

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E  
RECURSOS NATURAIS**

**LUIZA PAIVA SILVA DE MORAES**

**CONSERVAÇÃO, GERMINAÇÃO E EFEITOS ALELOPÁTICOS DE  
*Lafoensia Glyptocarpa* KOEHNE**

**SÃO CARLOS - S.P.**

**2010**

**CONSERVAÇÃO, GERMINAÇÃO E EFEITOS  
ALELOPÁTICOS DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E  
RECURSOS NATURAIS**

**LUIZA PAIVA SILVA DE MORAES**

**CONSERVAÇÃO, GERMINAÇÃO E EFEITOS ALELOPÁTICOS DE  
*Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE**

Orientadora: Profa. Dra. Sonia Cristina Juliano Gualtieri

**Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências, área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais.**

**SÃO CARLOS - S.P.**

**2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

M827cg

Moraes, Luiza Paiva Silva de.

Conservação, germinação e efeitos alelopáticos de  
*Lafoensia glyptocarpa* Koehne / Luiza Paiva Silva de  
Moraes. -- São Carlos : UFSCar, 2011.  
112 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,  
2010.

1. Fisiologia vegetal. 2. Sementes - armazenamento. 3.  
Sementes - envelhecimento. 4. Alelopatia. 5. Sinergismo. 6.  
Deterioração controlada. I. Título.

CDD: 581.1 (20<sup>a</sup>)

**Luiza Paiva Silva de Moraes**

**CONSERVAÇÃO, GERMINAÇÃO E EFEITOS ALELOPÁTICOS DE *Lafoensia glyptocarpa* KOEHNE**

Tese apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

**Aprovada** em 04 de maio de 2010

**BANCA EXAMINADORA**

Presidente *Sônia Cristina Juliano Gualtieri*  
Profa. Dra. Sonia Cristina Juliano Gualtieri  
(Orientadora)

1º Examinador *Maria Inês Salgueiro Lima*  
Profa. Dra. Maria Inês Salgueiro Lima  
PPGERN/UFSCar

2º Examinador *Silmara Cristina Fanti*  
Profa. Dra. Silmara Cristina Fanti  
UNICEP/S. Carlos-SP

3º Examinador *João Domingos Rodrigues*  
Prof. Dr. João Domingos Rodrigues  
UNESP/Botucatu-SP

4º Examinador *Pedro Luís da Costa Aguiar Alves*  
Prof. Dr. Pedro Luís da Costa Aguiar Alves  
UNESP/Jaboticabal-SP

## Dedicatória

“Dedico este trabalho aos meus pais Luiz Carlos e Maria Dorothea, ao meu marido PV e em especial a minha filha Adelle”.

## **Agradecimentos**

Agradeço à contribuição valiosa de muitos que ajudaram a tornar possível este trabalho:

À Prof<sup>a</sup> Sonia Cristina J.G. de A. Perez pelo prazer de termos trabalhado juntas, pela orientação, pela atenção e carinho de sempre.

À Prof<sup>a</sup> Maria Ines Salgueiro Lima pela amizade e paciência em sempre me atender neste trabalho.

Ao professor do Depto. de Botânica Prof. Marcos Arduim pela orientação e disponibilização do laboratório de Anatomia.

Aos Professores Dr. Francisco Antonio Macías Dominguéz, José Maria Gonzalez Molinillo e a Profa. Rosa Maria Varela Montoya por me receberem na UCA.

A todos os amigos do laboratório de Botânica, em especial às amigas Ana Beatriz, Maristela, Rosangela, Silmara, Paula, Priscila, Letícia, e Patrícia e ao amigo Casali pelo carinho, conversas e amizade.

Aos técnicos Casali, S.Luis e Maristela do Dep. de Botânica e ao Zé Roberto (Fisiologia) pelo apoio durante o desenvolvimento do todo o trabalho.

Aos participantes do exame de qualificação Andréia Pereira, Maria Ines Salgueiro Lima e Silmara Fantti, por colaborarem prestativamente na correção de parte deste trabalho.

Aos membros da banca examinadora, pela experiência em prol desse trabalho.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Em especial, agradeço:

Aos meus pais, Luiz Carlos e Maria Dorothea, que me ensinam sempre os valores de amor, compreensão, sinceridade e honestidade.

Aos meus irmãos Rafael e Rogério por estarem sempre ao meu lado me apoiando com amor e alegria.

Ao meu esposo PV, por todo o carinho, amor, amizade e pela ajuda e compreensão em todos os momentos, por me ajudar a crescer e me incentivar, e principalmente pelos momentos felizes de todos estes anos.

A minha filha Adelle, por fazer parte da minha vida, e por ser a inspiração maior para eu me tornar uma pessoa cada vez melhor.

## SUMÁRIO:

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b><u>1</u></b>
<b>Referências bibliográficas</b>	<b><u>6</u></b>
<b>Capítulo I - “ASPÉCTOS DA GERMINAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES DE <i>Lafoensia glyptocarpa</i> KOEHNE”</b>	<b><u>10</u></b>
<b>Introdução</b>	<b><u>12</u></b>
<b>Material e Métodos</b>	<b><u>15</u></b>
<b>Resultados e Discussão</b>	<b><u>21</u></b>
<b>Conclusões</b>	<b><u>39</u></b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b><u>40</u></b>
<b>Capítulo II - “ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL E DETERIORAÇÃO CONTROLADA DE SEMENTES DE <i>Lafoensia glyptocarpa</i> KOEHNE”</b>	<b><u>48</u></b>
<b>Introdução</b>	<b><u>50</u></b>
<b>Material e Métodos</b>	<b><u>53</u></b>
<b>Resultados e Discussão</b>	<b><u>59</u></b>
<b>Conclusões</b>	<b><u>75</u></b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b><u>76</u></b>
<b>Capítulo III - “ INFLUÊNCIA ALELOPÁTICA DE <i>LAFOENSIA GLYPTOCARPA</i> KOEHNE SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES, CRESCIMENTO E NA MORFOLOGIA DAS CÉLULAS XILEMÁTICAS DE PLÂNTULAS DE <i>SESAMUM INDICUM</i> L. E NO CRESCIMENTO DE COLEÓPTILOS DE TRIGO.”</b>	<b><u>80</u></b>
<b>Introdução</b>	<b><u>82</u></b>
<b>Material e Método</b>	<b><u>84</u></b>
<b>Resultados e Discussão</b>	<b><u>88</u></b>
<b>Conclusões</b>	<b><u>102</u></b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	<b><u>103</u></b>
<b>Conclusões Gerais</b>	<b><u>109</u></b>

## Introdução Geral

A Floresta Atlântica é considerada a segunda maior floresta pluvial tropical do continente sul-americano, sendo que originalmente se estendia de forma contínua ao longo do litoral brasileiro, alcançando o leste do Paraguai e o nordeste da Argentina.

No passado, ela cobria mais de 1,5 milhões de km<sup>2</sup>, sendo que 92% desta área encontrava-se em território brasileiro (Galindo-Leal e Câmara, 2003; Tabarelli *et al.*, 2005). Atualmente, estima-se que mais de 93% de sua cobertura original tenha sido destruída ao longo do processo de ocupação histórica do litoral brasileiro (Figura1).

Rocha *et al.*, (2003) ressalta que a Mata Atlântica originariamente cobria 13% do território brasileiro, e atualmente possui uma cobertura remanescente de aproximadamente 7,3% da vegetação original, sendo esse bioma o mais degradado.

Apesar de seu atual “status” de conservação, ela é considerada um dos 25 biomas com maior biodiversidade no mundo, abrigando mais de 8000 espécies endêmicas, incluindo plantas vasculares, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (Myers *et al.*, 2000; Tabarelli *et al.*, 2005).

Em relação à região Sudeste, a Floresta Atlântica apresenta uma situação ainda mais preocupante, mantendo apenas 0,3% de sua cobertura vegetal original (CN-RBMA, 2007). Isto se deve principalmente à condição do relevo menos acidentado, o que permitiu um melhor acesso em relação às localidades do sudeste do país, aumentando assim a intensa exploração e degradação, principalmente da indústria canavieira e pecuária (Rodrigues, 1990).



Figura 1- Fonte: [http://www.rbma.org.br/anuario/mata\\_02\\_dma.asp](http://www.rbma.org.br/anuario/mata_02_dma.asp)

A espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, é conhecida popularmente como mirindiba rosa e pertence à família Lythraceae. Ocorre desde a Bahia até o estado de São Paulo, sendo mais freqüente no sul da Bahia e norte do Espírito Santo. Sua madeira pode ser empregada na construção civil, marcenaria e carpintaria, e esta espécie é empregada para o paisagismo, na arborização de ruas em todo sudeste do país. Apresenta crescimento rápido, e por isso é recomendada para plantios mistos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi, 1992).

É uma planta semidecídua, heliófita, característica da floresta pluvial atlântica. Ocorre tanto no interior da floresta primária densa como em formações secundárias e apresenta dispersão restrita e irregular, ocorrendo geralmente em baixa freqüência (Lorenzi, 1992).

Considerando os aspectos acima citados referentes à *L. glyptocarpa* e ao fato de que as espécies florestais apresentam uma produção de sementes irregular, faz-se necessário elucidar vários fatores que atuam nos processos de dormência e germinação de sementes, os quais irão influenciar a formação de novos indivíduos dentro de uma população.

Dentre os fatores exógenos que afetam o processo germinativo pode-se citar a temperatura. Cada espécie possui uma faixa de temperatura para a germinação, cuja amplitude e valores absolutos são característicos. Em temperaturas muito elevadas ou muito baixas, a germinação não ocorre, mesmo que as outras condições ambientais sejam favoráveis (Coll *et al.*, 2001).

Quando os valores críticos de temperatura são ultrapassados podem ocorrer danos nas estruturas e funções celulares ou causar desequilíbrios metabólicos, induzindo à uma termodormência ou à morte do embrião (Larcher, 2000). Existem espécies com capacidade para geminar e se desenvolver quando expostas a valores extremos de temperatura, por conterem proteínas e componentes celulares resistentes às variações térmicas. No caso de sementes de espécies nativas, as temperaturas ótima, mínima e máxima refletem muitas vezes as características térmicas do ambiente onde se desenvolvem e a sua distribuição geográfica. A faixa ótima de temperatura para as espécies tropicais está entre 20 e 35°C (Taiz & Zeiger, 2004).

As sementes da espécie *L. glyptocarpa*, não apresentam dormência física. No geral, essas espécies apresentam na primeira fase da germinação a absorção de água, a qual ativa uma série de processos metabólicos, que se não forem interrompidos, determinam a emergência do embrião (Alves *et al.*, 2000; Borges *et al.*, 2004). A hidratação ocorre pela diferença de potencial hídrico existente entre a semente e o meio, onde o teor de umidade adequado é variável entre as espécies. A maioria das sementes ortodoxas maduras é extremamente desidratada, contendo somente 5 a 20% de seu peso total em água (Raven *et al.* 2001).

A absorção de água pode ser determinada por fatores como a composição química da semente, onde aquelas ricas em proteínas absorvem grande quantidade de água, enquanto que as

oleaginosas absorvem menor quantidade. A permeabilidade do envoltório seminal e a disponibilidade hídrica no meio interferem na absorção de água, que é um processo físico, dado pela diferença do potencial hídrico entre a semente e o meio, portanto, sem nenhuma relação com a viabilidade das sementes, ocorrendo tanto em sementes vivas quanto mortas (Coll, *et al.*, 2001).

Um comportamento trifásico é observado em várias sementes durante o processo de absorção de água. Na fase I há uma rápida absorção de água, devido ao potencial hídrico da semente ser menor que o do meio, e nesta fase, a estrutura celular das membranas é alterada temporariamente. Na fase II há redução ou paralisação dessa absorção e na fase III ocorre novamente aumento da massa fresca devido à absorção de água e crescimento do embrião. Algumas espécies não apresentam esse comportamento trifásico devido às características individuais e também do ambiente. (Kigel & Galili, 1995; Colt, *et al.*, 2001).

A partir da década de 90, devido à necessidade de recuperação e conservação de ecossistemas, houve um aumento do número de estudos para entender o comportamento de sementes de espécies nativas durante o armazenamento (Reis e Cunha 1997; Salomão e Mundin 1997; Varela *et al.*, 1998; Davide *et al.*, 2003); no entanto, considerando a grande diversidade de espécies da flora brasileira, as informações disponíveis ainda são escassas.

Sabe-se que o armazenamento de sementes permite a disponibilidade das mesmas aos programas de reflorestamento e pesquisas sobre tecnologia e fisiologia de sementes. Estudos sobre condições de armazenamento podem garantir a conservação desse recurso genético, principalmente quando a espécie perde a viabilidade logo após a colheita (Carvalho *et al.*, 2006).

A tolerância da semente à desidratação é bastante variável entre as espécies e, de acordo com esse critério, as sementes podem ser classificadas em três grupos, sendo denominadas de ortodoxas (tolerante a desidratação), recalcitrantes (não tolerante a desidratação) e intermediárias (moderadamente tolerante a desidratação). As sementes ortodoxas normalmente são pequenas, podem ser desidratadas entre 5 e 7% de umidade sem perder a viabilidade. Sementes de algumas dessas espécies, com baixo teor de umidade, podem ser acondicionadas em embalagem impermeável devidamente fechada e, armazenadas sob baixas temperaturas, em geladeira doméstica (França *et al.*, 2010).

Assim, a classificação das sementes quanto à capacidade de armazenamento depende de estudos de tolerância à dessecação e do armazenamento sob temperaturas baixas (Davide *et al.*, 2003).

A razão fundamental para o armazenamento de sementes é preservar ou manter sua qualidade fisiológica através da minimização da velocidade de deterioração, que é um processo irreversível, não sendo possível impedir que esse ocorra, porém, sendo possível arrasá-lo. No

entanto, pode-se atrasar ou acelerar a deterioração em função de condições ideais de armazenamento, que são espécie - específicas. Além disso, deve-se levar em consideração a qualidade fisiológica das sementes, em decorrência de estarem sujeitas a uma série de mudanças degenerativas de origem bioquímica, fisiológica e física, que se inicia após a sua maturação e estão associadas com a redução de vigor.

Desse modo, a conservação das sementes com elevado vigor e viabilidade depende das condições ambientais e do tipo de embalagem utilizado durante o armazenamento, que poderão acelerar ou reduzir o processo degenerativo que diminui a viabilidade e o vigor (Perez *et al.*, 1998).

As condições adequadas de armazenamento possibilitam a utilização das sementes com alto vigor na época da semeadura, que dificilmente coincide com a coleta das mesmas, além de manter a quantidade de material biológico para suprir as épocas onde haja a escassez ou falha na produção, e que se necessite realizar estudos em laboratórios ou produção de mudas em viveiros.

Um outro parâmetro para frequentemente utilizado para qualificar a viabilidade e o vigor das sementes são os testes de envelhecimento artificial e deterioração controlada. O objetivo básico dos testes de vigor é a identificação de diferenças importantes no potencial fisiológico das sementes, principalmente das que compõem lotes com poder germinativo elevado e semelhante (Marcos Filho, 2005). Frequentemente, observa-se que lotes de sementes apresentando germinação semelhante exibem comportamentos distintos no campo e/ou armazenamento.

Dentre os testes utilizados para avaliação do vigor, o envelhecimento acelerado é um dos mais estudados e recomendados para várias espécies cultivadas. Este teste tem como princípio o aumento considerável da taxa de deterioração das sementes através de sua exposição a níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar, considerados os fatores ambientais preponderantes na intensidade e velocidade de deterioração (Schmidt, 2000; Tillmann, 2005). Assim, sementes de baixa qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, apresentando queda acentuada de sua viabilidade, após serem submetidas ao envelhecimento acelerado.

Por outro lado, diferenças no vigor de lotes de sementes também têm sido detectadas pelo teste de deterioração controlada, cujo princípio é equivalente ao do envelhecimento acelerado. No entanto, a avaliação é efetuada em amostras com teores de água semelhantes, em vez da utilização de ambientes com alta umidade relativa do ar, resultando na obtenção de condições mais uniformes durante o teste e, conseqüentemente, padronização mais efetiva, principalmente em espécies que produzem sementes de menor tamanho (Marcos Filho, 2005).

Uma questão importante sobre a fisiologia da germinação, é compreender o mecanismo que possibilita às sementes integrar os sinais ambientais e determinar quando iniciar o crescimento

radicular e desenvolvimento da plântula. Parece que o teor de água é tão essencial ao estabelecimento das plântulas, que todas as espécies mesofitas e xerofitas desenvolveram mecanismos para sincronizar sua germinação com o potencial hídrico adequado do meio. Assim, existe uma relação inversa entre o tempo para emergência da radícula e a diferença existente entre o potencial hídrico do meio e o potencial hídrico mínimo para a germinação daquela espécie (Marcos Filho, 2005).

Um outro aspecto importante a ser abordado que afeta a germinação e emergência de plântulas e, portanto a dinâmica de uma comunidade natural é o fenômeno conhecido como alelopatia.

Há muito tempo é sabido que as plantas excretam substâncias decorrente de seu metabolismo secundário. Segundo Rice, (1974) e Smith, (1989), a alelopatia é um dos mecanismos através do quais, as plantas interferem no desenvolvimento de outras ou delas mesmas, alterando o padrão de crescimento e a sua densidade.

Nos vegetais existe uma diversidade de substâncias químicas, que possivelmente são originárias de processos evolutivos como resposta à ação de microrganismos, insetos e outros agentes (Happ *et al.*, 2009).

Essa diversidade formada em resposta a diferentes fatores ambientais é conhecida como alelopatia, que descreve a influência de um indivíduo sobre o outro, seja prejudicando ou favorecendo o segundo, sugerindo que o efeito seja realizado por biomoléculas (aleloquímicos) produzidas pelo metabolismo secundário da planta (Baratto *et al.*, 2008).

Essa influência pode ser interespecífica quando determinada espécie vegetal tem efeito alelopático sobre outras espécies ou intraespecífica se o efeito da espécie é sobre ela mesma (Raven, 2001). Essa atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas e pesticidas (Waller, 1999).

O efeito visível dos aleloquímicos nas plantas é uma sinalização secundária das mudanças ocorridas a nível molecular e celular, alterações nas estruturas citológicas e ultra-estruturas, na permeabilidade da membrana, nos processos metabólicos e no material genético, induzindo alterações no DNA e RNA, podendo ser de forma direta ou indireta (Ferreira e Áquila, 2000).

## Bibliografia

- ALMEIDA, D.S. **Recuperação Ambiental da Mata Atlântica**, Ilhéus, 130p. 2000.
- ALVES, M. C. S. *et al.* Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt e *Bauhinia unguolata* L. - Caesalpinoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p.139-144, 2000.
- BARATTO, L. *et al.* Investigation of the allelopathic and antimicrobial activities of *Mikania laevigata* (Asteraceae) obtained in hydroponic and traditional cultivars. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, João Pessoa, v. 18, n. 4, Dec. 2008 .
- BORGES, E. E. L. *et al.* Alterações fisiológicas em sementes de *Tachigalia multijuga* (Benth.) (mamoneira) relacionadas aos métodos para a superação da dormência. **Revista Árvore**, v28, n.3, p.317-325, 2004.
- CN-RBMA (Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica). 2007. Acessível em <[http://www.rbma.org.br/rbma\\_2\\_regimento.asp](http://www.rbma.org.br/rbma_2_regimento.asp)>
- CARVALHO, L.R.; SILVA, E.A.A.; DAVIDE, A.C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 2, 2006 .
- COLL, J.B.; RODRIGO, G.N.; GARCIA, B.S.; TAMÉS, R.S. **Fisiologia Vegetal**. Madrid: Ediciones Pirâmide, 566p, 2001.
- DAVIDE, A.C.; CARVALHO, L.R.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M. Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais pertencentes à família Lauraceae quanto à capacidade de armazenamento. **Cerne, Lavras**, v. 9, n. 1, p.29-35, 2003.
- FERREIRA, A G.; AQUILLA, M. E. A. Alelopatia: Uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (ed. esp.), p. 175- 204,2000.
- FRANCA, LEOMARA VIEIRA DE *et al* . Tolerância à dessecação de pólen de berinjela. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, 2010.

- GARCIDUENAS, M.R. EI desarrollo: estado embrionario, morfogenesis. In: **Fisiologia Vegetal Aplicada**. México: Interamericana mcgraw-hill, p.201-8, 1993.
- GALINDO-LEAL, C.; CÂMARA, I. G. 2003. Atlantic Forest hotspots status: an overview. In: Galindo-Leal, C. & Câmara, I. G. (Ed.). **The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook**. Center for Applied Biodiversity Science and Island Press, Washington, USA, p.3-11
- HEPP, L. U.; DELANORA, R.; TREVISAN, A. Secondary compounds during leaf decomposition of tree species in a stream in southern Brazil. **Acta Botanica Brasílica**, São Paulo, v. 23, n. 2, June 2009.
- KIGEL, J; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Mareei Dekker, 835p. 1995
- LABOURIAU, L.G. & VALADARES, M.E.B. On the germination of seeds *Calotropis procera* (Ait.) Ait. F. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.48, n.2, p.163-284, 1976.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: Rima. 531p, 2000.
- LOPPES H, M.; ROSSETO, C.AV.; CAMEIRO, V. Embebição de sementes de cenoura. (*Daucus carola*) em diferentes potenciais osmóticos por dois métodos. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, p 81-7, 2000.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil** - Nova Odessa: Editora Plantarum 352p, 1992.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. Londrina: ABRATES, cap.3, p.1-24, 1999b.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

- MANNING, J.C.; STANDEN, J, V. The role of the lens in seed imbibition and seedling vigour of *Sesbania punicea* (Cav.) Benth. (Leguminosae: Papilionoideae). **Annals of Botany**, v.59, p.705-13, 1987.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B. & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403:853-858. 2000.
- PEREZ, S.C.J.G. DE A; FANTI, S.C. e CASALI, C. A. Temperature limits and thermal stress on seed germination of *Peltophorum dubium* (Spreng) Taubert. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, DF, v. 20, n. 1, 1998.
- RAVEN, P.H. EVERT, R.F.; EICHHOM, S.E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 906p, 2001.
- ROCHA, C.F.D, H.G. BERGALHO, M.A.S. ALVES & M.V. SLUYS. A biodiversidade nos grandes remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro e nas restingas da Mata Atlântica. **São Carlos. RIMA**, 160p. 2003.
- REIS, A.M.M.; CUNHA, R. Efeito do congelamento sobre a viabilidade de sementes de *Anadenanthera peregrina*(L.) Speg. com diferentes conteúdos de umidade. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.10, p.1071-1079, 1997.
- REHMAN, S.; HARRIS, P. J. C.; BOUME, W. F.; WILKIN, J. The effects of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of *Acacia* seeds. **Seed Science and Technology**, c. 25, p.45-47, 1996.
- RICE, E.L. **Allelopathic**. New York: Academic Press, 353p, 1974.
- RIZVI, S. J. H.; HAQUE, H.; SING., U. K.; RIZVI, V. A discipline called allelopathy. In: Rizvi, S. J. H.; Rizvi, V. (Eds.) **Allelopathy: Basic and Applied Aspects**. London: Chapman & Hall, p. 1-10, 1992.

- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, p.499-514, 1973.
- RODRIGUES, M. T. Os lagartos da Floresta Atlântica brasileira: distribuição atual e pretérita e suas implicações para estudos futuros. **Anais do II Simpósio sobre Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: Estrutura, Função e Manejo**. São Paulo, Brasil, p.404-410, 1990.
- SALOMÃO, A.N.; MUNDIN, R.C. Efeito de diferentes graus de umidade na viabilidade de sementes de 11 espécies arbóreas durante a criopreservação. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.7, n.1/2, p.224, 1997.
- SCHIMDT, L. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. Denmark: **Danida Forest Seed Centre**,. 511p. 2000
- SMITH, AE. The potential allelopathic characteristics of bitter sneezeweed (*Helenium amarum*). **Weed Science** v.37, p.665-669, 1989.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.
- TABARELLI, M., PINTO, L.P., SILVA, J.M.C., HIROTA, M.M. & BEDÊ, L.C. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade** 1(1):132-138, 2005.
- TILLMANN, M.A. Análisis de semillas. In: BAUDET, L; PESKE, S. **Semillas** ciencia y tecnología. Pelotas: Universidade Federal de Palotas, p.101-158, 2005.
- VARELA, P.V.; FERRAZ, I. K.; CARNEIRO, N. B.; CORRÊA, Y.M.B.; ANDRADE JR, M.A; SILVA, R.P. Classificação das sementes quanto ao comportamento para fins de armazenamento. In: **Pesquisas Florestais para a Conservação da Floresta e Reabilitação de Áreas Degradadas da Amazônia**. Manaus: INPA, p.172-184, 1998.
- WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. & CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent Advances in Allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, v.1, sem paginação, 1999.

WALLER, G.R.; FEUG, M.C. & FUJII, Y. Biochemical analysis of allelopathic compounds: plants, microorganisms, and soil secondary metabolites. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M. & FOY, C.L. (Eds.) **Principles and Practices in Plant Ecology**. Boca Raton, CRC Press, p.75-98, 1999.

## **Capítulo 1 – Aspectos da germinação, caracterização e armazenamento das sementes de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne.**

Resumo - A espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lythraceae), conhecida como mirindiba rosa, ocorre desde a Bahia até São Paulo, no interior da floresta primária densa e em formações secundárias, apresentando dispersão restrita e irregular, e geralmente em baixa frequência. Com o objetivo de correlacionar a germinação com a distribuição geográfica da espécie, foram registrados os valores de porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação de sementes de *L. glyptocarpa* sob diferentes temperaturas, além da caracterização de frutos e tempo de embebição das sementes a 25°C. As sementes de *L. glyptocarpa* foram ainda armazenadas por um período de 150 dias e foram analisadas a condutividade elétrica e o teor de umidade dessas sementes, bem como a porcentagem e a velocidade de emergência das plântulas. Foram feitas avaliações periódicas sobre a viabilidade e o vigor durante o armazenamento em diferentes condições. As sementes de *L. glyptocarpa* apresentaram limites de temperatura (15 a 35°C), com valores elevados de porcentagens de germinação, variando de 65 a 78%. O tempo médio para a emissão da raiz primária foi de 50 h para o teste de embebição das sementes e estas apresentaram um aumento de 700% de seu peso fresco. Em relação ao armazenamento, a embalagem mais eficiente em todo o período de armazenamento foi embalagem de vidro a 5°C.

## **Chapter 1 - Aspects of germination, characterization and storage of *Lafoensia glyptocarpa* Koehne seeds.**

**Abstract** The species *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lythraceae), known as mirindiba rosa, occurs from Bahia to the state of Sao Paulo, within the dense primary forest and secondary formations, with dispersal limited and irregular, usually present in low frequency. In order to correlate the germination of the geographical distribution of species have been recorded the values of germination index and germination rate (GSI) of *Lafoensia glyptocarpa*'seeds at different temperatures, as well as analysis on the characterization of fruit and time of imbibition. The seeds of *L. glyptocarpa* yet been stored for a period of 150 days and analyzed the electrical conductivity and the moisture content of the seed and the percentage and speed of seedling emergence and its results were compared. The seeds of *L. glyptocarpa* presented maximum limits temperature (15 to 35 ° C), with high percentages of germination, ranging from 65 to 78%. The period of soaking of seeds was 50 till the issuance of the radicle, and these showed an increase of 700% of its weight fresco. In relation to storage, packaging more efficiently throughout the storage period was packing glass 5 °C.

## Introdução

A espécie *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, (família Lythraceae) é conhecida também como mirindiba rosa. Ocorre desde a Bahia até São Paulo. Sua madeira pode ser empregada na construção civil, marcenaria e carpintaria e é usada no paisagismo, na arborização de ruas em todo sudeste do país. É uma planta semidecídua, heliófita, característica da floresta pluvial atlântica. Ocorre no interior da floresta primária densa e em formações secundárias apresentando dispersão restrita e irregular, ocorrendo geralmente em baixa frequência (Lorenzi, 1992).

Em 2003, foi elaborado um manual para conservação de sementes (Smith *et al.*, 2003), o que levou a uma grande demanda por pesquisas com espécies arbóreas nativas do Brasil, principalmente quanto à qualidade fisiológica de suas sementes (Kohama *et al.*, 2006).

O uso de sementes de espécies florestais continua sendo a fonte mais comum de propágulos reprodutivos em larga escala para atender programas de florestamento e reflorestamento. O desenvolvimento de programas adequados de reflorestamento e de sistemas agroflorestais funcionais são formas de diminuir os efeitos dos desmatamentos (Phartyal *et al.*, 2002).

No Brasil, a necessidade de conservação das florestas tropicais e o fortalecimento da política ambiental promoveram um aumento da demanda de sementes de espécies nativas, que constituem insumo básico nos programas de recuperação e conservação de ecossistemas (Carvalho *et al.*, 2006).

Por isso, é de extrema importância avaliações morfológicas de frutos, sementes, e plântulas para contribuir na identificação das espécies em fases iniciais de desenvolvimento. O tamanho, a forma e a deiscência dos frutos, bem como o tamanho e a forma das sementes são imprescindíveis para a caracterização botânica da espécie (Barroso *et al.*, 1999).

A morfologia de sementes e plântulas auxilia na interpretação de testes de germinação em laboratório e em viveiros, contribuindo para o reconhecimento da espécie, na identificação taxonômica e em pesquisas de campo quando se deseja estudar a regeneração natural (Melo e Varela, 2006).

Em espécies florestais, na maioria das vezes, torna-se difícil manter a viabilidade e o vigor das sementes. No momento que a semente atinge o ponto de maturidade fisiológica, possui sua máxima qualidade e deve ser colhida. Após este estágio, a semente desliga-se da planta e inicia-se o processo de deterioração. Deste modo, fatores como temperatura e umidade, devem ser sempre considerados, visando prolongar a longevidade e a viabilidade das mesmas (Oladiran e Agunbiade, 2000).

São vários os fatores exógenos que interferem no processo germinativo de uma semente desde a emergência da plântula até o seu total estabelecimento no ambiente.

A temperatura, juntamente com a luz, água e oxigênio constituem os principais fatores externos que influenciam na germinação de uma semente. A temperatura influi tanto na velocidade de absorção de água como nas reações bioquímicas e na velocidade de germinação das sementes (Carvalho e Nakagawa, 2000), e esta pode ser manipulada no sentido de otimizar a porcentagem e a velocidade da germinação das sementes (Oliveira e Scivittaro, 2007).

Outro fator exógeno que afeta o processo germinativo é a temperatura. Cada espécie possui uma faixa de temperatura para a germinação, cuja amplitude e valores absolutos são característicos. Em temperaturas muito elevadas ou muito baixas, a germinação não ocorre, mesmo que as outras condições ambientais sejam favoráveis (Coll *et al.*, 2001).

Quando os valores críticos de temperatura são ultrapassados podem ocorrer danos nas estruturas e funções celulares ou causar desequilíbrios metabólicos, induzindo a uma termodormência ou à morte do embrião. Existem espécies com capacidade para geminar e se desenvolver quando expostas a valores extremos de temperatura, por conterem proteínas e componentes celulares resistentes às variações térmicas (Borguetti e Ferreira, 2004).

No caso de sementes de espécies nativas, as temperaturas ótima, mínima e máxima refletem muitas vezes as características térmicas do ambiente onde se desenvolvem e a sua distribuição geográfica. A faixa ótima de temperatura para as espécies tropicais está situada 20 e 35°C (Taiz e Zeiger, 2009).

Para as espécies florestais, além das poucas informações registradas na literatura, ainda é necessário considerar que estas apresentam uma produção de sementes irregular, abundante em determinados anos e escassa em outros, razão do armazenamento ser uma importante ferramenta para garantir a disponibilidade de sementes durante os períodos em que estas não são produzidas.

A maioria dos trabalhos sobre armazenamento compara a qualidade das sementes em ambientes com câmaras frias ou secas, que demandam maiores recursos financeiros e técnicos para sua instalação e uso. Condições mais simples e de menor custo para o armazenamento possibilitam que um maior número de pessoas envolvidas com as sementes possa garantir a disponibilidade de sementes por vários anos (Carneiro e Aguiar, 1993).

Jose *et al.*, (2007) consideram fundamental a melhoria nos processos de beneficiamento e armazenamento de sementes, e a determinação de métodos práticos e confiáveis para manter a viabilidade de sementes florestais para a conservação e o uso sustentável da biodiversidade. Fatores que estão envolvidos no processo de deterioração das sementes e a variação existente entre as espécies, entre lotes da mesma espécie e entre unidades do mesmo lote, devem ser minimizados

quando o objetivo é o armazenamento.

As condições adequadas de armazenamento possibilitam a utilização das sementes com alto vigor na época da sementeira, que dificilmente coincide com a coleta das mesmas, além de manter a quantidade de material biológico para suprir as épocas onde haja a escassez ou falha na produção, e que se necessite realizar estudos em laboratórios ou produção de mudas em viveiros.

Neste contexto, os objetivos desse trabalho foram:

Caracterizar os frutos e sementes de *Lafoensia glyptocarpa* por meio de medidas biométricas e testes de embebição,

Determinar os valores de porcentagem e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *L. glyptocarpa* sem a aplicação de tratamento pré - germinativo sob diferentes temperaturas, buscando correlacionar a resposta à temperatura com a distribuição geográfica da espécie.

Verificar o tipo de embalagem e o ambiente de armazenamento mais eficiente para a conservação de *L. glyptocarpa*.

## **Material e Métodos**

### **1-Testes Preliminares**

#### **Coleta de Frutos e Extração de Sementes**

Frutos maduros de *L. glyptocarpa*, com coloração marrom escuro foram coletados no *Campus* da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz- USP, em Piracicaba – SP, em setembro de 2007. Foram selecionados cinco indivíduos para a realização da coleta dos diásporos, dos quais foram retirados cachos com auxílio de tesoura de poda, diretamente dos galhos das árvores.

Os frutos foram colocados para secar em casa de vegetação, até a ruptura do tegumento.

Decorridos os sete dias, foi realizada uma análise biométrica dos frutos (50 indivíduos) e das sementes de *L. glyptocarpa*, (100 sementes) no Laboratório de Ecofisiologia de Germinação de Sementes, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de São Carlos com aferição das medidas realizadas com paquímetro digital e pesagem feita em balança analítica.

As sementes retiradas dos frutos foram postas para secar em ambiente de laboratório ( $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ), em bandejas de alumínio com papel de filtro pelo período de sete dias. Foram calculadas as médias, o desvio padrão e as amplitudes de variação e pureza do lote dos frutos e sementes. As sementes foram armazenadas geladeira ( $5^{\circ}\text{C}$ ), em embalagem de vidro e vedadas com parafina.

O material biológico, colhido em setembro de 2007 foi utilizado para as avaliações biométricas dos frutos e sementes, peso de mil sementes, número de sementes por quilograma e teor de umidade.

O teor de água das sementes foi determinado após secagem em estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , conforme prescrito nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Para tanto, foi retirada manualmente do lote de semente previamente homogeneizado, uma amostra de 100 sementes ao acaso, a qual foi dividida em quatro subamostras de 25 sementes e pesadas em balança de precisão de 0,000g, antes e depois da permanência por 24 horas na estufa.

#### **Biometria dos frutos e sementes**

As avaliações biométricas foram realizadas, utilizando-se quatro repetições de 25 unidades. O número de sementes por fruto foi obtido extraindo-se e contando as sementes manualmente. As medições dos frutos e sementes foram feitas com o uso de um paquímetro digital, com precisão de 0,01 mm. Foi determinado e avaliado o número de sementes por fruto, o comprimento e largura dos

frutos e das sementes.

### **Peso de mil sementes**

Para avaliação do peso de mil sementes foram retiradas ao acaso oito amostras de trabalho de 100 sementes puras, determinando-se a massa individual de cada repetição, em balança de precisão de 0,0001 g (Brasil, 1992).

### **Número de sementes por quilograma**

A avaliação do número de sementes por quilograma foi feita utilizando-se oito repetições de sementes, baseado em Oliveira (2007) citado por Fossati (2007) a partir da seguinte equação:

$$N = (1000 \times 1000) / \text{PMS onde:}$$

N = número de sementes por kg;

PMS = Peso de mil sementes em gramas.

A biometria dos frutos e sementes; peso de mil sementes e números de sementes por quilograma foram realizados de setembro de 2007 no Laboratório de Ecofisiologia de Germinação de Sementes, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de São Carlos

### **Curva de embebição das sementes**

Para o bioensaio curva de embebição foram utilizadas sementes de *L. glyptocarpa*, provenientes da Estação Experimental de Tupi Paulista sem a aplicação de nenhum tratamento pré-germinativo.

Foi realizada a curva de absorção de água com a finalidade de identificar um possível impedimento tegumentar à entrada água na semente. Para esse experimento foram utilizadas quatro repetições de dez sementes. As sementes foram pesadas e colocadas em placas de Petri com 9 cm de diâmetro, sob duas folhas de papel de filtro umedecida com 5 mL de água destilada. As placas foram colocadas sob temperatura de 25°C, até a protrusão da raiz primária (> 2 mm de comprimento) seguindo o critério botânico para a avaliação (Labouriau, 1983).

Foi construída uma curva de embebição, com valores de massa fresca obtidos em intervalos de 0h a 50 h. As sementes foram pesadas em balança analítica digital com precisão de 0,1mg, sendo que a cada pesagem estas foram secadas superficialmente com papel absorvente e, posteriormente, recolocadas em placas de Petri. Com os valores dos pesos consecutivos obtidos calculou-se a porcentagem de ganho de água em relação ao peso inicial das sementes a fim de se estabelecer a curva de embebição.

### **Viabilidade e vigor do lote**

Para a análise da viabilidade e do vigor do lote, foram feitos bioensaios de germinação, utilizando sementes provenientes da Estação Experimental de Tupi Paulista (coletadas em setembro de 2006).

Para a germinação foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel de filtro umedecidas com 5 mL água destilada. Em seguida, 25 sementes foram distribuídas nas placas, as quais foram mantidas em estufa climatizada (B.O.D.) a 25°C. As contagens foram realizadas em intervalo de 12 horas durante os sete primeiros dias, e em intervalo de 24 horas até totalizar dez dias após a semeadura.

Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram 2 mm de protrusão radicular e curva geotrópica positiva. Os parâmetros analisados foram porcentagem e velocidade de germinação (Labouriau, 1983). Os teores de umidade das sementes também foram analisados.

Para a análise estatística, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições de 25 sementes. Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arco seno. Foram realizadas análises de variância paramétricas, pois os dados foram suficientemente robustos para eventuais desvios de normalidade e homocedasticidade. Para a comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, quando houve significância. (Santana e Ranal, 2004).

### **Bioensaio de germinação em diferentes temperaturas**

Para o bioensaio de germinação em diferentes temperaturas foram utilizadas sementes de *L. glyptocarpa*, provenientes da Estação Experimental de Tupi Paulista sem a aplicação de nenhum tratamento pré – germinativo.

Para a germinação foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel de filtro umedecidas com 5 mL água destilada. Em seguida, 25 sementes foram

distribuídas nas placas, as quais foram mantidas em estufa climatizada (B.O.D.) em oito temperaturas: 10; 15; 20; 25; 30 e 35, 40 e 45°C. Para esse experimento foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes.

As contagens foram realizadas em intervalo de 12 horas durante os sete primeiros dias, e em intervalo de 24 horas até totalizar dez dias após a semeadura. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram 2 mm de protrusão radicular e curva geotrópica positiva. Os parâmetros analisados foram porcentagem, velocidade e frequência relativa da germinação (Labouriau, 1983).

### **Análise estatística**

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes.

Os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arco-seno e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, assim como descrito no bioensaio de viabilidade e vigor das sementes.

## **2- Armazenamento de Sementes de *L. glyptocarpa***

Para o bioensaio de armazenamento foram utilizadas sementes de *L. glyptocarpa*, provenientes da Estação Experimental de Tupi Paulista sem a aplicação de nenhum tratamento pré-germinativo, já que estas não apresentavam nenhum tipo de dormência física. Cabe salientar que dormência física é causada pela impermeabilidade dos tecidos da semente e ou do fruto, restringindo total ou parcialmente a difusão de água ao embrião (Ferreira e Borguetti, 2004).

### **Características iniciais do lote**

Para se avaliar as características iniciais do lote foram feitos testes de teor de água das sementes, testes de emergência e testes de condutividade elétrica.

O teor de água foi determinado pelo método direto de pesagem de quatro repetições com 25 sementes cada, acondicionadas em latas de alumínio com tampa, com 6 cm de diâmetro e 4,5 cm de altura, sendo colocadas em estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , durante 24 horas e novamente pesadas (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação ao peso da matéria seca.

O teste de emergência de plântulas foi realizado em casa de vegetação. As sementes de *L. glyptocarpa* foram postos para germinar em caixas de isopor com substrato comercial (Golden mix) e vermiculita, na proporção de 1:1, e umedecidos com água destilada até o limite de saturação. Foram instaladas quatro repetições de 25 sementes.

Para avaliar a germinação das sementes existem os critérios botânico e tecnológico, sendo que o primeiro considera a germinação como a protrusão da raiz primária ou da plúmula. O segundo considera a germinação como sendo a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião (plântula normal). No presente estudo foi considerado a emergência e as estruturas essenciais do embrião. (Borghetti e Ferreira, 2004).

O teste de condutividade elétrica da solução de embebição (CESE) das sementes foi avaliada por meio de quatro repetições de 25 sementes, pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75mL de água destilada e deionizada, mantidas em câmaras tipo BOD a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após esse período, a condutividade elétrica da solução foi medida em condutivímetro de bancada para soluções aquosas modelo CA-150, com medidor tipo caneta e faixa de leitura de 0 a 20.000  $\mu\text{S}$  em quatro escalas. Os resultados foram divididos pelo peso inicial das amostras de sementes e expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

### **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento**

A amostra das sementes retiradas do lote inicial foi denominada como controle. As demais sementes foram novamente homogeneizadas para evitar desigualdades quanto ao tamanho, cor e forma antes de serem colocadas nas embalagens permeável (sacos de papel) e impermeável (vidro).

As sementes de *L. glyptocarpa* foram armazenadas em embalagens de vidro e em sacos de papel do tipo Kraft, com 0,25 mm de espessura, e estes foram colocados em dois tipos distintos de ambientes. O primeiro em câmara fria com temperatura variando entre 0 e 5  $^\circ\text{C}$ , e o segundo armazenado em ambiente de laboratório ( $22^\circ\text{C} \pm 3$ ).

Foram feitos os mesmos procedimentos dos testes anteriores para características iniciais do lote

O teor de água foi determinado pelo método direto de pesagem de quatro repetições com 25 sementes cada, acondicionadas em latas de alumínio com tampa, com 6 cm de diâmetro e 4,5 cm de altura, sendo colocadas em estufa a  $105\pm 3^\circ\text{C}$ , durante 24 horas e novamente pesadas (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação ao peso da matéria seca.

O teste de emergência de plântulas foi realizado em casa de vegetação. As sementes de *L. glyptocarpa* foram postos para germinar em caixas de isopor com substrato comercial (Golden mix)

e vermiculita, na proporção de 1:1, e umedecidos com água destilada até o limite de saturação. Foram instaladas quatro repetições de 25 sementes.

Os períodos de armazenamento aos quais as sementes de *L. glyptocarpa* foram submetidos foram 30, 60, 90, 120, 150 dias.

A condutividade elétrica da solução de embebição (CESE) das sementes foi avaliada por meio de quatro repetições de 25 sementes, pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75mL de água destilada e deionizada, mantidas em câmaras tipo BOD a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas. Após esse período, a condutividade elétrica da solução foi medida em condutivímetro de bancada para soluções aquosas modelo CA-150, com medidor tipo caneta e faixa de leitura de 0 a 20.000  $\mu\text{S}$  em quatro escalas. Os resultados foram divididos pelo peso inicial das amostras de sementes e expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

### **Análise estatística**

Os dados foram submetidos à análise de variância, para cada época de armazenamento, com delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2x2 (períodos de armazenamento / embalagem), com 4 repetições de 25 sementes para cada tratamento.

Os parâmetros analisados foram porcentagem e velocidade de emergência, condutividade e teor de água das sementes (Labouriau, 1983).

Para a análise estatística, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições de 25 sementes. Os dados de porcentagem de emergência foram transformados em arco seno. Foram realizadas análises de variância paramétrica, pois os dados foram suficientemente robustos para eventuais desvios de normalidade e homocedasticidade. Para a comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, quando houve significância. (Santana e Ranal, 2004).

## Resultados

### Testes Preliminares

#### **Biometria do fruto e de sementes de *L. glyptocarpa*.**

Os resultados biométricos de frutos, sementes e peso de mil sementes estão apresentados na Tabela 1 e pureza do lote representado na Tabela 2. Foi constatado que o fruto tem em média 91,14 sementes, comprimento de 31,39mm e largura de 26,19mm. Para a semente foi detectado que os valores médios de comprimento e largura são, respectivamente, 23,02mm e 11,68mm. As sementes apresentaram pouca variação biométrica e a maior variação foi evidenciada no número de sementes por fruto.

Tabela 1-Valores médios de biometria de frutos e sementes de *L. glyptocarpa*

Variáveis	Medias	Desvio padrão	Variância
Comprimento do fruto (mm)	31,39	2,572	12,54
Largura do fruto (mm)	26,19	3,542	6,616
Nº sementes/fruto	91,14	24,29	721,91
Comprimento da Semente (mm)	23,05	2,571	6,608
Largura da Semente (mm)	11,68	3,757	14,116

Tabela 2-Valores médios do número de sementes por quilo, peso de mil sementes de *L. glyptocarpa* e pureza do lote.

Numero de sementes / kg	Peso de 1000 sementes (g)	Pureza do Lote (%)
<b>49.336</b>	<b>21,73</b>	<b>93,23</b>

O peso de mil sementes é equivalente a 21,73 gramas e as sementes apresentavam teor de água de 15,39%. O número de sementes por quilograma obtido foi de 49.336 sementes. Por outro lado, Lorenzi (1992) menciona 53.000 sementes por quilograma. Essa diferença deve-se ao fato de não ter sido utilizada sementes puras como foi utilizada nessa pesquisa.

Em vários estudos são evidenciadas variações na quantidade de sementes por quilo entre lotes de uma mesma espécie como foi detectado em *Aegiphyla sellowiana* (Biruel, 2006), *Casearia sylvestris* (Imatomi, 2007) e *Caryota urens* (Pimenta, 2007) e em *Dalbergia nigra*. Essa diferença na quantidade de sementes por quilo pode ser explicada, por fatores genéticos,

condições climáticas onde a planta se desenvolve, estágio de maturação das sementes e teor de água da semente (Pimenta, 2007). Também pode ser em decorrência da posição do fruto na planta (Fenner e Thompson, 2005).

A morfologia externa do fruto e da semente de *L. glyptocarpa* está ilustrada na Figura 1.



Figura 1- Frutos e sementes de *L.glyptocarpa* coletados em setembro de 2007, no Campus da ESALQ (Piracicaba, SP).

### Curva de Embebição das Sementes

A figura 3 mostra a curva de embebição de sementes de *L. glyptocarpa*, sem nenhum tratamento pré-germinativo.

