índice de Velocidade de Germinação (IVG) em função das diferentes concentrações de quitosana nas condições ÁGUA e PEG para sementes de milho.

	Quitosana (ppm)			
	0	1500	3000	4500
ÁGUA	19,50 Aa*	19,50 Aa	19,50 Aa	20,00 Aa
PEG	0,50 Bb	0,75 Bb	6,67 Ba	1,75 Bb

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente para  $P \leq 0.05$ , pelo teste de Scott-Knott.  
Letra minúscula: compara as concentrações de quitosana dentro de uma mesma condição.  
Letra maiúscula: compara as condições dentro de uma mesma concentração de quitosana.

As condições ÁGUA e PEG não ocasionaram diferenças para o IVPR. Contudo, as variáveis CSR, NR e IVG foram influenciadas positivamente pela condição ÁGUA, diferentemente da condição PEG, que restringiu o desenvolvimento da plântula. Segundo Cordero e Di Stéfano (1991), o PEG é utilizado na simulação do déficit hídrico por apresentar um potencial osmótico menor quando comparado à água, ou seja, sua função é disponibilizar gradativamente a água para as sementes.

A água disponibilizada pelo PEG não alterou o metabolismo das sementes, ocorrendo no primeiro momento a protusão da radícula (IVPR). Entretanto, nas fases posteriores ao IVPR, em que a demanda de água é maior, a condição PEG limitou o crescimento radicular (CSR e NR) e a formação da parte aérea (IVG). Estes resultados corroboram com Pereira et al. (2014), que trabalhando com sementes de plantas daninhas (*Raphanus raphanistrum* e *Senna obtusifolia*) encontraram menor IVG quando as sementes foram submetidas ao déficit hídrico induzido por PEG.

A quitosana não influenciou as variáveis IVPR, CSR, NR nas condições ÁGUA e PEG. No entanto, a exposição das sementes de milho na concentração de 3.000 ppm de quitosana proporcionou um maior IVG somente para condição PEG, não apresentando efeitos sobre a condição ÁGUA. Este fato pode ser justificado pela

quitosana ser considerada um bioestimulante, ou seja, quando aplicada nas sementes melhora a uniformidade de germinação e nas plantas aumenta a eficiência nutricional, as características de qualidade da cultura, a tolerância a estresse abiótico, entre outros (Du Jardin, 2015). Martins (2016) encontrou um IVG superior em sementes de milho (*Zea mays* L.) tratadas com concentrações menores que 3.000 ppm de quitosana. Este fato pode justificar um IVG menor para a concentração de 4.500 ppm, ocorrendo um efeito tóxico para as sementes de milho.

## CONCLUSÃO

A condição ÁGUA foi melhor que a condição PEG para as sementes de milho, como esperado.

As concentrações de quitosana utilizadas neste trabalho não interferiram nas variáveis analisadas, independentemente da condição.

## REFERÊNCIAS

BERGAMASCHI, H.; DALMAGO, G. A.; BERGONCI, J. I.; BIANCHI, C. A. M.; MÜLLER, A. G.; COMIRAN, F.; HECKLER, B. M. M. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 39, p. 831-839, 2004.

CORDERO, S. R. A.; DI STÉFANO, J. F. Efecto del estrés osmótico sobre la germinación de semillas de *Tecoma stans* (Bignoniaceae). **Revista de Biología Tropical**, San Jose, v. 39, n. 1, p. 107-110, 1991.

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 196, p. 3-14, 2015.

FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Ação do polietileno glicol na germinação de sementes de *Adenantha pavonina* L. e o uso de poliaminas na atenuação do estresse hídrico sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, p. 1-6, 2003.

JISHA, K. C.; VIJAYAKUMARI, K.; PUTHUR, J. T. Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 35, p. 1381-1396, 2013.

LIZÁRRAGA-PAULÍN, E. G.; TORRES-PACHECO, I.; MORENO-MARTÍNEZ, E.; MIRANDA-CASTRO, S. P. Chitosan application in maize (*Zea mays*) to counteract the effects of abiotic stress at seedling level. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 34, p. 6439-6446, 2011.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. **Fisiologia do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002. 23 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 22).

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. **Fisiologia da produção de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 10 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 76).

MARTINS, M. **Aplicação da quitosana em milho transgênico e não transgênico**. 2016. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2016.

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 51, n. 5, p. 914-916, 1973.

MONDAL, M. M. A.; MALEK, M. A.; PUTEH, A. B.; ISMAIL, M. R. Foliar application of chitosan on growth and yield attributes of mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). **Bangladesh Journal of Botany**, v. 42, p. 179-183, 2013.

PATERNIANI, E.; NASS, L. L.; SANTOS, M. X. O valor dos recursos genéticos de milho para o Brasil: uma abordagem histórica da utilização do germoplasma. In: UDRY, C. V.; DUARTE, W. (Org.). **Uma história brasileira do milho: o valor dos recursos genéticos**. Brasília, DF: Paralelo 15, 2000. p. 11-41.

PEREIRA, M. R. R.; MARTINS, C. C.; MARTINS, D.; SILVA, R. J. N. da. Estresse hídrico induzido por soluções de PEG e de NaCl na germinação de sementes de nabiça e fedegoso. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 687-696, 2014.

REGRAS para análise de sementes. Brasília, DF: Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Departamento Nacional de Defesa Vegetal, Coordenação de Laboratório Vegetal, 1992. 365 p.

SHIOGA, P. S.; GERAGE, A. C.; SERA, G. H.; ARAÚJO, P. M. de; BIANCO, R. **Avaliação estadual de cultivares de milho safrinha 2011**. Londrina: IAPAR, 2011. 78 p. (IAPAR. Boletim técnico, 75).