A curva típica de embebição de sementes ortodóxicas maduras, normalmente apresenta três fases distintas. Na primeira há uma rápida absorção de água, na segunda fase ocorre uma estabilização, uma vez que praticamente não há entrada de água na semente, e na terceira fase, a semente volta a apresentar um rápido aumento na massa fresca, como consequência da germinação (Castro e Hilhorst, 2004).

Para as sementes de *L. glyptocarpa*, a absorção de água ocorreu de maneira gradativa, até a emissão da radícula, que se deu após 50 h do início da embebição.

Esses resultados diferem dos resultados relatados por Garcia & Diniz (2003) que observaram uma rápida absorção de água nas primeiras 24 horas de embebição em sementes das espécies *Vellozia gigantea* e *Vellozia variabili.*, e por Franco e Ferreira (2002) para *Didymopanax morototonis* (Aubl.). Esses autores observaram ainda um período de oito horas na fase I do processo de embebição.

Essa fase é caracterizada por ser um processo físico, pois independe da atividade metabólica das sementes, podendo ocorrer em sementes viáveis ou não (Bewley e Black, 1994).

Segundo Seiffert (2003), este rápido ganho de umidade observado na fase I em relação às outras se deve, provavelmente, à presença de matrizes hidrofílicas, como proteínas. Marcos Filho (2005) descreve que, nessa fase surgem os primeiros sinais da reativação do metabolismo, com aumento acentuado da atividade respiratória, liberação de energia para a germinação e ativação de enzimas.

As sementes de *L. glyptocarpa* apresentam um alo com grande quantidade de mucilagem, que aumenta em até aproximadamente 700% o seu valor de peso seco inicial. Essa mucilagem deve servir de reserva de água e nutrientes para o embrião logo após a sua emergência (Figura 2).



Figura 2 - Semente de *L. glyptocarpa* após 50 horas de embebição em água sem nenhum tratamento pré-germinativo (2006)

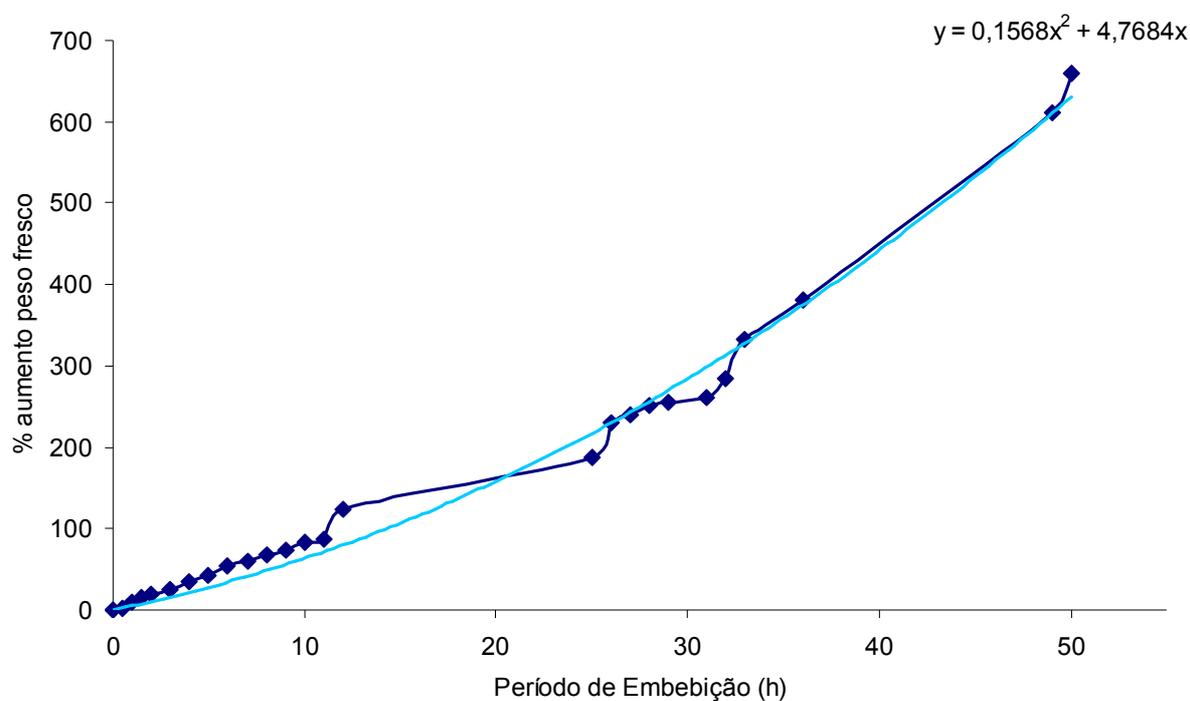
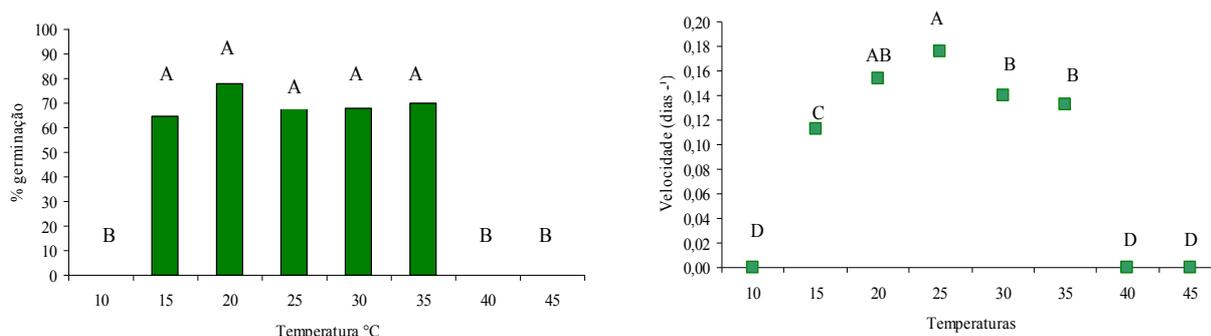


Figura 3 – Curva de embebição/absorção de água pelas sementes de *L. glyptocarpa* com base no peso da matéria fresca (g).

## Germinação em diferentes temperaturas

Pelos dados obtidos na figura 4, observa-se que a porcentagem de germinação para a *L. glyptocarpa* se manteve praticamente constante, e não houve diferenças significativas nas temperaturas de 15, 20, 25, 30 e 35°C.

As sementes de *L. glyptocarpa* apresentaram uma ampla faixa ótima de temperatura, com porcentagens altas de germinação, variando de 65 a 78%. O limite mínimo situa – se entre 10 e 15°C, e o limite máximo entre 35°C e 40°C. A germinação foi totalmente suprimida nas temperaturas de 10, 40 e 45°C.



**Figura 4** – Porcentagem e velocidade de germinação de sementes de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a diferentes temperaturas. Médias seguidas pelas letras maiúsculas diferem si para os dados de porcentagem de germinação e velocidade de germinação (Teste de Tukey).

Sabe-se que a germinação é afetada por fatores internos e externos. Os internos são os intrínsecos da semente, como longevidade e viabilidade; já os fatores externos dizem respeito à condições ambientais. A temperatura, juntamente com a luz, água e oxigênio constituem os principais fatores externos que influenciam na germinação de uma semente (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Pelo comportamento germinativo, tanto das sementes recém-colhidas quanto das sementes armazenadas de *L. glyptocarpa*, ficou evidente a indiferença a sensibilidade à luz para germinar (Moraes, L.P.S. inédito), sendo consideradas indiferentes, segundo Marcos Filho (2005).

As espécies que crescem sob dossel ou cobertura vegetal densa, geralmente não requerem muita luz, enquanto que, espécies que se desenvolvem em locais abertos, sem vegetação, exigem quantidades relativamente maiores de luz para que ocorra a germinação (Borghetti, 2004).

A Mata Atlântica é conhecida por sua ampla cobertura vegetal, e sendo a espécie *L. glyptocarpa* uma espécie endêmica desta região, a alta taxa de germinação no escuro corrobora com esses dados.

Sabe-se também que variações da temperatura afetam a velocidade, a porcentagem e a uniformidade da germinação. A rapidez da germinação é determinada principalmente pela velocidade de embebição. Assim, é desejável a menor exposição possível das sementes a condições menos favoráveis do ambiente (Marcos Filho, 2005).

As sementes apresentam comportamento variável em função da temperatura, não havendo uma ótima para todas as espécies (Borges e Rena, 1993), podendo estar associada às características ecológicas de cada espécie (Sousa-Silva *et al.*, 2001).

A germinação acontece dentro de determinados limites de temperatura. Acima ou abaixo dos limites superior e inferior, a germinação não ocorrerá (Carvalho e Nakagawa, 2000), podendo acontecer a morte das sementes (Borges e Rena, 1993).

A temperatura ou faixas de temperaturas ideais são aquelas em que ocorre máxima eficiência, obtendo-se o máximo de germinação no menor espaço de tempo possível (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Segundo Marcos Filho (2005), considera-se temperatura ótima aquela que possibilita a combinação mais eficiente entre a porcentagem e a velocidade de germinação. As temperaturas máximas situam-se entre 35 e 40 °C, e as mínimas geralmente são inferiores a 15 °C).

Esses dados são semelhantes aos encontrados para a germinação de sementes de *L. glyptocarpa*.

Algumas espécies apresentam limites mais amplos devido a exigências distintas (Marcos Filho, 2005), como a maioria das espécies pioneiras que têm um nível de tolerância maior à temperatura do que as climáx (Schmidt, 2000).

Em sementes de espécies arbóreas, observam-se melhores desempenhos germinativos a 30 °C em sementes de *Ceiba pentrandia* (Varela *et al.*, 1999), de *Parkia platycephala* (Nascimento *et al.*, 2003), de *Tabebuia impetiginosa* (Oliveira *et al.*, 2005) e de *Caesalpinia ferrea* (Lima *et al.*, 2006).

Entretanto, Braga *et al.*, (1999) verificaram que não ocorreram diferenças significativas na germinação de sementes de *Borojoa sorbilis*, nas temperaturas de 20, 30 e 35 °C e na faixa de 30 a 35 °C. Para sementes de *Acacia polyphylla* (acácia), a temperatura constante de 25 °C foi a mais adequada para germinação (Araújo Neto *et al.*, 2003) enquanto que sementes de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira), apresentaram uma faixa ótima de germinação entre 20 a 30 °C (Silva *et al.*, 2002).

Lima *et al.* (1997), avaliando a germinação de *Enterolobium contortisiliquum* em temperaturas que variaram de 5 a 45 °C (escalas de 5 °C), constataram melhores resultados na faixa de 18,2 a 38,8 °C. Acima de 38,8 °C até 45 °C, houve decréscimo significativo na germinação, chegando a 0%, e de 5 a 10 °C não ocorreu germinação.

Araújo Neto *et al.*, (2002) verificaram que as sementes de *Guazuma ulmifolia* (mutamba) não germinaram nas temperaturas de 40 e 45 °C e que a temperatura máxima para a germinação das sementes dessa espécie situa-se entre 35 e 40 °C.

As sementes de *Parkia pendula* podem germinar nas temperaturas de 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C, mas a formação de plântulas normais é inibida a 15, 20 e 40 °C e a temperatura de 30 °C é considerada a mais favorável para a germinação e formação de plântulas de *Parkia pendula* (Rosseto *et al.*, 2009).

Com relação ao índice de velocidade de germinação e ao tempo médio de germinação, observou-se que a temperatura de 20°C proporcionou menor vigor das sementes para sementes de *Cedrela odorata* L e diferiu significativamente das demais temperaturas (Passos *et al.*, 2008).

Para *L. glyptocarpa*, os maiores valores de IVG foram encontrados na temperatura de 25°C (IVG = 0,1754), apresentando diferenças significativas quando comparadas aos demais tratamentos.

Na figura 5 e na tabela 3 verifica-se a frequência relativa da germinação nas diferentes temperaturas e os tempos médios de germinação, respectivamente. Com relação ao padrão de distribuição das frequências relativas (Figura 5) de sementes de *L. glyptocarpa*, pode-se observar diferentes formas de distribuição para cada temperatura ao longo do tempo de incubação isométrica.

Para a temperatura de 15°C observou-se um deslocamento a direita, com caráter unimodal, e germinação entre o 7° e o 15° dia.

Nas temperaturas de 20 e 25°C as sementes de *L. glyptocarpa* apresentaram tempos de germinação semelhantes, mas o pico de sementes germinadas na temperatura de 25°C ocorreu no quinto dia de experimento. Com o aumento da temperatura de 30 e 30°C, observou-se um aumento no tempo de germinação das sementes.

O aumento médio no tempo de germinação pode ter um significado adaptativo, como uma compensação as condições de temperatura, por uma maior distribuição da germinação no tempo. O atraso na germinação pode aumentar as chances de ocorrência de condições favoráveis para as plantas, em um ambiente mutável (Nassif & Perez, 2000).

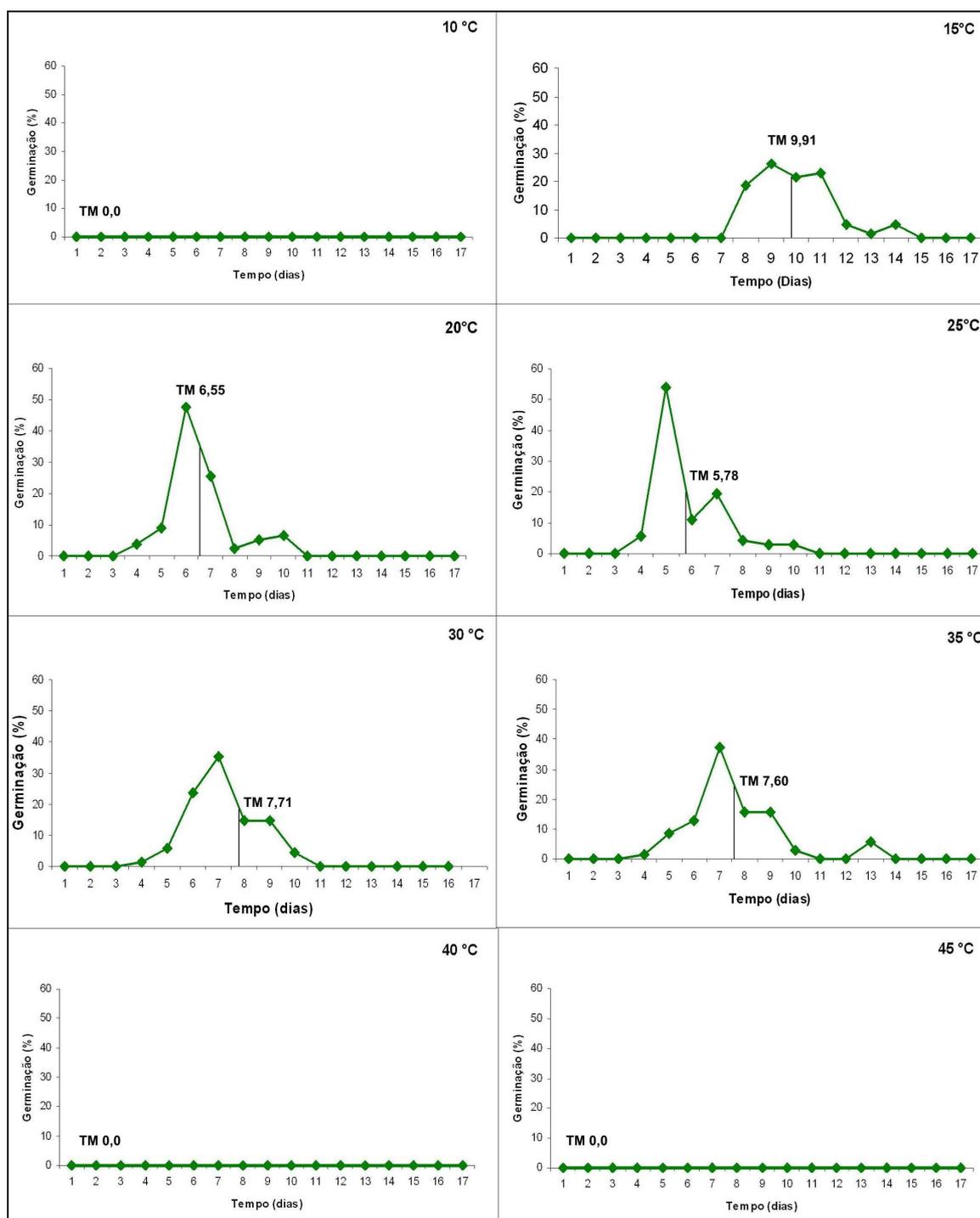
Quando valores críticos de temperatura são ultrapassados, as estruturas e as funções celulares podem ser repentinamente danificadas, e nessas condições o protoplasma é morto imediatamente. Em baixas temperaturas, ocorre uma menor difusão de água para o interior das membranas e o metabolismo da semente é bastante diminuído, podendo vir a germinar num período

muito mais longo. Já as temperaturas elevadas acarretam uma diminuição do suprimento de aminoácidos livres, da síntese protéica e das reações anabólicas. De maneira geral, as altas temperaturas desnaturam as proteínas e alteram a permeabilidade das membranas ocasionando perda de material. Baixas temperaturas, por sua vez, retardam as taxas metabólicas até o ponto em que as vias essenciais ao início da germinação não podem mais operar, podendo da mesma maneira alterar o estado da membrana plasmática (Larcher, 2000).

Para espécies de clima temperado, dificilmente se obtêm sucesso na propagação seminífera quando não se efetua a superação da dormência dos embriões, através da exposição das sementes a frio úmido. As sementes do marmeleiro, por possuir dormência do embrião, as plântulas somente adquirem desenvolvimento normal se submetidas por certo período de exposição ou estratificação a frio úmido, que varia de 4 a 5 °C por um período de 30 a 60 dias (Pio *et al*, 2008)

As proteínas são os componentes básicos de toda a célula viva e exercem duas funções principais nas sementes, atuando como substância de reservas e catalisando reações químicas. Durante o processo de deterioração de sementes ocorre decréscimo do teor e da síntese de proteínas, acréscimo do teor de aminoácidos, decréscimo do conteúdo de proteínas solúveis e desnaturação provocada por temperaturas altas, levando à perda da habilidade de desempenhar suas funções (Marcos Filho, 2005).

Pelos resultados obtidos e elucidados na tabela 3, verificou-se que a temperatura de 25°C promoveu o menor tempo médio de germinação de sementes de *L. glyptocarpa*.



**Figura 5** – Frequência relativa (FR %) da germinação de sementes de *L. glyptocarpa* em diferentes temperaturas.

## 2- Armazenamento das sementes

### Teor de Água das Sementes

Foi observado, pelos resultados encontrados para avaliação do teor de água, que a umidade das sementes de *L. glyptocarpa* armazenadas variaram de maneira significativa no decorrer do experimento de armazenamento, tanto em relação ao tempo de armazenamento quanto ao tipo de embalagem (Figura 6).

Para a embalagem papel temperatura ambiente, quando correlacionadas com os dias de armazenamento, observou-se que o teor de umidade apresentou diferenças significativas nos períodos de 30, 60 e 90 dias quando comparadas com o controle.

Porém, para a embalagem papel a 5°C, houve diferenças significativas em relação ao teor de umidade nos períodos de 60, 90 e 120 dias de armazenamento, quando comparadas ao controle.

A embalagem vidro temperatura ambiente diferiu significativamente do grupo controle apenas no período de 90 dias de armazenamento, enquanto que a embalagem vidro 5°C não apresentou diferenças estatísticas ao longo de todo o experimento.

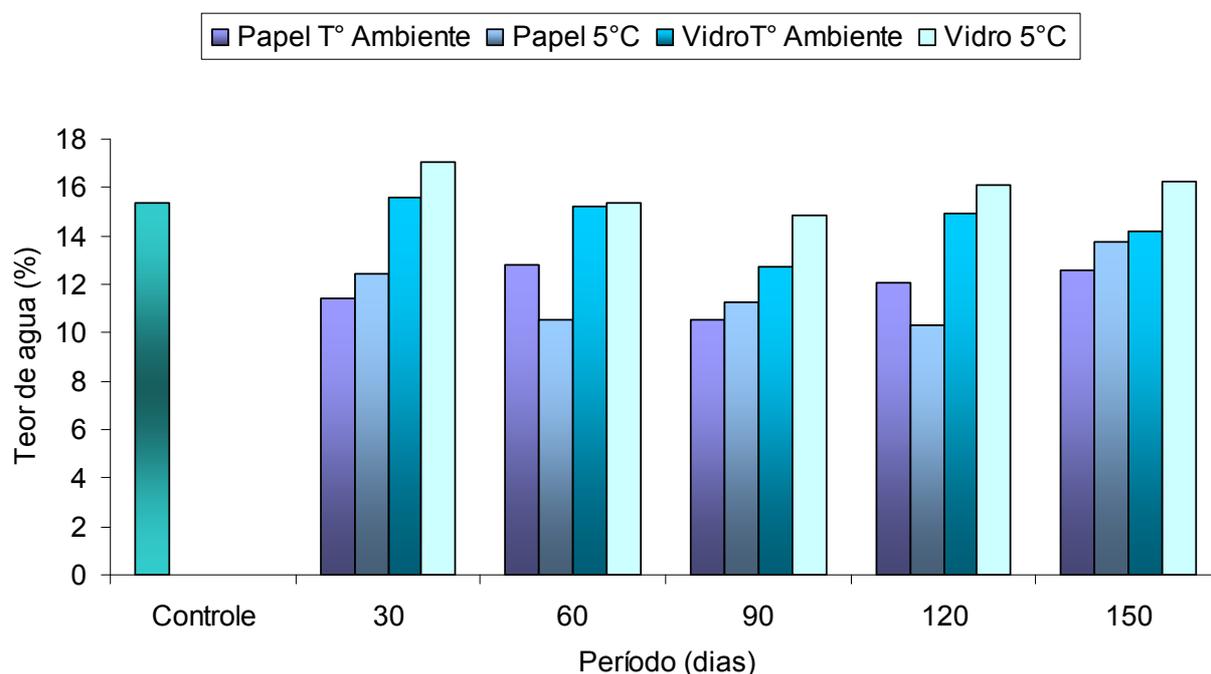


Figura 6 – Teor de água de sementes de *L. glyptocarpa* e, função do período de armazenamento em câmara (5°C) e em ambiente, acondicionados em embalagens de papel e embalagens de vidro.

Tabela 4 – Valores médios de teor de água de sementes de *L. glyptocarpa* acondicionadas em diferentes embalagens e armazenadas em diferentes condições por diferentes períodos.

Período de Armazenamento (dias)	Ambiente de Armazenamento			Média
	Embalagem	Ambiente Laboratório	Câmara Fria	
Controle	Papel	15,39Aa	15,39Aa	15,39
	Vidro	15,39Aa	15,39Abc	15,39
Média		15,39	15,39	
30*	Papel	11,44Dcd	12,47Cc	11,95
	Vidro	15,62Ba	17,04Aa	16,33
Média		13,53	14,75	
60*	Papel	12,83Bb	10,57Cd	11,7
	Vidro	15,19Aab	15,40Abc	15,29
Média		14,01	12,98	
90*	Papel	10,55Cd	11,24Cd	10,89
	Vidro	12,74Bc	14,88Ac	13,81
Média		11,64	13,06	
120*	Papel	12,05Cbc	10,33Dd	11,19
	Vidro	14,96Bab	16,08Aab	15,52
Média		13,50	13,20	
150*	Papel	12,59Cb	13,77Bb	13,18
	Vidro	14,22Bb	16,26Aab	15,24
Média		13,40	15,01	

Medias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara o teor de umidade em cada período com relação ao tipo de embalagem

Medias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara o teor de umidade para cada embalagem nos vários períodos de armazenamento

\* Diferença significativas quando se compara somente os períodos de armazenamento

Para as sementes de *L. glyptocarpa* mantidas em embalagem de vidro, quando comparados os ambientes de armazenamento, apenas a embalagem vidro T° ambiente no período de 90 dias diferiu significativamente do controle.

As sementes de *L. glyptocarpa* mantidas em papel, quando comparadas quanto ao local de armazenamento e controle, apresentaram teor de água que oscilou significativamente em função do tempo e do local de armazenamento.

Em estudos realizados por Queiroga *et al.*, (2009) os teores de água apresentam uma correlação direta entre vigor da semente em diversos períodos de armazenamento para algodão.

Em estudos realizados por Silva (2009) e Caldeira (2007) as sementes de *Psidium cattleianum* e *Myracrodruon urundeuva* acondicionadas em diferentes embalagens apresentaram maiores teores de água em sementes que permaneceram em câmara fria, independentemente das embalagens utilizadas.

Sabe-se que sementes podem variar seu teor de água em função do tipo de embalagem e local de armazenamento.

As sementes ortodoxas apresentam ganho de água que atinge valores mais altos, de 40 a 100% em relação ao peso inicial (Garcia e Diniz, 2003; Cabral *et al.*, 2003), e em sementes recalcitrantes o baixo ganho de água se deve ao fato de estas continuarem hidratadas até o final do desenvolvimento e maturação, apresentando a capacidade de germinar imediatamente após a separação da planta-mãe, em razão de seu elevado teor de água (Finch-Savage *et al.*, 1992), sem a necessidade de hidratação adicional exógena (Farrant *et al.*, 1992).

O conhecimento dos teores crítico e letal de água de uma espécie é indispensável para o planejamento e execução da secagem, bem como do armazenamento das sementes. Para sementes de *Euterpe edulis* a faixa crítica de teor de água está situada entre 39 e 46% e a letal, entre 16 e 21%, dependendo das características genéticas do lote (Martins *et al.*, 2005).

No entanto, a manutenção das sementes com altos teores de água (próximos àqueles do estágio de colheita) durante o armazenamento favorece a germinação dentro da embalagem e o ataque de microrganismos (Marcos Filho, 2005).

### **Porcentagem e velocidade de emergência**

Na comparação da qualidade fisiológica por meio dos testes de emergência de plântulas (Figura 7 e Tabela 5) e do índice de velocidade de emergência (Figura 9 e Tabela 7), para diferentes períodos, verifica-se que houve uma redução significativa da porcentagem de emergência, tanto em relação ao tempo de armazenamento quanto ao tipo de embalagem.

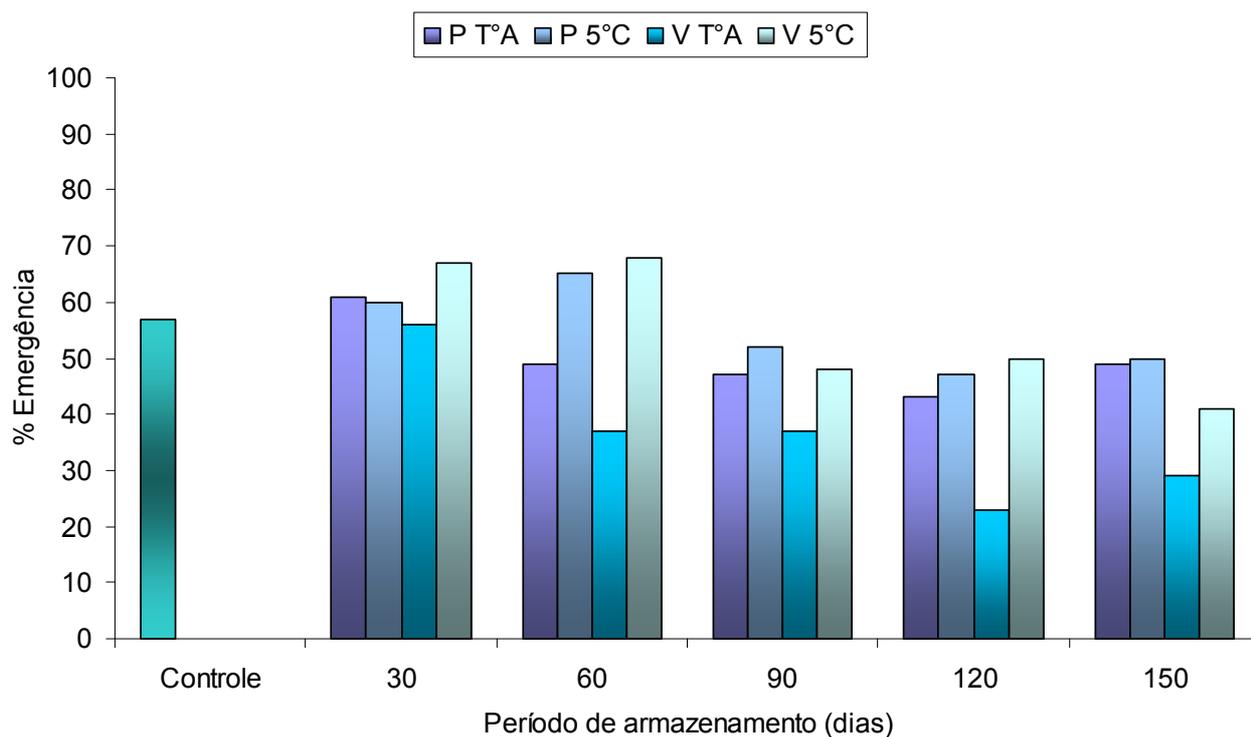


Figura 7 – Porcentagem de emergência de sementes de *L. glyptocarpa* em função do período de armazenamento (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias) e tipos de embalagem (papel T° ambiente, papel 5°C, vidro T° ambiente e vidro 5°C). Médias comparadas pelo Teste de Tukey com 5% de probabilidade.

Com relação ao tipo de embalagem utilizada durante o período de armazenamento, aos 60 dias ocorreram diferenças significativas na porcentagem de emergência para as embalagens papel temperatura ambiente e vidro temperatura ambiente para os demais períodos de armazenamento.

Á partir de 90 dias de armazenamento, a porcentagem de emergência diminuiu significativamente em relação ao controle para todos os tipos de embalagem, embora para a embalagem vidro T° ambiente essa redução na porcentagem de emergência tenha sido significativamente maior.

Tabela 5 – Valores médios de emergência de sementes de *L. glyptocarpa* acondicionadas em diferentes embalagens e armazenadas em diferentes condições por diferentes períodos.

Armazenamento (dias)	Ambiente de Armazenamento			
	Embalagem	Ambiente Laboratório	Câmara Fria	Média
Controle	Papel	57Aa	57Aa	57
	Vidro	57Aa	57Aab	57
Média		57	57	57
30	Papel	61Aa	60Aa	60,5
	Vidro	56Aa	67Aa	62
Média		58,5	63,5	
60	Papel	49Bb	65Aa	57
	Vidro	37Cb	68Aa	52,5
Média				
90 *	Papel	47Ab	52Bb	49,5
	Vidro	37Ab	48Ab	42,5
Média		42	50	
120*	Papel	43Ab	47Bb	45
	Vidro	23Ab	50Ab	36,5
Média		33	48,5	
150*	Papel	49Ab	50Ab	49,5
	Vidro	29Bb	41ABb	35
Média		39	45,5	

Medias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara a porcentagem de emergência em cada período com relação ao tipo de embalagem

Medias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara a porcentagem de emergência para cada embalagem nos vários períodos de armazenamento.

\* Diferença significativas quando se compara somente os períodos de armazenamento.

O índice de velocidade de emergência (IVG) apresentou alteração significativa em relação ao período de armazenamento, e tipos de embalagem e locais de armazenamento. (Figura 8 e Tabela 6).

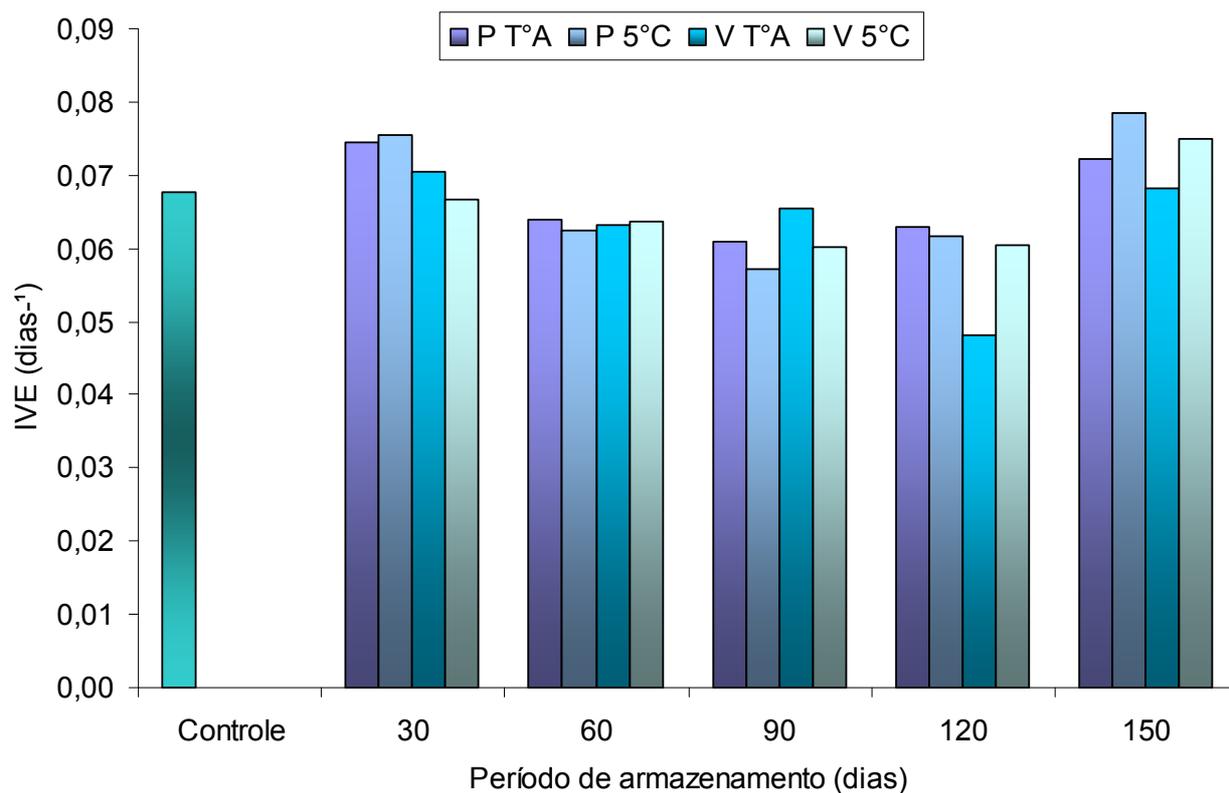


Figura 8 – Velocidade de emergência de sementes de *L. glyptocarpa* em função do período de armazenamento (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias) e tipos de embalagem (papel T° ambiente (PT°A), papel 5°C (P5°C), vidro T°ambiente (VT°A) e vidro 5°C (V5°C). Médias comparadas pelo Teste de Tukey com 5% de probabilidade.

As sementes de *L. glyptocarpa* armazenadas sob refrigeração apresentaram porcentagens de emergência maiores do que as armazenadas em temperatura ambiente, em todos os períodos de armazenamento. A refrigeração pode ter reduzido as reações metabólicas do embrião, conservando melhor o vigor das sementes.

Em estudos realizados por Pereira *et al.*, (2009), em relação aos períodos de armazenamento, as sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf perderam viabilidade, diminuindo significativamente os percentuais de emergência, o que indica que as sementes dessa espécie possuem certo grau de recalcitrância, com baixa resistência à perda de água após a maturidade fisiológica.

Tabela 6 – Valores médios de Índice de velocidade de emergência (IVG) de sementes de *L. glyptocarpa* acondicionadas em diferentes embalagens e armazenadas em diferentes condições por diferentes períodos.

Medias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara o Índice de Velocidade de Emergência em cada período com relação ao tipo de embalagem.

Medias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara o Índice

Armazenamento (dias)	Ambiente de Armazenamento			
	Embalagem	Ambiente Laboratório	Câmara Fria	Média
Controle	Papel	0,068Ab	0,068Abc	0,086
	Vidro	0,068Aa	0,068Aab	0,086
Média		0,068	0,068	
30	Papel	0,075Aab	0,075 Aab	0,075
	Vidro	0,070Aa	0,067Aab	0,068
Média		0,072	0,071	
60*	Papel	0,064Ab	0,062Abc	0,063
	Vidro	0,063Aa	0,064Aab	0,063
Média		0,063	0,063	
90*	Papel	0,061Ab	0,057Ac	0,059
	Vidro	0,066Aa	0,060Ab	0,063
Média		0,063	0,058	
120*	Papel	0,063Ab	0,062Ac	0,062
	Vidro	0,048ABb	0,061Bb	0,054
Média		0,055	0,061	
150*	Papel	0,072Aa	0,078Aa	0,075
	Vidro	0,068ABa	0,075Ba	0,071
Média		0,070	0,076	

de Velocidade de Emergência para cada embalagem nos vários períodos de armazenamento.

\* Diferença significativas quando se compara somente os períodos de armazenamento

Porém em estudos realizados por Santos *et al.*, (1999), não foi observada redução significativa na emergência de plântulas de mamão, em função do período de armazenamento da semente. O percentual de emergência de plântulas passou de 80% para 78% para semente armazenada por oito meses em temperatura variando entre 2° e 5° C; nesse mesmo período, o teor de água da semente diminuiu de 7% para 6% . Martins *et al.*, (2005), empregando semente de mamão do grupo Formosa, também observaram aumento do poder germinativo entre zero e três meses de armazenamento e redução entre três e seis meses.

Teófilo *et al.* (2004) trabalhando com sementes de *Myracrodruon urundeuva*, constataram uma redução do vigor mais acentuada aos 180 dias quando acondicionadas em saco de papel multifoliado (semipermeável) e armazenadas em ambiente natural de laboratório, em relação às sementes acondicionadas em garrafa (embalagem impermeável).

As sementes de *Psidium cuneatum* acondicionadas em embalagem permeável (papel) e armazenadas em ambiente natural de laboratório perderam o vigor aos 270 dias (Otegui *et al.*, 2007).

A redução do vigor de sementes de *Caesalpinia peltophoroides* ocorreu logo no início do armazenamento aos 180 dias, em câmara fria (Figliolia *et al.*, 2001). Sementes de *Caesalpinia leiostachya* armazenadas no interior dos frutos, em ambiente natural de laboratório, apresentaram maior velocidade de germinação do que as extraídas dos frutos e armazenadas em câmara seca durante 240 dias (Biruel *et al.*, 2007).

O vigor, um teste direto, detecta as modificações deletérias mais sutis, resultantes do avanço da deterioração, não reveladas pelo teste de germinação. Isso reflete um conjunto de características que determinam o potencial para a emergência rápida e uniforme de plântulas normais, sob ampla diversidade de condições ambientais, pois não basta que as sementes tenham altos índices de germinação, também é necessário que estas, mesmo em condições desfavoráveis de campo, germinem e se estabeleçam (Marcos Filho, 1999).

### **Condutividade Elétrica**

Observa-se na figura 8 e na tabela 7 os resultado dos testes de condutividade elétrica para o armazenamento das sementes. Observou-se aumento significativo da condutividade elétrica nas sementes de *L. glyptocarpa* em função do período de armazenamento, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. O aumento ocorreu principalmente a partir do terceiro mês de armazenamento, e essa tendência foi observada nos meses consecutivos.

Ocorreram aumentos de condutividade significativo em relação ao controle nos tratamentos papel T° ambiente, papel 5°C e vidro T° ambiente.

A eficiência do teste da condutividade elétrica em sementes florestais para avaliar o vigor, foi constatada em sementes de *Inga uruguensis* (Barbedo e Cícero, 1998), *Citharexylum montevidense* (Leonhardt *et al.*, 2001), *Dalbergia nigra* (Marques *et al.*, 2002 a, b), *Sebastiania commersoniana* (Santos e Paula, 2005) e em *Chorisia speciosa* (Fanti e Perez, 2005).

Entretanto, O teste de condutividade elétrica não foi adequado para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de *Genipa americana* (Sugahara, 2003), *Platymiscium floribundum* (Silva, 2005), *Pterogyne nitens* (Tonin, 2005), *Tabebuia roseo-alba* e *Tabebuia impetiginosa* (Borba Filho, 2006) , *Myracrodruon urundeuva* (Caldeira, 2007) e em sementes de *Psidium catteianum* (Silva, 2009).

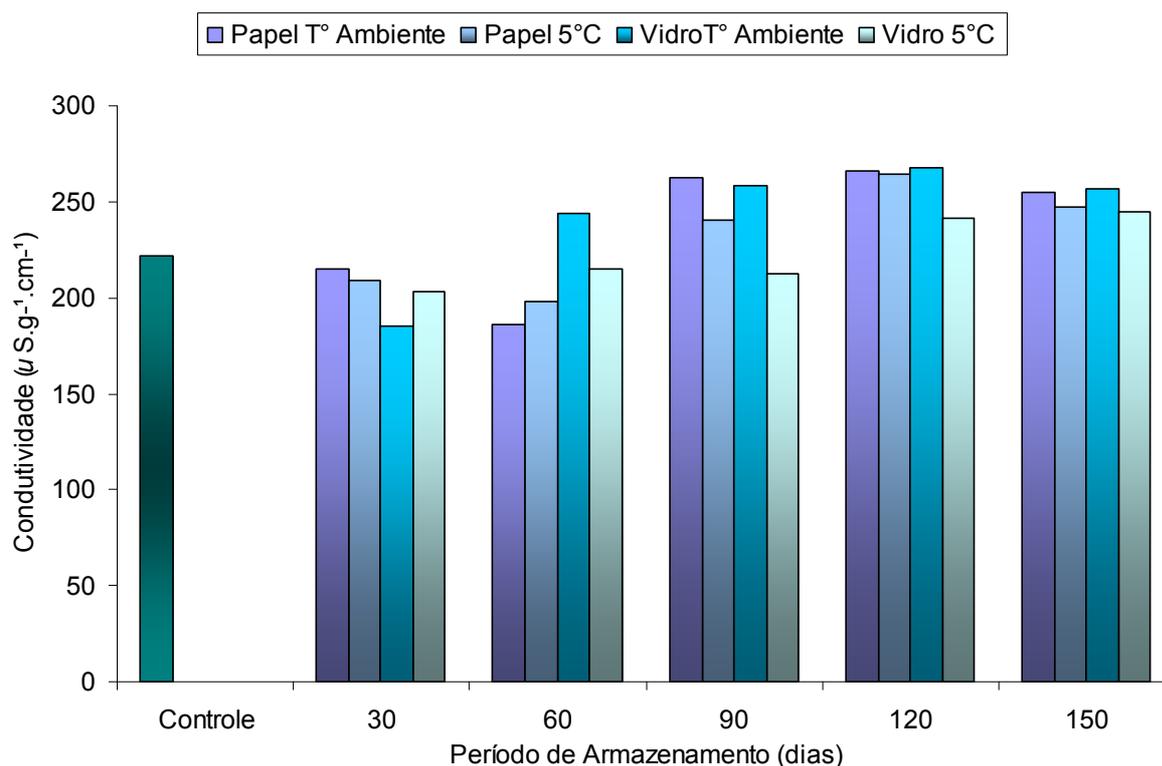


Figura 8 – Condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) de sementes de *L. glyptocarpa* em função do período de armazenamento (0, 30, 60, 90, 120 e 150 dias) e tipos de embalagem (papel T° ambiente, papel 5°C, vidro T° ambiente e vidro 5°C). Medias comparadas pelo Teste de Tukey com 5% de probabilidade

É importante ressaltar que acréscimos nos valores de condutividade elétrica estão associados à maior deterioração da parede celular do produto, e um dos fatores que influenciam nesse comportamento é o seu teor de água. Em estudos realizados por Faroni *et al.*, (2009) observou-se tendência de elevação da condutividade elétrica e decréscimo do percentual de germinação somente na soja úmida, principalmente após 90 dias de armazenamento.

Porém, em estudos realizados por Pinho *et al.*, (2009) as sementes de *A. peregrina* mantiveram as porcentagens de germinação e a porcentagem de sementes viáveis pelo teste do tetrazólio constantes por cinco meses de armazenamento, tanto a 5 °C quanto a 20 °C. O teste de condutividade elétrica apresentou diferenças significativas em relação ao período de armazenamento, sendo mais sensível que o teste de germinação-padrão.

Vidgal *et al.*, (2009) verificou que houve redução nos valores de condutividade elétrica com o decorrer da maturação de sementes de pimenta, indicando aumento no vigor das sementes. A condutividade elétrica de sementes obtidas de frutos com 40 dias de idade e não armazenados foi elevada, decrescendo gradativamente ao longo do armazenamento destes, porém apresentando

valores sempre mais altos do que aqueles constatados para as sementes obtidas nas demais épocas de colheita.

Para as sementes de *L. glyptocarpa*, houve uma redução significativa da porcentagem de emergência das plântulas e aumento significativo da condutividade elétrica, após 90 dias de armazenamento para os tipos de embalagem e local de armazenamento.

Armazenamento (dias)	Ambiente de Armazenamento			
	Embalagem	Ambiente Laboratório	Câmara Fria	Média
Controle	Papel	222Abcd	222Abc	222
	Vidro	222Abc	222Aa	222
Média		222	222	
30	Papel	215Acd	209Abc	212
	Vidro	185Ac	203Aa	194
Média		200	206	
60	Papel	186Bd	198Bc	192
	Vidro	244Aab	215ABa	230
Média		215	206	
90*	Papel	262Aab	241ABab	252
	Vidro	259Aab	213Ba	236
Média		260	227	
120*	Papel	266Aa	264Aa	265
	Vidro	268Aa	241Aa	255
Média		267	253	
150*	Papel	255Aabc	248Aab	252
	Vidro	241Aab	245Aa	243
Média		248	247	

Tabela 7 – Valores médios de condutividade elétrica de sementes de *L. glyptocarpa* acondicionadas em diferentes embalagens e armazenadas em diferentes condições por diferentes períodos.

Medias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara a em cada período de armazenamento com relação ao tipo de embalagem

Medias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si ( $P>0,05$ ) pelo teste de Tukey e compara a condutividade elétrica para cada embalagem nos vários períodos de armazenamento.

\* Diferença significativas quando se compara somente os períodos de armazenamento.

**Conclusões:**

As sementes e frutos de *L. glyptocarpa* apresentaram pouca variação biométrica e a maior variação foi evidenciada no número de sementes por fruto.

A emissão da radícula, que se deu após 50 h do início da embebição.

A germinação das sementes de *L. glyptocarpa* apresentaram limite mínimo de temperatura de 10 e 15°C, e o limite máximo entre 35°C e 40°C.

A temperatura de 25°C promoveu o menor tempo médio de germinação de sementes de *L. glyptocarpa*.

Houve uma redução da porcentagem de emergência das plântulas, após 90 dias de armazenamento para todos os tipos de embalagem e local de armazenamento.

A embalagem vidro 5°C proporcionou uma maior qualidade fisiológica das sementes após o período de armazenamento.

O teste de condutividade elétrica foi eficiente para avaliar a qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento.

## Bibliografia

- ANDRADE, A. C. S. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.3, p.609-615, 2000.
- ARAÚJO NETO, J. C. *et al.*,. Temperaturas cardeais e efeito da luz na germinação de sementes de mutamba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.6, n.3, p.460-465, 2002.
- ARAÚJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA V. M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.2, p.249-256, 2003.
- BARBEDO, C.J. e CICERO, S.M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. **Scientia Agrícola** 55:249-259. 1998.
- BARROSO, G.M.; MORIN, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV, 1999. 443p.
- BIRUEL, R.P.; AGUIAR, I.B. de; PAULA, R.C.de. Germinação de sementes de pau-ferro, submetidas a diferentes condições de armazenamento, escarificação química, temperatura e luz. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.1-9, 2007.
- BIRUEL, R.P. **Caracterização e germinação de sementes de *Aegiphyla sellowiana* Cham.** 131f. Tese Doutorado – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 2006
- BORBA FILHO, A.B. **Aspectos da Germinação e da conservação de sementes de espécies do gênero *Tabebuia* (Bignoniaceae)** . 97f. Tese Doutorado – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 2006.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of Development and Germination** 2<sup>a</sup> ed. New York: Plenum Press, 445p. 1994.

- BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOTA, M. B. **Sementes Florestais Tropicais**. Brasília, DF: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes: Comitê Técnico de Sementes Florestais, 350p, 1993.
- BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. (orgs.). **Germinação: do Básico ao Aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 323p, 2004.
- BOVI, M. L. A.; SPIERING, S. H. Germinação de sementes de palmitheiro. III - Orientação para sua colheita. In: **Congresso Sobre Tecnologia de Sementes Florestais**, Anais Atibaia: p.23-43, 1989.
- BOVI M. L. A.; VAL M. R.; DIAS G.S.; SPIERING S.H. Floral biology and reproductive system of *Euterpe espirosantensis* Fernandes. **Acta Horticulturae**, 360: 41-56. 1994.
- BRAGA, L. F. *et al.* Efeito da temperatura na germinação de sementes de purui (*Borojoa sorbilis*. – Rubiaceae): morfologia das sementes e das plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.47-52, 1999.
- BRANCALION, P. H. S. *et al.* Efeito da luz e de diferentes temperaturas na germinação de sementes de *Heliocarpus popayanensis* L. **Rev. Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 2, Apr. 2008.
- BRASIL. Ministério da Cultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SND/DNDV/CLAV, 365p. 1992.
- CALDEIRAS, S. **Conservação, viabilidade e vigor de diásporos e crescimento inicial de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem.)**. Tese Doutorado – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 185f. 2007
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 4. ed. Jaboticabal - SP: UNESP, 588p, 2000.

- CASTRO, R. D. ; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do Básico ao Aplicado**. Porto Alegre: Artmed, p. 147-162, 2004.
- FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos do envelhecimento precoce no vigor de sementes de *Chorisia speciosa* St. Hil. - Bombacaceae. **Revista Árvore**, v.29, n.3, p.345-352, 2005.
- FARONI, L. R. A. *et al.*,. Armazenamento de soja em silos tipo bolsa. **Engenharia Agrícola**. Jaboticabal, v. 29, n. 1, Mar. 2009.
- FENNER M.; THOMPSON, K. **The Ecology of Seeds**. Cambridge, U.K. Cambridge: University Press, 250p. 2005.
- FARRANT, J.M.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. Development of the recalcitrant (homoiohydrous) seeds of *Avicennia marina*: anatomical, ultrastructural and biochemical events associated with development from histodifferentiation to maturation. **Annals of Botany**, n.70, p.75-86, 1992.
- FIGLIOLIA, M. B. *et al.* Conservação de sementes de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento. **Boletim Técnico do Instituto Florestal**, v.41, n.1, p.355-368, 1987.
- FIGLIOLIA, M.B. *et al.* Efeito do acondicionamento e do ambiente de armazenamento na conservação de sementes de sibipiruna. **Revista Brasileira Horticultura Ornamental**, v.7, n.1, p.57-62, 2001.
- FINCH-SAVAGE, W.E.; HENDRY, G.A.F. E ATHERTON, N.M. Free radical activity and loss of viability during drying of desiccation-sensitive tree seeds. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh** 102B: 257-260. 1994.
- FRANCO, E. T. H.; FERREIRA, A. G. Tratamentos pré-germinativos em sementes de *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Dene. et planch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.12, n.1, p.1-10, 2002.

- GARCIA, Q.S. & DINIZ, I.S.S. Comportamento germinativo de três espécies de Velloziaceae dos campos rupestres de Minas Gerais. **Acta Botanica Brasilica** 17: 487-494. 2003.
- IMATOMI, M. **Interferência de fatores bióticos e abióticos na propagação e conservação de *Casearia sylvestris* SWARTZ (SALICACEAE)**. Dissertação Mestrado – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 103f. 2007.
- JOSE, A. C.; SILVA, E. A.; DAVIDE, A. C. Classificação fisiológica de sementes de cinco espécies arbóreas de mata ciliar quanto a tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 2, Aug. 2007.
- KOHAMA, S.; MALUF, A.M.; BILIA, D.A.C.; BARBEDO, C.J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.72-78, 2006.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington. 1983.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos: RIMA, 2000.
- LEONHARDT, C. *et al.* Maturação fisiológica de sementes de Tarumã-de-espinho (*Citharexylum montevidense* (Spreng.)Moldenke – Verbenaceae), no Jardim Botânico de Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 100-107. 2001.
- LIMA, C. M. R.; BORGHETTI, F.; SOUSA, M. V. Temperature and germination of the Leguminosae *Enterolobium contortisiliquum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.9, n.2, p.97-102, 1997.
- LIMA, J. D. et al. Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Revista Árvore**, v.30, n.4, p.513-518, 2006.

- LIMAS, J. D.; SILVA, B. M. S.; MORAES, W. S. Germinação e armazenamento de sementes de *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. (Myristicaceae). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 1, Feb. 2007.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil** - Nova Odessa: Editora Plantarum 352p, 1992.
- MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; ROBERVAL, D.V.; FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, Comitê de Vigor de Sementes - **ABRATES**, p.1-21, 1999.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 495p, 2005.
- MARTINS, C. C; BOVI, M. L.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de palmiteiro-vermelho em função da desidratação e do armazenamento. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, 2007.
- MARTINS, C. C. *et al.* Secagem e armazenamento de sementes de juçara. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, 2009.
- MARTINS, G.N.; SILVA, R.F.; ARAÚJO, E.F.; PEREIRA, M.G.; VIEIRA, H.D.; VIANA, A.P. Influência do tipo de fruto, peso específico das sementes e período de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de mamão do grupo Formosa. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.2, p.12-17, 2005.
- MARTINS, L; LAGO, A. A.; SALES, W. R. M. Conservação de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex A. DC.)) em função do teor de água das sementes e da temperatura do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 2, 2009.
- MELO, M.F.F.; VARELA, VP. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, germinação e plântulas de duas espécies florestais da amazônia. I. *Dinizia excelsa* Ducke (angelim-pedra).

II *Cedrelinga catenaeformis* Ducke (cedrorana) - Leguminosae: Mimosoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.1, p.54-62, 2006.

NASCIMENTO, W. M. O. *et al.* Temperatura e substrato para germinação de sementes de *Parkia platycephala* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Revista Agricultura Tropical**, v.7, n.1, p.119-129, 2003.

NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G. Efeitos da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, vol. 22, n.1, p.1-6, 2000.

NODARI R. O.; FANTINI A. C.; GUERRA M. P.; REIS M. S.; SCHUCH O. Conservação de frutos e sementes de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.) sob diferentes condições de armazenamento. **Revista Árvore**, 22: 1-10. 1998.

OLADIRAN, J. A.; AGUNBIADE, S. A. Germination and seedling development from pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds following storage in different packaging materials. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 28, n. 2, p. 413-419, 2000.

OLIVEIRA, L. M. *et al.* Temperatura e regime de luz na germinação de sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Martius ex A.P. de Candolle) Standley e *T. serratifolia* Vahl Nich. – Bignoniaceae. **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.3, p.642-648, 2005.

OLIVEIRA, R. P.; SCIVITTARO, W. B. Tegumento e profundidade de semeadura na emergência de plântulas e no desenvolvimento do porta-enxerto Trifoliata. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 2, Aug. 2007.

OTEGUI, M; SOROL, C.; FLECK, A.; KLEKAILO, G. Madurez fisiológica, germinación y conservación de semillas de guayabito (*Psidium cuneatum* Camb- Myrtaceae) **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v 29, n.3, 2007.

PASSOS, M. A. A. *et al.* Luz, substrato e temperatura na germinação de sementes de cedro-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 43, n. 2, 2008.

- PEREIRA, R. S.; SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Emergência de plântulas oriundas de sementes recém colhidas e armazenadas de *Copaifera langsdorffii* Desf. (caesalpinioideae), triângulo mineiro, Brasil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 4, 2009.
- PHARTYAL, S.S.; THAPLIYAL, R.C.; KOEDAM, N.; GODEFROID, S. Ex-situ conservation of rare and valuable forest tree species through seed-gene bank. **Current Science**, Bangalore, v.83, n.11, p.1351-1357, 2002.
- PINHO, D. S. *et al.*,. Evaluation of the physiological quality of *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. seeds during storage. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, 2009.
- PIO, Rafael *et al.* Stratification time and temperature on the percentage and speed of germination of 'Japonês' quince tree. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 3, 2008 .
- QUEIROGA R.C.F.; PUIATTI M; FONTES P.C.R; CECON P. R..Características de frutos do meloeiro variando número e posição de frutos na planta. **Horticultura Brasileira** 27: 023-029, 2009.
- ROSSETO, J. *et al.* Germinação de sementes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. (fabaceae) em diferentes temperaturas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, 2009.
- SANTANA, D. G.; RANAL, M.A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: Universidade de Brasília, v.1. 247p, 2004.
- Silva, A. **Morfologia Conservação e Ecofisiologia da germinação de sementes de *Psidium cattleianum***. Tese Doutorado – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 2009.
- SILVA, L.M.M.; RODRIGUES, T.J.D.; AGUIAR, I.B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.6, p.691-697, 2002.
- SANTOS, S.R.G.; PAULA, R.C. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersonian* (Bail) Smith & Downs Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.27, n.2, p.136-145, 2005.

- SANTOS, R.C.A.; SAMPAIO, L.S.V.; COSTA, J.A. Condição ambiental, teor de água e embalagem na viabilidade e no vigor de sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.194-202, 1999.
- SCHIMDT, L. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. **Denmark: Danida Forest Seed Centre**, 511p. 2000.
- SEIFFERT, M. Alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes e anatomia foliar de *Protium widgrenii* Engler. **Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2003. 81 f.
- SMITH, R.D.; DICKIE, J.B.; LININGTON, S.H.; PRITCHERD, H.W. PROBERT, R.J. (Eds.) **Seed Conservation: Turning science into practice**. London: The Royal Botanic Gardens, Kew Publishing, 1023p, 2003.
- SILVA, L. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, v.26, n.6, p.691-697, 2002.
- SOUSA-SILVA, J. C. *et al.* Germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies arbóreas e arbustivas que ocorrem em matas de galeria. In: Ribeiro, J. F.; Fonseca, C. E. L.; Sousa-Silva, J. C. (Eds). **Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.379-422. 2001.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª ed., Artmed, Porto Alegre, 719 p. 2009.
- TEÓFILO, E.M.; SILVA, S.O.; BEZERRA, A.M.E.; MEDEIROS FILHO, S.; SILVA, F.D.B. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.35, n.2, p.371-376, 2004.

VARELA, V. P.; FERRAZ, I. D. K.; CARNEIRO, N. B. Efeito da temperatura na germinação de sementes de sumaúma (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. Bombacaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.170-174, 1999.

VIDIGAL, D. S. *et al.* Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 2, 2009.

## CAPÍTULO 2

### ENVELHECIMENTO ACELERADO E DETERIORAÇÃO CONTROLADA EM SEMENTES DE *Lafoensia glyptocarpa* Koehne

**RESUMO** - O presente trabalho teve por objetivo avaliar as diferentes formas de se efetuar o teste de envelhecimento acelerado e deterioração controlada para avaliação do potencial fisiológico de sementes de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, separadas em sementes claras e sementes escuras, e correlacionar se estas sementes têm sua coloração devido a diferentes estádios de maturação ou se a coloração é de origem fenotípicas. A avaliação inicial dessas sementes consistiu na determinação do grau de umidade, condutividade e emergência de plântulas em casa de vegetação. O envelhecimento artificial foi implementado a 40°C durante 24, 48, e 72 h, com e sem uso de solução saturada de NaCl, e para o teste de deterioração controlada as sementes foram umedecidas até 20% de umidade e posterior envelhecimento em câmara úmida a 40°C durante 24, 48 e 72h. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Dentre os procedimentos adotados no teste de envelhecimento artificial e o período de exposição de 48 horas a 40°C com uso de solução saturada de NaCl, e deterioração controlada revelou-se adequado para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne, levando a crer que a coloração das sementes provem de estádios de maturação diferentes.

Palavras chave: envelhecimento acelerado, envelhecimento acelerado salino, deterioração controlada, condutividade, *Lafoensia glyptocarpa*.

**ACCELERATED AGING AND CONTROLLED DETERIORATION OF *Lafoensia glyptocarpa* Koehne SEEDS**

**ABSTRACT** - The methodology of the accelerated aging test controlled deterioration to achieve the physiological quality of *Lafoensia glyptocarpa* Koehne seeds, separated into light and dark seeds, and to correlate if these seeds have their color due to different stages of maturation or whether the color is original phenotypic. The initial quality of the seeds was obtained through the tests of moisture content, conductivity and seedling emergence in greenhouse. The accelerated aging test was conducted at 40°C during 24, 48, and 72 hours, using the traditional, NaCl saturated solution and controlled deterioration. The research was conducted in a completely randomized design. The saturated salt accelerated aging test and controlled deterioration was efficient for vigor evaluation of *Lafoensia glyptocarpa* Koehne seeds, and the period of 48hours at 40°C was considered as the most adequate procedure to evaluate seed vigor levels, leading to the belief that colored seeds come from different stages of maturation.

Key words: accelerated aging, salt accelerated aging, controlled deterioration, electrical conductivity, *Lafoensia glyptocarpa*

## Introdução

A coloração de sementes é muitas vezes descrita na literatura como sendo procedente de fenótipos diferentes, ou ainda causada por diferentes estádios de maturação das mesmas.

Com relação a influencia fenotípica, vários trabalhos evidenciam a existência de diferença de coloração entre sementes de um mesmo indivíduo. Em estudos realizados por Medina Filho *et al.*, (1995) a coloração das sementes de café é dada por diferenças fenotípicas. Baldoni *et al.*, (2008), verificaram também diferenças fenotípicas na coloração de sementes de feijão rosinha. Sementes de soja também apresentam variações quanto a coloração do tegumento (Mertz *et al.*, 2009). Estes trabalhos sugerem que as características de qualidade fisiológica e composição não são determinadas somente pela alteração da cor do tegumento, mas sim pela genética da cultivar que apresenta a mutação.

Por outro lado, os fatores mais comuns ligados a coloração de sementes está relacionado com estádios de maturação das sementes. Esse processo de maturação de sementes está diretamente correlacionado com a viabilidade das mesmas.

Em estudos realizados por França Neto *et al.* (1999), foi observado uma maior quantidade de lignina nos tegumentos de linhagens com sementes de coloração escura (12,18%), ao passo que as linhagens de tegumento amarelo apresentaram 4,75%. Os autores observaram que as sementes com maior quantidade de lignina apresentaram melhor qualidade fisiológica.

No entanto, Giurizatto *et al.* (2003), estudando o efeito da época de colheita sobre a viabilidade e o vigor das sementes de soja, utilizando cultivares com diferentes tonalidades de tegumento, verificaram que algumas cultivares com sementes de tegumento amarelo apresentavam qualidade fisiológica superior ao das cultivares com sementes de tegumento marrom e preto.

Varias técnicas de avaliação de qualidade de sementes são utilizadas para determinar a viabilidade e o vigor de sementes dentro de um mesmo lote. Assim, os testes de vigor procuram detectar diferenças significativas no potencial fisiológico de lotes com germinação semelhante, fornecendo informações adicionais às proporcionadas pelo teste de germinação. Paralelamente, espera-se que os resultados permitam distinguir com segurança os lotes de alto dos de baixo vigor e que as diferenças detectadas estejam relacionadas ao comportamento das sementes durante o armazenamento e após a semeadura (Marcos Filho, 2005).

A maior limitação do teste de germinação, segundo Hampton e Tekrony (2001), é sua inabilidade para detectar diferenças de qualidade entre lotes com alta porcentagem de germinação. Por isso, têm sido desenvolvidos testes de vigor com o objetivo de identificar possíveis diferenças

no potencial fisiológico de lotes que apresentam porcentagem de germinação semelhante, fornecendo informações complementares às obtidas no teste de germinação.

Dentre os testes de vigor disponíveis na atualidade, destaca-se o teste de deterioração controlada, desenvolvido inicialmente para avaliar a qualidade de sementes pequenas, baseando-se em técnica de envelhecimento similar à do teste de envelhecimento acelerado (Powell e Matthews, 1981).

Neste teste, as sementes são submetidas a alta temperatura e umidade relativa do ar por período de tempo determinado, condições que favorecem o seu umedecimento. No entanto, a absorção de água com velocidades distintas entre amostras da mesma espécie durante o período de envelhecimento, resulta em diferentes intensidades de deterioração. No teste de deterioração controlada, o grau de umidade das sementes é ajustado para um mesmo nível, em todas as amostras e, somente após esse procedimento, são submetidas a alta temperatura (Matthews, 1980; Hampton e TeKrony, 1995; Krzyzanowski e Vieira, 1999).

Na condução dos testes que avaliam o vigor das sementes, muitos fatores afetam o comportamento das sementes, entre eles o grau de umidade das sementes e a temperatura de incubação.

Segundo Rossetto e Marcos Filho (1995), existe uma relação entre grau de umidade das sementes e a temperatura de instalação do teste, pois sementes devem ter o conteúdo inicial de água elevado sob uma determinada temperatura. Porém, se esta temperatura for maior, podem-se utilizar sementes com menor conteúdo inicial de água.

Braz et al, (2008) consideraram que o grau de umidade das sementes deve ser de 15,5% (base úmida); caso o conteúdo de água inicial não seja esse, sugere que o mesmo seja atingido através do processo de embebição controlada.

O uso de testes de vigor serve como alternativa, para a detecção das diferenças de desempenho entre lotes que apresentam resultados semelhantes no teste de germinação (Carvalho e Nakagawa, 2000).

Portanto, a utilização de lotes, com porcentagem de germinação equivalente entre si, constitui premissa a ser atendida em estudos voltados à verificação da capacidade dos testes de vigor fornecendo dados que, propiciando a diferença qualitativa, permitam ordenação hierárquica dos lotes, baseadas no desempenho fisiológico (Caliari e Silva, 2001).

Desta forma, o emprego de vários testes de vigor fisiológico, tais como os teste de emergência de plântulas, de crescimento de plântulas, de transferência de matéria seca, bem como o teste bioquímico de condutividade elétrica e ainda os testes de resistência a estresse, que incluem o envelhecimento artificial e a deterioração controlada tem se constituído em alternativa usada e

recomendada, uma vez que, rotineiramente, os resultados obtidos são desuniformes entre as avaliações (Marcos Filho, 2005).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi o de avaliar qual a melhor maneira de conduzir o teste de envelhecimento artificial e deterioração controlada com o intuito de permitir a diferenciação da qualidade fisiológica de diferentes lotes de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*.

## Material e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ecofisiologia da Germinação de Sementes e na Casa de Vegetação do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos, SP.

Foram utilizadas sementes *L. glyptocarpa* adquiridas e procedentes da Estação Experimental de Tupi Paulista coletadas em setembro de 2006. Foi feita uma triagem manual a fim de separar as sementes em duas categorias distintas: sementes claras e escuras (Figura 1). Estas foram então submetidas aos testes descritos a seguir.



Figura 1 – Sementes de *L. glyptocarpa* mostrando a diferença na coloração do tegumento, permitindo classificar as sementes com tegumento claro e escuro (Moraes, L P S 2006).

### **Características iniciais do lote**

Para se avaliar as características iniciais do lote foram feitos testes de teor de água das sementes, testes de emergência e testes de condutividade elétrica em sementes com tegumento claro e escuro de *L.glyptocarpa*.

O teor de água foi determinado pelo método direto de pesagem de quatro repetições com 25 sementes cada, acondicionadas em latas de alumínio com tampa, com 6 cm de diâmetro e 4,5 cm de altura, sendo colocadas em estufa a  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas e novamente pesadas (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação ao peso da matéria seca.

O teste de condutividade elétrica da solução de embebição (CESE) das sementes foi avaliada por meio de quatro repetições de 25 sementes, pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75mL de água destilada e deionizada, mantidas em câmaras tipo BOD a  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Após esse período, a condutividade elétrica da solução foi medida em condutivímetro de bancada para soluções aquosas modelo padrão, com medidor tipo caneta e faixa de leitura de 0 a 20.000  $\mu\text{S}$  em quatro escalas. Os resultados foram divididos pelo peso inicial das amostras de sementes e expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

O teste de emergência de plântulas foi realizado em casa de vegetação. As sementes de *L.glyptocarpa* foram postos para germinar em caixas de isopor com substrato comercial (Golden mix) e vermiculita, na proporção de 1:1, e umedecidos com água destilada até o limite de saturação. Foram instaladas quatro repetições de 25 sementes.

As sementes foram avaliadas utilizando-se critérios tecnológico, que considera a germinação como sendo a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião (plântula normal). No presente estudo foi considerado a emergência e as estruturas essenciais do embrião. (Borghetti e Ferreira, 2004).

### **Avaliação da qualidade fisiológica das sementes durante o experimento**

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ecofisiologia da Germinação de Sementes e na Casa de Vegetação do Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos, SP.

Foram utilizadas sementes *L.glyptocarpa* adquiridas em procedentes da Estação Experimental de Tupi Paulista coletadas em setembro de 2006. Foi feita uma triagem manual a fim de separar as sementes em duas categorias distintas: sementes claras e escuras. Estas foram então submetidas aos testes de envelhecimento acelerado e deterioração controlada.

A primeira amostra retirada dos lotes de sementes com tegumento claro e escuro foi denominada como controle e serviu como base para comparações posteriores, em vários testes, descritos a seguir.

### **Determinação do teor de água**

O teor de água das sementes foi determinado através de estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  prescrito nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Para tanto, foi retirado manualmente dos lotes de sementes claras e escuras, previamente homogeneizado, uma amostra de 100 sementes claras e 100 sementes ao acaso, a qual foi dividida em quatro sub amostras de 25 sementes e pesadas em balança de precisão de 0,000g, no Laboratório de Ecofisiologia de Germinação de Sementes, do Departamento de Botânica, da Universidade Federal de São Carlos, antes e depois da permanência por 24 horas na estufa. Os resultados foram expressos em percentagem média para cada lote.

### **Condutividade Elétrica**

A condutividade elétrica da solução de embebição (CESE) das sementes foi avaliada por meio de quatro repetições de 25 sementes, pesadas e colocadas em copos plásticos contendo 75mL de água destilada e deionizada, mantidas em câmaras tipo BOD a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas.

Após esse período, a condutividade elétrica da solução foi medida em condutivímetro de bancada para soluções aquosas modelo CA-150, com medidor tipo caneta e faixa de leitura de 0 a 20.000  $\mu\text{S}$  em quatro escalas. Os resultados foram divididos pelo peso inicial das amostras de sementes e expressos em  $\mu\text{S} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

A primeira amostra retirada dos lotes de sementes com tegumento claro e escuro foi denominado como controle e serviu como base para comparações posteriores em vários testes realizados

### **Viabilidade e Vigor do Lote - emergência de plântulas em casa de vegetação**

Para efetuar a análise da viabilidade e do vigor do lote, foram feitos bioensaios de emergência, utilizando sementes com tegumento claro e escuro, provenientes da Estação Experimental de Tupi Paulista (coletadas em setembro de 2006).

Para o teste de emergência foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes semeadas em bandejas de poliestireno ("isopor") com células individuais, contendo substrato comercial e vermiculita na proporção de 1:1.

As bandejas foram mantidas a 25°C, em estufa dotada de sistema de nebulização intermitente. As avaliações foram realizadas aos 60 dias após a semeadura, através da contagem de plântulas normais emergidas com tamanho igual ou superior a 1,0 cm.

Os parâmetros analisados foram porcentagem e velocidade de emergência (Labouriau, 1983).

Com auxílio de paquímetro digital, foram medidas a parte aérea e o sistema radicular das plântulas. Estas foram colocadas em sacos de papel e levados a estufa com circulação forçada de ar sob temperatura de 80°C durante 48h (Fanti e Perez, 2005). Após esse período as plântulas foram pesadas em balança de precisão para obtenção de massa seca.

Para a análise estatística, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições de 25 sementes. Os dados de porcentagem de emergência foram transformados em arco seno. Foram realizadas análises de variância paramétrica, pois os dados foram suficientemente robustos para eventuais desvios de normalidade e de homocedasticidade. Para a comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, quando houve significância. (Santana e Ranal, 2004).

#### **Envelhecimento acelerado (100% umidade)**

Esse ensaio foi conduzido com a utilização de caixas plásticas do tipo “gerbox” (11,0 cm/ 11,0 cm/ 3,5 cm) como compartimento individual (mini-câmaras), possuindo em seu interior uma bandeja de tela de alumínio, onde foram distribuídas 25 sementes de *L. glyptocarpa*, sem sobreposição de maneira a formarem camada única sobre a superfície da tela; no interior de cada caixa foram adicionados 40 mL de água destilada.

As caixas, tampadas e vedadas com papel filme, foram mantidas em câmara de envelhecimento (PROLAB), previamente regulada para temperatura de 40°C. As sementes com tegumento claro e escuro foram mantidas em câmara de envelhecimento durante três períodos (24h, 48h e 72h).

Decorrido cada período de envelhecimento, as amostras das sementes com tegumento claro e escuro foram avaliadas para teor de umidade, condutividade elétrica e emergência para cada tratamento, como descrito acima.

A avaliação foi realizada aos 60 dias após a semeadura, computando-se a porcentagem de plântulas normais.

### **Envelhecimento acelerado com solução salina**

Foi conduzido com a utilização de caixas plásticas (11,0 cm/ 11,0 cm/ 3,5 cm) como compartimento individual (mini-câmaras), possuindo em seu interior uma bandeja de tela de alumínio, onde 25 sementes, após pesagem, foram distribuídas de maneira a formarem camada sem sobreposição sobre a superfície da tela, adicionando-se, porém, ao fundo de cada caixa plástica, 40 mL de solução de NaCl (NaCl 75%) em vez de 40 mL de água, proporcionando ambiente com 75% de UR.

As caixas, tampadas, foram mantidas em câmara de envelhecimento (PROLAB), previamente regulada para temperatura de 40°C. As sementes com tegumento claro e escuro foram mantidas em câmara de envelhecimento durante três períodos (24h, 48h e 72h).

Decorrido cada período de envelhecimento, as amostras das sementes com tegumento claro e escuro foram avaliadas para teor de umidade, condutividade elétrica e emergência para cada tratamento, como descrito acima.

### **Deterioração controlada**

Inicialmente, o grau de umidade das sementes foi ajustado para 20% através do método da atmosfera úmida (Rossetto et al., 1995), conduzido em placas de Petri de 15 cm de diâmetro forradas com papel de filtro, com amostras de 25 de sementes, colocadas sem haver sobreposição de sementes.

As placas foram mantidas em incubadora tipo BDO, a 25°C pelos períodos de 20, 40, 60 e 120 minutos, até que as sementes atingissem 20% de umidade.

Durante o umedecimento artificial, o teor de umidade das sementes foi monitorado, através de pesagens sucessivas. O teor de água das sementes foi determinado através de estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , até a obtenção do valor de umidade desejado. Nesta ocasião, cada amostra foi colocada em recipiente de folha de alumínio, fechado hermeticamente, permanecendo por 24h em câmara fria (0 a  $10^\circ\text{C}$ ) para atingir o equilíbrio higroscópico. Em seguida, as sementes foram mantidas em banho-maria, a 45°C, durante três períodos (24h, 48h e 72h).

Posteriormente, os recipientes foram imersos rapidamente em água fria para reduzir a temperatura, sendo instalado em seguida o teste de emergência, condutividade elétrica e teor de umidade. As interpretações do teste foram efetuadas aos 60 dias após a semeadura, computando-se as percentagens de plântulas normais e após cada período de deterioração, como descritos acima.

### **Procedimento estatístico**

Os dados foram submetidos á análise de variância, separadamente para cada tratamento, com delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2x2 (períodos envelhecimento / coloração do tegumento da semente), com 4 repetições de 25 sementes para cada tratamento.

Os parâmetros analisados foram porcentagem e velocidade de emergência, condutividade, teor de água das sementes, massa seca e biometria de plântulas (Labouriau, 1983).

Para a análise estatística, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 4 repetições de 25 sementes. Os dados de porcentagem de emergência foram transformados em arco seno. Foram realizadas análises de variância paramétrica, pois os dados foram suficientemente robustos para eventuais desvios de normalidade e homocedasticidade. Para a comparação entre as médias foi utilizado o teste de Tukey, a 5% de probabilidade, quando houve significância. (Santana e Ranal, 2004).

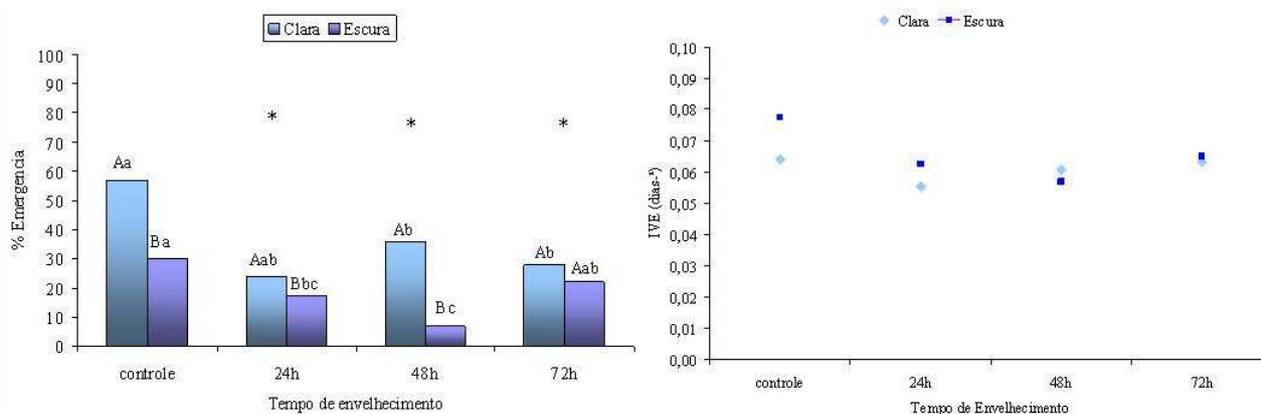
## Resultados e Discussão

### Envelhecimento Acelerado

O envelhecimento acelerado em água (100%) causou alterações na porcentagem de emergência em plântulas de sementes provenientes de claras e escuras de *L. glyptocarpa*. Entretanto, para a velocidade de emergência, não foram observadas diferenças significativas com relação ao tempo de envelhecimento ou a coloração das sementes (Figura 2).

Houve uma redução significativa da porcentagem de emergência do grupo controle a medida que se aumentou o período de exposição ao envelhecimento acelerado. Quanto foram analisadas as porcentagens de emergência em relação a cor das sementes (claras e escuras), ambas apresentaram diferenças significativas para os tratamentos controle, 24h, 48h.

Quando foi analisada a porcentagem de emergência de sementes em função do tempo de envelhecimento, as sementes escuras apresentaram uma porcentagem de emergência significativamente menor nos tempos de envelhecimento de 24 e 48h. A porcentagem de emergência foi significativamente menor para as sementes escuras, para todos os tratamentos em relação ao grupo controle.



**Figura 2 – Porcentagem e velocidade de emergência (IVE) de sementes claras e escuras de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado (água) pelos períodos de 24, 48 e 72h.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si e compara a porcentagem de emergência dentro de cada período de envelhecimento acelerado (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento.

\* Diferenças significativas dos períodos em relação ao controle

O teste de emergência de plântulas em campo constitui um parâmetro indicador da eficiência dos testes para avaliação do potencial fisiológico dos lotes de sementes (Marcos Filho, 1999b).

Porém, o poder de discriminação deste teste não foi decisivo, para sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, evidenciando-se, assim, a importância da utilização de vários testes, tais como condutividade elétrica biometria de plântulas e transferência de matéria seca para avaliação do vigor das sementes.

Ávila *et al.*, (2006), em pesquisas com sementes de rabanete, constataram que o teste de envelhecimento acelerado (água), permite a separação dos lotes em níveis de vigor, após 72 horas de envelhecimento.

Comparando os resultados obtidos com o teste de envelhecimento acelerado em outras espécies florestais, verifica-se uma ampla variedade de respostas. Sementes de *Adenantha pavonina*, diminuiu a germinabilidade à medida que se aumentou o tempo de exposição ao envelhecimento (Fanti e Perez, 1999).

Sementes de *Anadenathera colubrina* submetidas ao envelhecimento acelerado sob temperatura de 40°C durante 96 horas teve 37% de redução na germinação (Garcia *et al.*, 2004) e as sementes de *Dalbergia nigra* perderam a viabilidade quando submetidas a temperatura de 40°C durante 48 h e 50°C durante 24 e 48 h (Borges *et al.*, 2000).

Para sementes de *Eucalyptus grandis* envelhecidas a 42°C e 100%UR durante 96h ocorreu declínio na germinação, indicando que a temperatura utilizada para essas sementes foi eficiente para testar o limite de sua viabilidade (Camargo *et al.*, 2000)

Em sementes de *Copaifera langsdorffii*, ocorreu diminuição na porcentagem de germinação de 96% (controle) para 82%, quando envelhecidas durante 48 h sob temperatura de 42°C (Carvalho *et al.*, 2006).

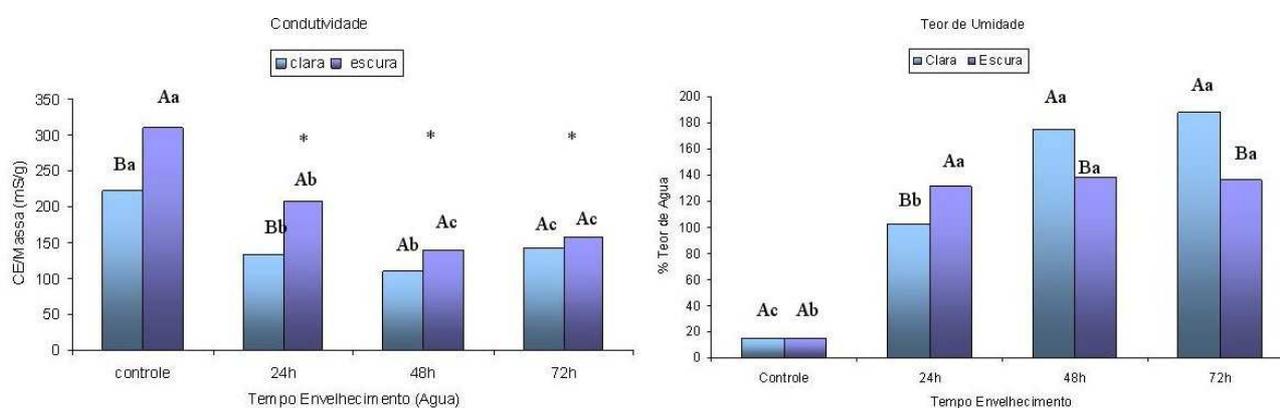
Os valores de condutividade elétrica sofreram alterações significativas em relação ao tempo de envelhecimento e quando se efetuou comparações entre lotes de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*.

Na figura 2, observou-se uma diminuição significativa dos valores de condutividade elétrica para a coloração das sementes claras e escuras em relação ao grupo controle, em todos os períodos de envelhecimento.

Em relação a cor da semente, os valores de condutividade elétrica medida a partir das sementes escuras foi significativamente maior do que as sementes claras.

Comparando-se os dois lotes de sementes, verificou-se que houve um decréscimo dos valores de condutividade com o aumento do tempo de envelhecimento, e com o aumento no teor de umidade. Em comparação entre os lotes, evidenciou que as sementes de coloração claras e escuras

do tratamento controle obtiveram valores de condutividade significativamente maior dos demais tratamentos.



**Figura 3 – Condutividade elétrica e teor de umidade de sementes claras e escuras de *Lafloensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado (água) pelos períodos de 24, 48 e 72h.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara a condutividade e o teor de água dentro de cada período de envelhecimento acelerado (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento.

\* Diferenças significativas dos períodos de envelhecimento em relação ao controle

O teor de umidade das dos lotes de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa* também apresentou variações significativas em relação ao tempo de envelhecimento e coloração das sementes. Quando se analisou somente o teor de água em função da coloração das sementes, o grupo controle obteve menores teores de água que os demais tratamentos.

Para o lote de sementes claras, houve um aumento significativo no teor de água em todos os tratamentos, enquanto que para o lote de sementes escuras só houve aumento significativo do teor de água em relação ao grupo controle.

Este fato é importante para a execução dos testes, considerando-se que a uniformização do teor de água das sementes é imprescindível para a padronização dos procedimentos e obtenção de resultados consistentes (Marcos Filho, 1999b), pois, dentro de certos limites, as sementes mais úmidas são mais afetadas pelas condições do envelhecimento acelerado, apresentando maior grau de deterioração.

O comportamento das sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa* nos experimentos de condutividade e teor de umidade foi diferente dos encontrados na literatura. Era de se esperar que as sementes do grupo controle apresentassem uma condutividade menor, já que o teor de água das sementes no início do experimento estava próximo dos 15% de umidade. No entanto, o que foi observado nos resultados desse experimento é que à medida que se aumentava o tempo de

envelhecimento das sementes, os valores de condutividade elétrica diminuíam significativamente, embora o teor de água das sementes claras e escuras tenha sofrido aumento significativo em todos os tempos de envelhecimento.

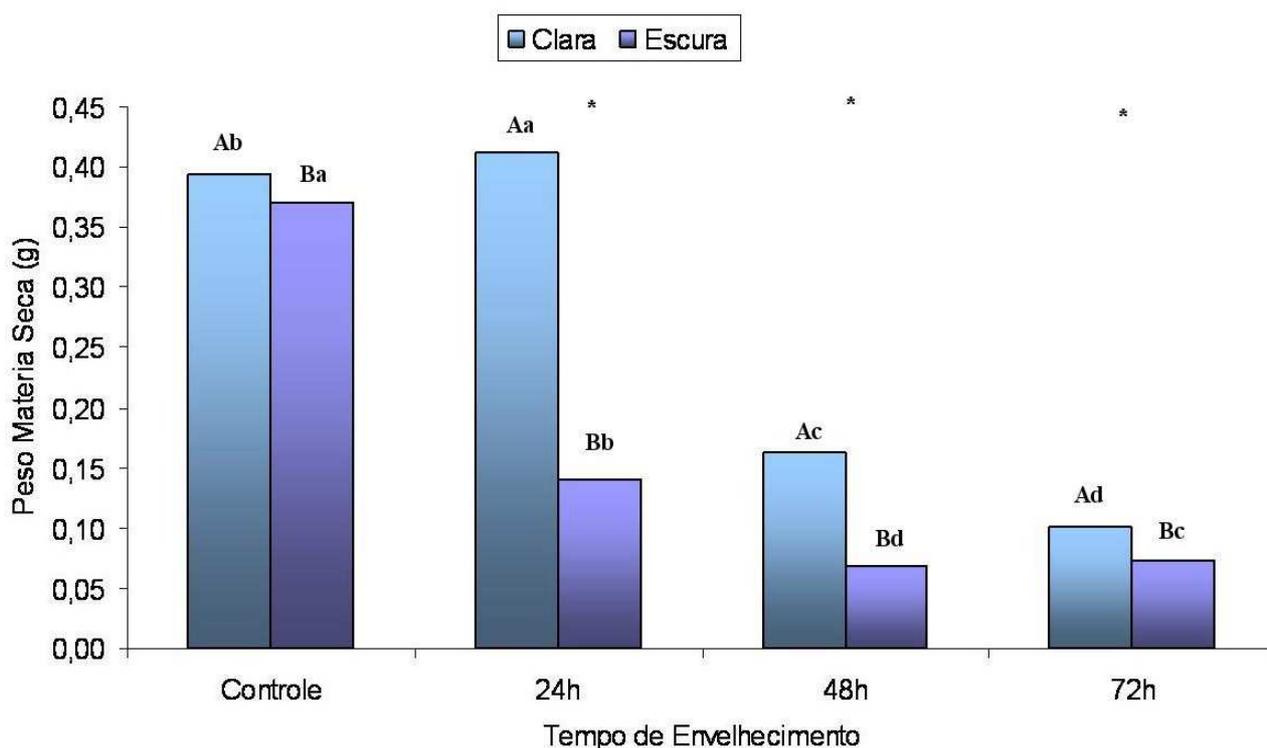
O teste de condutividade tem sido reconhecido como eficiente para a avaliação do vigor de hortaliças, conforme demonstraram Oliveira e Novembre (2005), para pimentão; Abdo *et al.*, (2005), para pepino; Dias *et al.*, (2006), para cebola e Vieira e Dutra (2006), para abóbora.

No entanto, o teste não foi considerado eficiente para melão (Torres e Marcos Filho, 2005) e tomate (Novembre *et al.*, 1995). Nestas espécies, provavelmente a presença da membrana semipermeável, de origem nuclear, permite a entrada de água mas não a difusão de certos eletrólitos para o exterior. Parrella *et al.* (2007) também chegaram à conclusão de que o teste de condutividade elétrica, assim como o de lixiviação de K<sup>+</sup>, não são os mais indicados para a separação de lotes de sementes de mamona em diferentes níveis de qualidade. De acordo com Albuquerque *et al.* (2001), essa variação de resultados pode ser explicada uma vez que os testes podem ser afetados por características de composição química do cultivar, espessura do tegumento, tamanho das sementes, entre outros fatores.

O teste de condutividade elétrica não foi eficiente para avaliar o vigor dos lotes de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, durante o envelhecimento acelerado, mas pode ser uma ferramenta importante se for analisado com outros testes de vigor de sementes realizado nesse trabalho.

Em relação ao peso da matéria seca e comprimento da parte aérea e radicular de plântulas provenientes de sementes com tegumento claro e escuro, submetidas a envelhecimento acelerado (água) durante 24, 48 e 72hs, após 60 dias do início do experimento, observou-se que o peso da matéria seca variou significativamente em relação ao período de envelhecimento (Figura 4).

O peso da matéria seca das plântulas provenientes de sementes claras apresentou redução significativa em quantidade de matéria seca para os períodos de 48 e 72h de envelhecimento acelerado em água. Para as plântulas provenientes de sementes escuras ocorreu redução significativa do peso da matéria seca nos períodos de 24, 48 e 72 h de envelhecimento.



**Figura 4 – Peso da matéria seca plântulas provenientes de lotes de sementes claras e escuras de *Lajoensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado (água) durante 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara a o peso da matéria seca dentro de cada período de envelhecimento acelerado (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento.

\* Diferenças significativas dos período de envelhecimento em relação ao controle

Em estudos de envelhecimento acelerado realizados por Braz e Rosetto (2009), com sementes de girassol, não foi observado incremento significativo de matéria seca durante os tempos de envelhecimento acelerado.

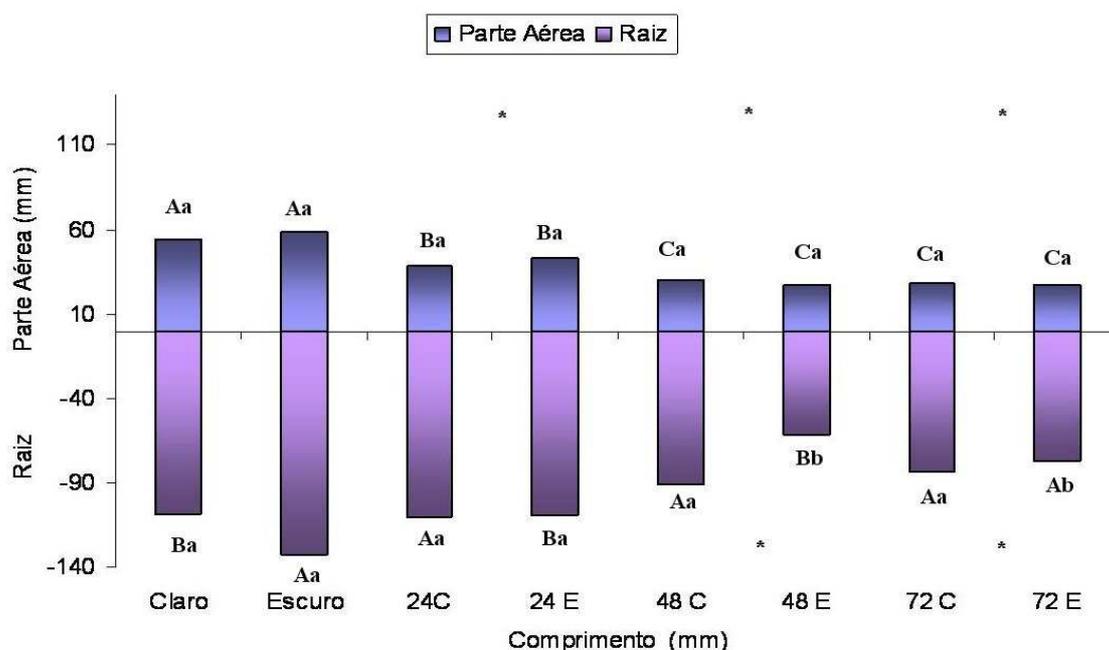
Kikuti e Marcos Filho (2007), não observaram diferenças em relação à massa seca de plântulas de couve flor. O nível de vigor das sementes de couve flor influencia o desenvolvimento inicial das plantas, quando as diferenças entre o potencial fisiológico dos lotes são acentuadas, mas esse efeito não persiste em fases mais adiantadas e não afeta a produção da cultura.

Estudos semelhantes realizados por Rodo e Marcos Filho (2003) observaram em nabo que sementes com menor potencial fisiológico foram associadas a menor percentagem de emergência de plântulas, plantas com menor acúmulo de matéria seca de folhas e raízes de menor diâmetro e comprimento.

Rodo e Marcos Filho (2003) verificaram que o desenvolvimento inicial, avaliado pela altura e peso de matéria seca de plantas de cebola foi afetado pelo vigor das sementes, principalmente

quando as diferenças no potencial fisiológico tornaram-se mais amplas, como resultado da deterioração durante o envelhecimento.

O tamanho das plântulas também foi influenciado significativamente pelo tempo de envelhecimento acelerado, tanto para as plântulas originárias de sementes claras quanto para plântulas originárias de sementes escuras (Figura. 5).



**Figura 5 – Comprimento de plântulas provenientes de lotes de sementes claras e escuras de *Lajoensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado (água) durante 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento.** Para a Parte Aérea : Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara diferenças significativas dos período de envelhecimento em relação ao controle. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento

Para a raiz: Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara a comprimento da raiz dentro de cada período de envelhecimento acelerado (Teste de Tukey). Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento. \* Diferenças significativas entre os período de envelhecimento em relação ao controle

Diferenças significativas de comprimento da parte aérea, foram verificada somente em relação ao tempo de envelhecimento. Não houve diferenças significativas no comprimento da parte aérea comparando-se as plântulas originárias de sementes claras e escuras.

A partir de 48 horas de envelhecimento, tanto para as plântulas originárias das sementes claras quanto para as das escuras foi registrada alterações significativas no comprimento da raiz, em relação período de envelhecimento Quando foi comparado o comprimento das raízes emergidas de plântulas provenientes de sementes claras e escuras, entre cada período de envelhecimento, não foram observadas mudanças significativas de tamanho entre elas.

Essa perda na capacidade germinativa possivelmente ocorre devido as alterações na velocidade de ação de muitas enzimas, redução na produção de ATP, diminuição na síntese protéica e de ácidos nucléicos, degeneração cromossômica e deterioração das membranas, fatos esses, que ocorrem durante o processo de deterioração das sementes causando perda de viabilidade. A oxidação imediata de substancias tóxicas, principalmente os fenóis acumulados no processo de deterioração, foi demonstrado sementes de *Eucalyptus grandis* e, esse fato está atrelado ao aumento da atividade da enzima peroxidase, cuja síntese é estimulada sob condições do envelhecimento acelerado porém, até um determinado limite e, ao exceder este limite a síntese é diminuída (Camargo et al., 2000).

De acordo com Menezes et al, (2008) o teste de comprimento de plântulas ou de suas partes tem sido considerado eficiente para detectar diferenças no potencial fisiológico de sementes de várias espécies.

Ao mesmo tempo, além dessa sensibilidade, os resultados podem apresentar estreita relação com a emergência de plântulas em campo (Krzyzanowski, 1991; Vanzolini *et al.*, 2007).

Carneiro e Guedes (2002) destacaram que a interpretação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico tem sido dirigida principalmente ao cômputo da percentagem final de germinação (plântulas normais), cujas médias podem ser relacionadas ou não com os resultados de outros testes conduzidos após um determinado período de armazenamento das sementes ou com a emergência de plântulas em campo.

Segundo esses autores, os resultados obtidos com o envelhecimento acelerado geralmente são traduzidos pelo grau de tolerância às condições adversas de temperatura e umidade relativa, expressos principalmente pela sobrevivência das sementes e não necessariamente pela diminuição das taxas de reações químicas que determinam a velocidade de germinação e a taxa de crescimento de plântulas, ou seja, eventos da deterioração que precedem a morte das sementes. Conseqüentemente, sugeriram estudos dirigidos à determinação da possibilidade da interpretação do teste de envelhecimento acelerado mediante a avaliação da velocidade de germinação e do crescimento médio de plântulas, complementando o procedimento tradicional de determinação da percentagem de plântulas normais.

Porém, em estudos realizados por Fanti e Perez (2005) observou-se que a permanência na câmara de envelhecimento propiciou o amolecimento do tegumento da semente de *Chorisia speciosa* St. Hil., com aceleração do processo germinativo, fato esse verificado por um incremento na velocidade de germinação com o aumento do tempo de exposição ao envelhecimento precoce. Provavelmente, além do amolecimento do tegumento, o aumento no tempo de envelhecimento proporcionou incremento no teor de umidade, ou seja, pode ter ocorrido pré - embebição das

sementes de paineira durante o envelhecimento, o que dá a vantagem sobre as sementes que não foram envelhecidas, com conseqüente redução no tempo de germinação das sementes viáveis.

Cabe salientar que a maioria dos estudos encontrados é realizada para distinguir o vigor entre lotes de um mesmo cultivar, e que sementes nativas, sem melhoramento genético, como *L. glyptocarpa* podem apresentar diferenças nos padrões de resposta ao teste de envelhecimento acelerado.

O envelhecimento acelerado em água causou alterações na porcentagem de emergência em plântulas de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, mas a partir de 48h a diminuição da porcentagem de emergência foi mais acentuada para as sementes escuras.

O envelhecimento acelerado causou também alterações tanto no teor de água quanto na condutividade elétrica das, mas o teste de condutividade não se mostrou eficiente para detectar diferenças no vigor das sementes com tegumento claro e escuro.

Com relação ao peso seco das plântulas provenientes de sementes claras e escuras, o á partir de 24h de envelhecimento acelerado, as plântulas de sementes escuras tiveram uma maior redução de matéria seca. Já para plântulas provenientes de sementes claras essa redução de matéria seca foi evidente á partir de 48 de envelhecimento.

Para o comprimento das plântulas o envelhecimento acelerado causou diminuição no comprimento das raízes para o tratamento de 48h de envelhecimento, para sementes escuras, e para a parte aérea houve diferenças de comprimento em função apenas ao tempo te envelhecimento, e não a coloração das sementes.

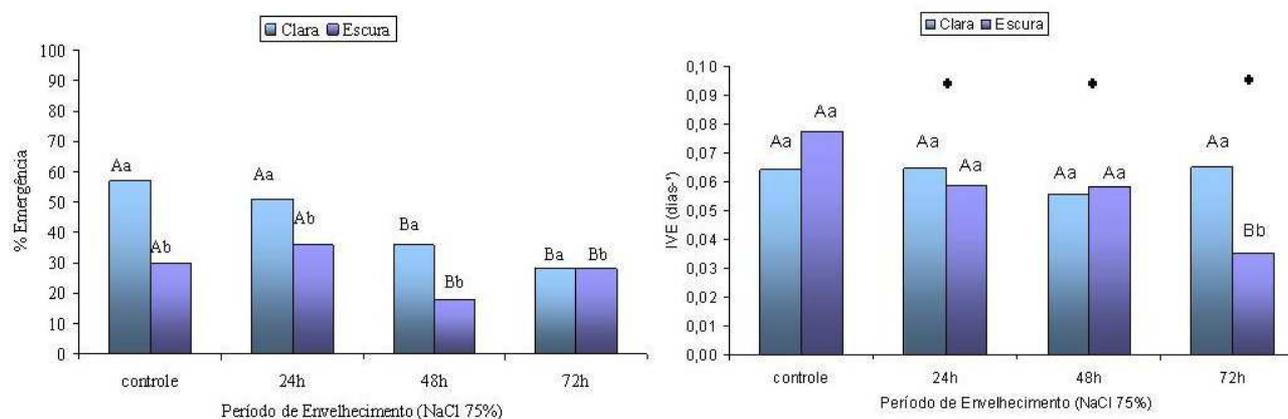
### **Envelhecimento Acelerado com Solução Salina**

Observa-se que a porcentagem de emergência para plântulas provenientes de sementes claras e escuras submetidas a envelhecimento acelerado em soluções de NaCl (75%) apresentaram diferenças em relação aos períodos de envelhecimento para 48 e 72h em relação ao grupo controle (Figura 6).

Quando se analisou a porcentagem de emergência de plântulas de sementes claras e escuras em relação a coloração da semente, foi observado esta diferiu significativamente em todos os tratamentos.

Analisando a velocidade de emergência de plântulas provenientes de sementes claras e escuras submetidas a envelhecimento acelerado em soluções de NaCl (75%), nota-se que houve uma redução significativa da velocidade em função do tempo de envelhecimento (Figura. 6).

Para plântulas provenientes de sementes claras não foi observada reduções nas velocidades de emergência. Naquelas plântulas provenientes de sementes escuras houve redução na velocidade de emergência para 48 de envelhecimento acelerado (NaCl 75%).



**Figura 6– Porcentagem e velocidade de emergência (IVE) de sementes claras e escuras de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado (75%NaCl) pelos períodos de 24, 48 e 72h.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara a porcentagem de emergência dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino.

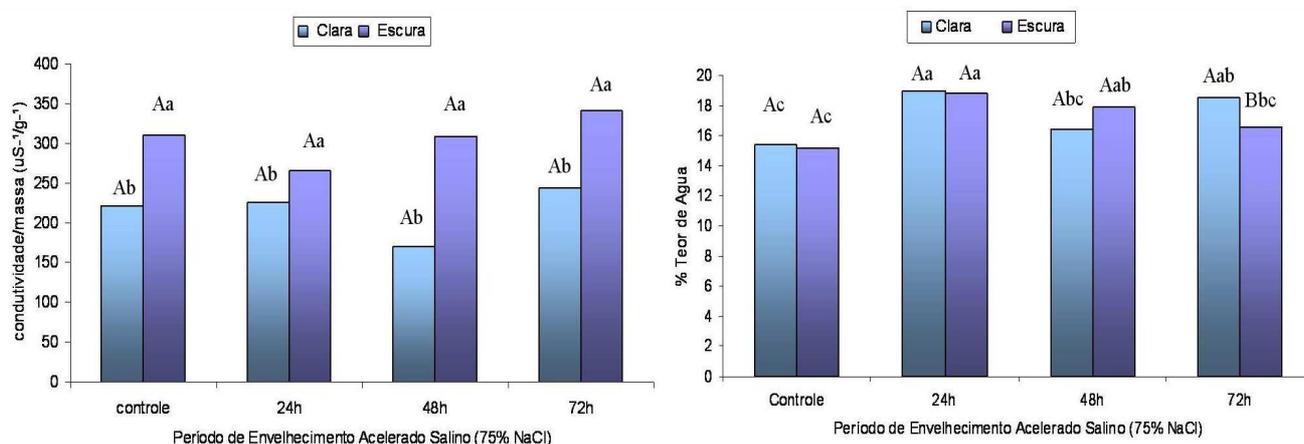
\* Diferenças significativas entre períodos de envelhecimento acelerado salino em relação ao controle

Em estudos realizados por Torres e Marcos Filho, (2001) verificou-se que a utilização de solução saturada de NaCl diminui a absorção de água pelas sementes de maxixe durante o teste de envelhecimento acelerado, acarretando uma taxa de deterioração menos acentuada, resultados menos drásticos e mais uniformes. A exposição por um período de 72 horas constitui opção promissora para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes.

Em relação aos valores de condutividade elétrica obtidos para sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado salino (75% NaCl) os valores não diferiram significativamente em função do tempo de envelhecimento, mas houve diferenças significativas quando se comparou os lotes com diferentes colorações. As sementes claras apresentaram valores de condutividade elétrica significativamente menor do que as sementes escuras para todos os períodos de envelhecimento. O teste de condutividade elétrica para envelhecimento acelerado com solução salina se mostrou eficiente para separar os lotes de sementes com tegumento claro e escuro, independente do período de envelhecimento (Figura 7).

O teor de água para sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento artificial (75% NaCl) apresentou aumento significativo de seus valores em relação ao tempo de envelhecimento. O grupo controle apresentou menores valores de teor de umidade que

os demais tratamentos. Quando foram comparados os teores de água das sementes claras e escuras dentro de um mesmo período de envelhecimento verificou-se que não houve aumento significativo em relação aos tempos de envelhecimento (Figura 7).



**Figura 7 – Condutividade elétrica e teor de umidade de sementes claras e escuras de *Lafloensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado salino pelos períodos de 24, 48 e 72h.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara condutividade e o teor de água relação ao controle dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino.

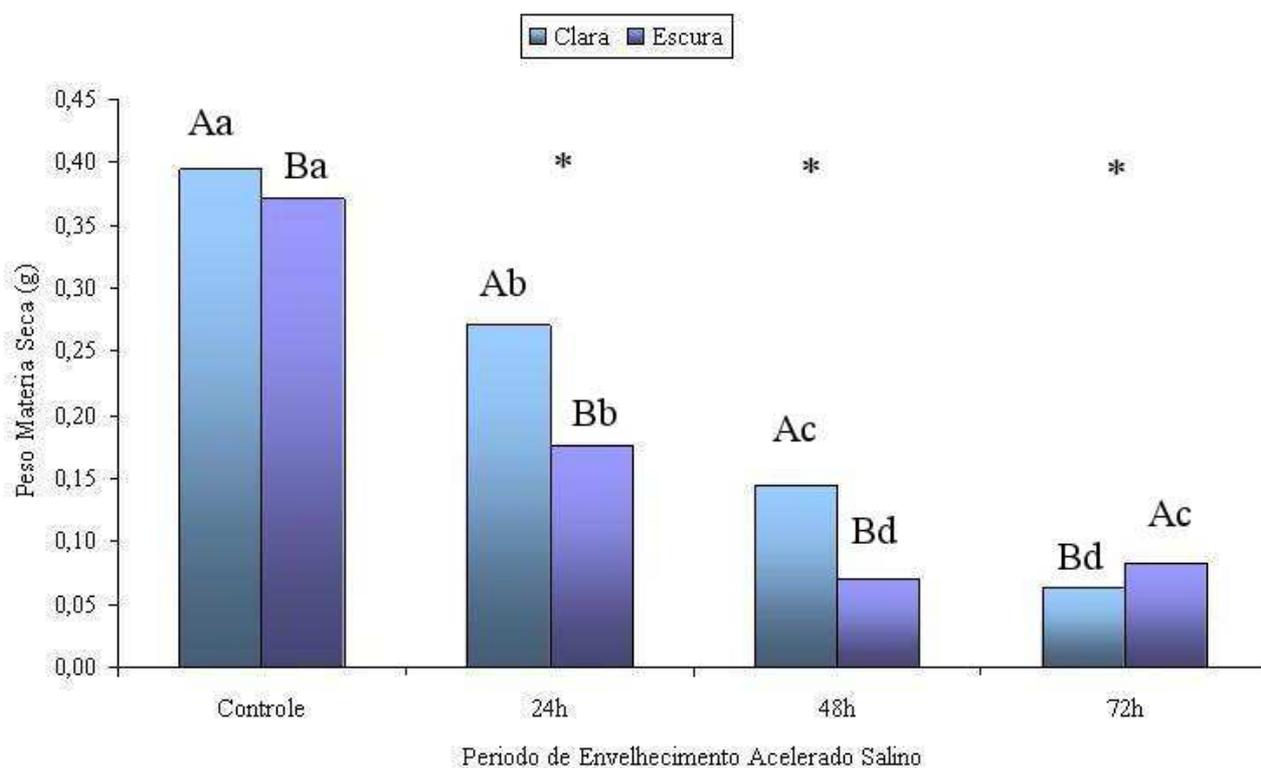
O teor de umidade das sementes expostas à solução saturada de NaCl apresentou valores mais uniformes nos diferentes períodos de envelhecimento em relação aos observados para as envelhecidas pelo procedimento convencional. Isto indica que o uso de solução salina contribuiu para retardar a absorção de água pelas sementes no teste de envelhecimento acelerado.

A utilização de soluções saturadas de sais contribuiu também para reduzir acentuadamente ou impedir o desenvolvimento de microrganismos, minimizando, assim, a interferência de fator adicional nos resultados do teste de envelhecimento (Jianhua e McDonald, 1997, Torres *et al.*, 2009). Observações semelhantes foram feitas por Torres e Marcos Filho (2003), com sementes de melão e Costa *et al.* (2008), com sementes de couve, couve-brócolis e repolho.

Desta forma, a condição mais evidente de estresse para sementes de *L.glyptocarpa* com o uso de solução salina, é provocada principalmente pela elevação da temperatura. Esses resultados concordam com os obtidos por Jianhua e McDonald (1997), Panobianco e Marcos-Filho (1998 e 2001) e Rodo *et al.* (2000). Por outro lado, Ribeiro (2000) trabalhando com sementes de cenoura, alface e brócolis verificou que o uso do envelhecimento acelerado com soluções dos sais NaCl e KCl não proporcionou bons resultados no controle da umidade relativa do ar no interior das caixas

plásticas e que o controle da umidade relativa pela água pura se constituiu em um procedimento melhor do que o envelhecimento acelerado.

Observou-se que o peso da matéria seca diminuiu significativamente em relação ao grupo controle quando comparado com o tempo de envelhecimento. O tamanho das plântulas também foi influenciado significativamente pelo tempo de envelhecimento acelerado, tanto para as plântulas de sementes claras quanto para plântulas de sementes escuras (Figura 8 e Figura 9).



**Figura 8 - Peso da matéria seca plântulas provenientes de lotes de sementes claras e escuras de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado salino durante 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si e compara a o peso da matéria seca dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino.

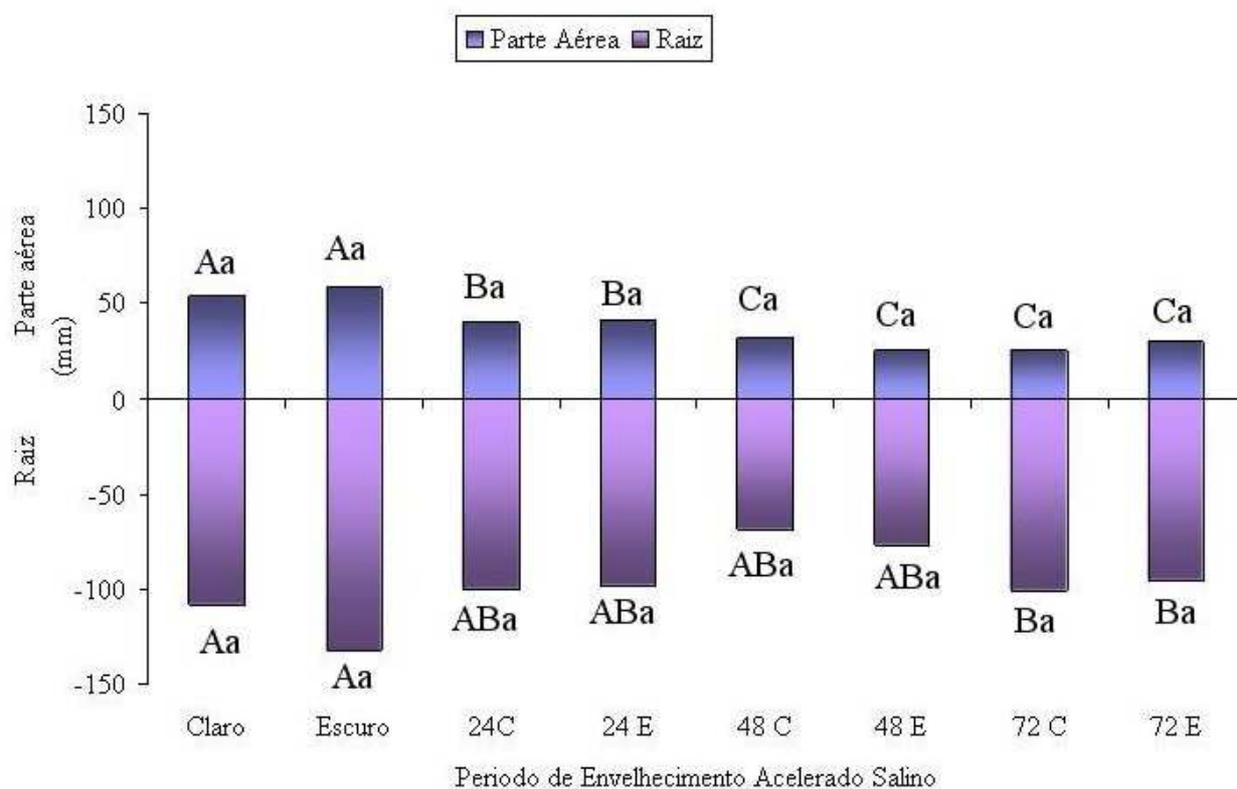
\* Diferenças significativas entre os período de envelhecimento acelerado salino em relação ao controle.

Quando foram comparados os pesos secos de plântulas provenientes de sementes claras e escuras, dentro de cada período de envelhecimento observou-se que o peso seco para plântulas provenientes de sementes claras obtiveram valores significativamente maiores que os observados plântulas provenientes de sementes escuras no controle (0h), 24 e 48h de envelhecimento. Em relação ao tamanho das plântulas submetidas a envelhecimento acelerado (NaCl 75%) pelos

períodos de 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento, foi observado que a parte aérea do grupo controle apresentou tamanho significativamente maior que as demais plântulas que sofreram envelhecimento, tanto para as plântulas de sementes claras quanto para plântulas de sementes escuras (Figura 9).

Quanto ao tamanho da parte aérea, não foram registradas diferenças significativas entre as plântulas provenientes dos lotes de sementes claras e escuras para os diferentes tratamentos.

O comprimento da parte radicular de plântulas provenientes de sementes claras e escuras submetidas a envelhecimento acelerado (NaCl 75%) pelos períodos de 24, 48 e 72h apresentaram diferenças significativas somente para o tratamento 48h de envelhecimento acelerado (NaCl 75%), onde as raízes apresentaram redução significativa do comprimento radicular, tanto plântulas provenientes de sementes claras quanto para sementes escuras.



**Figura 9 - Comprimento de plântulas provenientes de lotes de sementes claras e escuras de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a envelhecimento acelerado salino durante 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento.**

Para a Parte Aérea e radicular : Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara diferenças significativas dos período de envelhecimento acelerado salino em relação ao controle. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de envelhecimento acelerado salino.

O teste de envelhecimento acelerado salino, conduzido pelo período de 48 h, possibilitou uma melhor separação sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa* em diferentes níveis de vigor, indicando que as sementes claras obtiveram um potencial fisiológico maior que as sementes escuras.

Observa-se que o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de sal é promissor para utilização em programas de controle de qualidade, pois além de proporcionar condições para absorção de menores quantidades de água e de maneira mais uniforme pelas sementes, requer equipamentos e metodologia semelhantes ao método tradicional (100% de umidade).

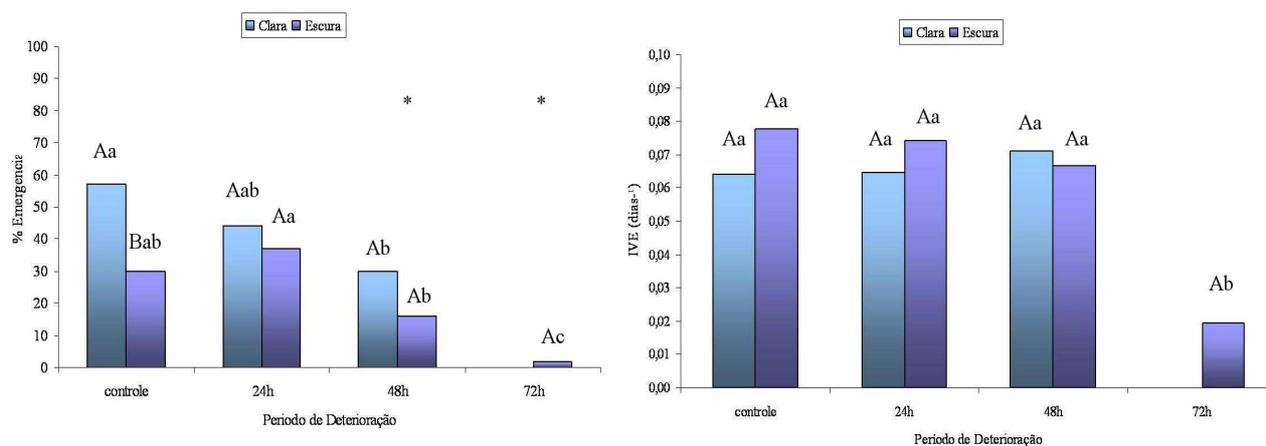
Portanto, a utilização de solução saturada de NaCl diminui a absorção de água pelas sementes de *L. glyptocarpa* durante o teste de envelhecimento acelerado, acarretando uma taxa de deterioração menos acentuada e resultados menos drásticos e mais uniformes. A exposição por um período de 48h constitui opção promissora para a avaliação do potencial fisiológico dessas sementes.

### **Deterioração Controlada**

Nos resultados obtidos para a porcentagem de emergência de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, foi observado que a porcentagem emergência em função do tempo de deterioração foi significativamente menor após o período de 48 e 72h, tanto para sementes claras quanto para sementes escuras (Figura 10).

As sementes escuras apresentaram porcentagens de emergência significativamente menores que as sementes claras quando comparadas com o grupo controle. A porcentagem de emergência para sementes claras em função do tempo de deterioração controlada teve uma redução significativa nos tempos 48 e 72h de deterioração. O mesmo fato ocorreu com a porcentagem de emergência de plântulas originárias de sementes escuras.

Entretanto, para a velocidade de emergência somente foram observadas diferenças significativas a partir de 72 h, tanto para plântulas originárias de sementes claras como para da de sementes escuras. (Figura 10).



**Figura 10 – Porcentagem e velocidade de emergência (IVE) de sementes claras e escuras de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a deterioração controlada pelos períodos de 24, 48 e 72h.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara a porcentagem de emergência dentro de cada período de deterioração controlada (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de deterioração controlada.

\* Diferenças significativas dos períodos de deterioração controlada em relação ao controle

Observou-se que teor de umidade de sementes claras e escuras de *Lafoensia glyptocarpa*, submetidas a deterioração controlada (20% umidade) pelos períodos de 24, 48 e 72hs foi significativamente maior que o observado no grupo controle, porém manteve-se próximo a 20% , como era de se esperar em todos os tratamentos (Figura8) .

Pode-se verificar que as sementes de *L. glyptocarpa* que foram submetidas ao teste de envelhecimento acelerado atingiram o teor de água mais elevado, ao final do teste, em relação aos dados obtidos no teste de deterioração controlada. Semelhantes resultados foram observados por Dutra e Medeiros Filho (2008), os quais verificaram que em sementes de algodão submetidas ao envelhecimento acelerado com diferentes teores de umidade, também apresentavam diferentes teores de umidade no final do teste. Entretanto, notou-se que o teor de água final no teste de deterioração controlada, manteve-se praticamente o mesmo do início do teste, concordando, deste modo, com as afirmações de Krzyzanowski e Vieira (1999) que citam que o teste de deterioração controlada incorpora melhor o controle do teor de umidade da semente e da temperatura durante envelhecimento.

Os valores de condutividade elétrica para sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, submetidas a deterioração controlada (20% de umidade) apresentaram uma diminuição significativa em função do tempo a partir de 48 de deterioração. Quando se observou os valores de

condutividade elétrica em função da cor das sementes, as sementes claras apresentaram valores de condutividade significativamente menores que as sementes escuras (Figura 11).

Em estudos semelhantes realizados por Santos *et al.*, (2003) com sementes de feijão, observou-se nos resultados da condutividade elétrica, que lotes que apresentaram valores de condutividade menores, tiveram portanto maior reparo, integridade, organização do sistema de membranas celulares e, conseqüentemente, maior vigor. Lotes com valores de condutividade menor tiveram maior lixiviação de exsudados para a solução de embebição, aumentando os valores da condutividade elétrica, demonstrando que estes lotes possuíam menor vigor.

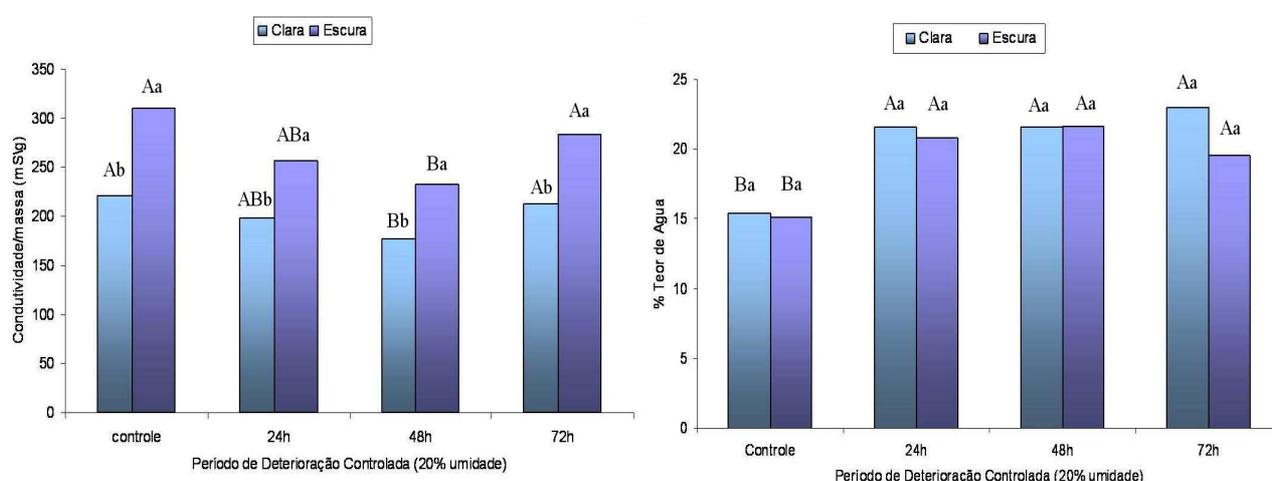


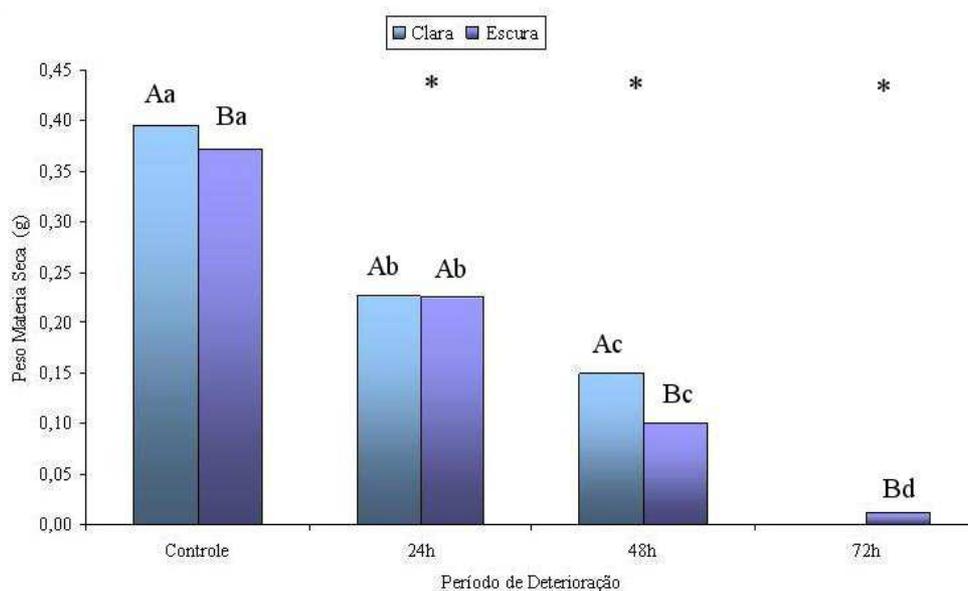
Figura 11 – Condutividade elétrica e teor de umidade de sementes claras e escuras de *Lajoensia glyptocarpa*, submetidas a deterioração controlada pelos períodos de 24, 48 e 72h.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara condutividade e o teor de água relação ao controle dentro de cada período de deterioração controlada (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de deterioração controlada.

Na figura 12 e 13 foram analisados respectivamente o peso da matéria seca e comprimento da parte aérea e radicular em relação a deterioração controlada. As plântulas provenientes de sementes claras e escuras apresentaram redução significativa de peso e este diminuiu significativamente em relação ao grupo controle em função do tempo de deterioração.

Ocorreu também uma diminuição significativa do peso seco das plântulas provenientes de sementes claras e escuras entre todos os tempos de deterioração, quando estas foram comparadas com plântulas do grupo controle.

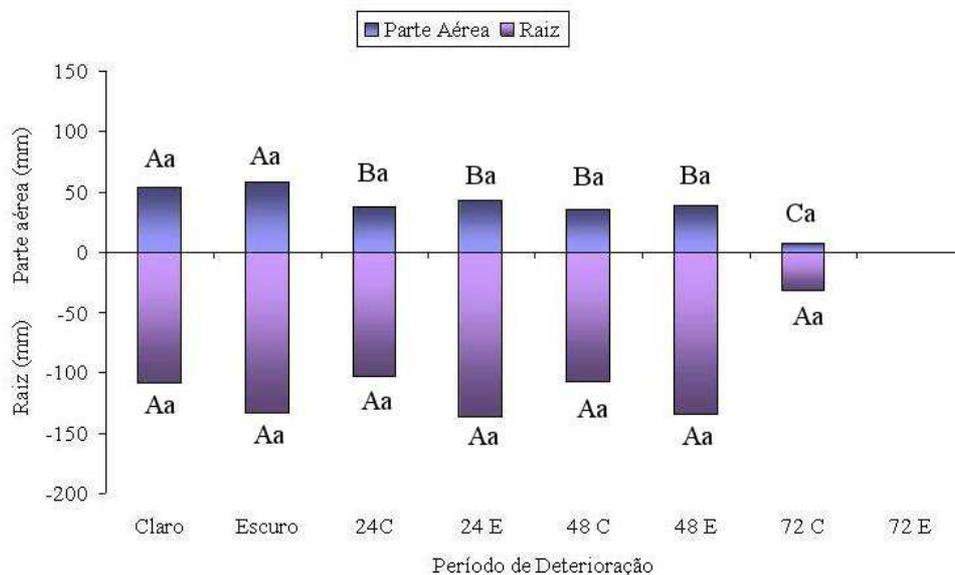


**Figura 12 - Peso da matéria seca plântulas provenientes de lotes de sementes claras e escuras de *Lajoensia glyptocarpa*, submetidas a deterioração controlada durante 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento.**

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara a o peso da matéria seca dentro de cada período de deterioração controlada (Teste de Tukey).

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de deterioração controlada.

\* Diferenças significativas dos período de deterioração controlada em relação ao controle



**Figura 13 - Comprimento de plântulas provenientes de lotes de sementes claras e escuras de *Lajoensia glyptocarpa*, submetidas a deterioração controlada durante 24, 48 e 72h, após 60 dias do início do experimento.**

Para a Parte Aérea e radicular : Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não entre si diferem si e compara diferenças significativas dos período de deterioração controlada em relação ao controle. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste Tukey e compara a coloração da semente dentro de cada período de deterioração controlada.

Muniz *et al.* (2004) verificou que com relação ao teste de deterioração controlada, os resultados indicaram que o ajuste do grau de umidade das sementes para 19%, antes da realização do teste e o uso da temperatura constante de 45°C por 48 horas, foram condições suficientes para provocar um estresse que possibilitou a identificação, para as duas cultivares, dos lotes 1 e 2 como os de vigor mais elevado e o lote 4 como o de menor vigor. Provavelmente, o grau de umidade atingido pelas sementes de melão ao final do teste, intensificando a sua atividade metabólica, foi fundamental para indicar o lote 4, para as duas cultivares, como o de menor potencial fisiológico. Resultados semelhantes foram obtidos em trabalho conduzido por Torres (2002), ao avaliar com o mesmo teste, o vigor de sementes de melão, indicando que o período de 24 horas, com ajuste do grau de umidade das sementes para 24% são também, condições eficientes para realização desse teste, devendo ser consideradas em programas de controle de qualidade de sementes dessa hortaliça.

O teste de deterioração controlada foi capaz de separar os lotes de sementes claras e escuras de *L. glyptocarpa*, á partir de 24h de envelhecimento, demonstrando ser um teste promissor para distinguir o vigor de sementes florestais.

Dentre os testes utilizados no experimento o teste de condutividade elétrica e o teste de transferência de matéria seca foram os mais indicados para distinguir os lotes com melhor potencial fisiológico.

### **Conclusões:**

Para o teste de envelhecimento artificial, o teste fisiológico de transferência de matéria seca foi o mais indicado para separar os lotes de sementes com tegumento claro e escuro de *L.glyptocarpa* quanto ao potencial fisiológico e vigor das sementes.

Para o teste de envelhecimento acelerado salino o teste de condutividade elétrica e o teste de transferência de matéria seca foram eficiente para detectar diferenças de vigor entre os lotes de sementes com tegumento claro e escuro de *L.glyptocarpa*.

Da mesma maneira, o teste de deterioração controlada foi capaz de detectar diferenças de vigor entre os lotes de sementes com tegumento claro e escuro de *L.glyptocarpa* com os testes de condutividade elétrica e o teste fisiológico de transferência de matéria seca.

Os lotes de sementes com tegumento claro apresentaram maior vigor durante todos os testes apresentados, sendo então considerado o lote com melhor qualidade fisiológica.

## Bibliografia

- ABDO M. T. V. N.; PIMENTA R. S.; PANOBIANCO M.; VIEIRA R. D.. Testes de vigor para avaliação de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes** 27: 195-198. 2005.
- ÁVILA P.F.V; VILLELA F.A.; ÁVILA M.S.V. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de rabanete. **Revista Brasileira de Sementes** 28: 52-58, 2006.
- BALDONI, A.B. *et al.* Controle genético de alguns caracteres relacionados à cor da semente de feijão no cruzamento Rosinha x ESAL 693. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 2, p. 1427-1431, 2002.
- BORGES, L.C.; FERREIRA, D.F.; ABREU, A.F.B.; RAMALHO, M.A.P. Emprego de metodologias de avaliação da estabilidade fenotípica na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Ceres**, v.47, p.89-102, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- BRAZ, M. R. S. et al . Testes de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, Oct. 2008.
- BRAZ, M. R. S.; ROSSETTO, C. A. V.. Sunflower plants growth in accordance to the achenes vigour and sowing density. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, Oct. 2009.
- CALIARI, M.F.; SILVA, W.R. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.1, p.239-251, 2001.
- CAMARGO, M.L.P.; MORI, E.S.; MELLO, E.J.; ODA, S.; LIMA, G.P. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e manualmente. **Ciência Rural**, v.10, n.2, p.113-122, 2000.

- CARNEIRO, J.W.P.; GUEDES, T.A. Dinâmica de ocorrências germinativas em amostras de sementes envelhecidas artificialmente. **Informativo ABRATES**, v. 12, n. 1,2,3, p. 44-51, 2002.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J.. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Jaboticabal: FUNEP, 588 p, 2000.
- CARVALHO, D. et al. Eletroforese de proteínas e isoenzimas em sementes de *Copaifera langsdorffii* (Leguminosae Caesalpinoideae) envelhecidas artificialmente. **Revista Árvore**, v.30, n.1, p.19-24, 2006.
- COSTA C.J.; TRZECIAK M.B.; VILLELA F.A.. Potencial fisiológico de sementes de brássicas com ênfase no teste de envelhecimento acelerado. **Horticultura Brasileira** 26: 144-148. 2008.
- DIAS, D.C.F.S.; VIEIRA, A.N.; BHERING, M.C. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de hortaliças: feijão-de-vagem e quiabo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.408-413, 1998.
- DUTRA, A S; MEDEIROS FILHO, S. Controlled deterioration test in vigor determination in cotton seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30, n. 1, 2008.
- FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Influência do substrato e do envelhecimento acelerado na germinação de olho-de-dragão (*Adenanthera pavonina* L. – Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.135-141, 1999.
- FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Efeitos do envelhecimento precoce no vigor de sementes de *Chorisia speciosa* St. Hil. - Bombacaceae. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 3, June 2005.
- FRANÇA NETO, *et al.* Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja. In: Krzyzanowski, F.C. *et al.*, (Coord.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina:Abrates, 1999. cap. 8.5, p. 1-28.
- GARCIA, L. C.; NOGUEIRA, A. C.; ABREU, D.C.A. Influencia do envelhecimento acelerado no vigor de *Anadenathera colubrina* ( Vellozo) Brenan Mimosaceae. **Ciência Florestal**, Santa Maria. v. 14, p.263-285,2002.

- GIURIZATTO, M. I. K.; SOUZA, L. C. F.; ROBAINA, A. D.; GONÇALVES, M. C. Efeito da época de colheita e da espessura do tegumento sobre a viabilidade e o vigor de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v.27, n.4, p.771-779, 2003.
- HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. Handbook of vigor test methods. Zurich: **ISTA**, 1995. 117p.
- JIANHUA, Z.; MCDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small seeded crops. **Seed Science and Technology**, v.25, p.123-131, 1997.
- KIKUTI, A. L. P.; MARCOS FILHO, J.. Potencial fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 1, 2007.
- KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: **ABRATES**. cap. 2, p.1-24, 1999.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. Informativo **ABRATES**, Londrina, v.1, n.2, p.15-50, 1991.
- LINGEGOWDA, H.; ANDREWS, H. Effects of seed size in cabbage and turnip on performance of seeds, seedlings and plants. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Washington, v.63, p.117-125, 1973.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) Vigor de Sementes: conceitos e testes. Londrina: **ABRATES**, 1999b. cap.3, p.1-24.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.
- MATTHEWS, S. Controlled deterioration: a new vigour test for crop seeds. In: Herbbblethwaite, P.D. **Seed Production**. London: Butterworths, p.647-660, 1980.

- MEDINA FILHO, HERCULANO PENNA *et al.* Evidência isoenzímica sobre a origem interespecífica do café Piatã. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n. 2, 1995.
- MENEZES, Vanessa Ocom *et al.* Envelhecimento acelerado em sementes de *Zinnia elegans* Jacq. colhidas em diferentes épocas. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 30,
- MERTZ, L. M. *et al.* Structural differences between soybean seeds coat with contrasting permeability. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 31, n. 1, 2009.
- MUNIZ, M. F.B *et al.* Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Rev. bras. sementes**, Pelotas, v. 26, n. 2, Dec. 2004
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. Pp. 2-15. In: F.C. KRZYZANOWSKI; R.D. VIEIRA & J.B. FRANÇA NETO. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES. 1999.
- NOVEMBRE, A.D.L.C.; DIAS, D.C.F.S.; CHAMMA, H.M.C.P.; MARCOS FILHO, J. Estudo da metodologia dos testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica para sementes de tomate. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.3, n.3 p.140, 1995.
- OLIVEIRA S. R. S; NOVEMBRE A. D. L. C.. Teste de condutividade elétrica para as sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes** 27: 31-36. 2005.
- PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, p.306-310, 1998.
- POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. Evaluation of controlled deterioration: a new vigour test for small seed vegetable. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.9, n.22, p.663-640, 1981.
- RODO, A.B.; MARCOS FILHO, J. Accelerated aging and controlled deterioration for the determination of the physiological potential of onion seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.60, n.2, p. 465-469, 2003.
- RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.289-292, 2000.

- ROSSETO, C.A.V.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos de envelhecimento acelerado e deterioração controlada para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.52, n.1, p. 123-131, 1995.
- ROSSETO, C.A.V.; LIMA, T.M.; GUIMARÃES, E.C. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, p.795-801, 2004.
- SANTOS, C.M.R.; MENEZES, N.L.; VILLELA, F.A. Teste de deterioração controlada para a avaliação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.25, p.28-35, 2003.
- TEKRONY, D.M. Accelerated aging test. **Journal of Seed Technology**, Bolise, v.17, p.110-120, 1993.
- TORRES S. B; MARCOS FILHO J. Accelerated aging melon seeds. **Scientia Agrícola** 60: 77-82. 2003.
- TORRES S.B.; MARCOS FILHO J. Physiological potential evaluation in melon seeds (*Cucumis melo* L.). **Seed Science and Techonology** 33: 341-350. 2005.
- TORRES, S.B.; MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria*L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.23, n.2, p.108-112, 2001.
- VANZOLINI, S.; ARAKI, C.A.S.; SILVA, A.C.M.T.; NAKAGAWA, J. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 2, p. 90-96, 2007.
- VIEIRA R.D.; DUTRA, A.S.. Condutividade elétrica em sementes de abóbora, híbrido Bárbara. **Horticultura Brasileira** 24: 305-308. 2006.

### Capítulo 3

**Influência alelopática de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne sobre a germinação de sementes, crescimento e na morfologia das células xilemáticas de plântulas de *Sesamum indicum* L. e no crescimento de coleótilos de trigo.**

#### RESUMO

Este trabalho avaliou o potencial alelopático de extratos foliares e radiculares (5 e 10% - p/v peso seco / volume) de *Lafoensia glyptocarpa* na germinação e no crescimento de plantas jovens de gergelim e em suas células xilemáticas. Outro aspecto analisado foi a reversão dos efeitos alelopáticos produzidos em plântulas de gergelim após a permanência de dois dias nos extratos de folhas e raízes de *L. glyptocarpa*. Além disso, foi realizado um fracionamento com extratos de folha das *L. glyptocarpa*. A partir dos resultados verificou-se que os extratos de folhas e raízes de *L. glyptocarpa* causaram alterações na germinação das sementes e no crescimento das plântulas de gergelim e estas não são reversíveis, portanto, a parte aérea e de raiz não retomam o crescimento normal após serem retiradas dos extratos. Foram observadas também alterações na raiz primária, além de uma diminuição no tamanho e no número de células do metaxilema. Com o fracionamento do extrato aquoso de folhas de *L. glyptocarpa*, verificou-se a presença de sinergismo entre suas frações. Extratos aquosos de *L. glyptocarpa* têm efeito alelopático sobre o desenvolvimento de gergelim.

**Palavras-chave:** Alelopatia, gergelim, *L. glyptocarpa*, sinergismo, germinação.

**ABSTRACT**

This study aimed to examine the allelopathic potential of *Lafoensia glyptocarpa* leaf extracts on the germination and growth of young plants of sesame and in the xylematic cells. Using leaf and root extracts (5 and 10% w/v) were evaluated the effects on the germination, the seedling growth, and the root xylem cells of sesame and also, the changes of seedling growth recovery after staying during two days under influence of *L. glyptocarpa* extracts. Alterations in the seed germination and seedling growth were recorded and a growth recover after released the extract influence was not observed. Extracts from leaves and roots of *L. glyptocarpa* produced a reduction in the xylem cells size, changes in the primary root and on the number of xylematic root cells. Due this observed effects a fractionation of aqueous extract was done and was verified the presence of synergism between fractions. *L. glyptocarpa* aqueous extracts have allelopathic effects on the development of sesame.

**Key words:** Allelopathy, sesame, *L. glyptocarpa*, synergism, germination

## Introdução

Durante o processo evolutivo, as plantas desenvolveram vários mecanismos para sobreviver a estresses bióticos e abióticos. Entre eles encontramos os processos alelopáticos mediados por substâncias químicas, que afetam a germinação, a emergência de plântulas ao seu redor, e a dinâmica das comunidades.

As plantas sintetizam uma grande diversidade de substâncias químicas em resposta a diferentes fatores ambientais. Estas substâncias, provenientes do metabolismo secundário das plantas, são conhecidas como aleloquímicos. A grande variedade de compostos produzidos foi possivelmente originada durante processos evolutivos em resposta à ação de microrganismos e da herbivoria (Waller 1999).

A alelopatia envolve a adição de substâncias no ambiente, que influenciam o desenvolvimento de um novo indivíduo, prejudicando-o ou favorecendo-o (Rizvi *et al.* 1992). Em comunidades vegetais, as interações alelopáticas são resultantes da ação de diferentes aleloquímicos. Deste modo, pode-se assumir que a atividade biológica de uma mistura de aleloquímicos será determinada não apenas por sua concentração, mas também pela interação entre eles.

Há poucas informações na literatura sugerindo a existência de sinergismos como resultado da ação combinatória de diferentes aleloquímicos (Ferreira 2005; Souza Filho 2006; Einhellig 1995; Weidenhamer *et al.* 1994).

Nos poucos trabalhos em que essa hipótese é testada, a combinação entre dois ou mais agentes alelopáticos envolve concentrações fixas de determinadas substâncias e as inferências são baseadas no aumento da inibição de um determinado processo biológico, onde se conclui que exista um sinergismo, ou na ausência de aumento da referida inibição, onde se conclui pela inexistência de sinergismo.

Um determinado tipo de influência química pode ser denominada de inter-específica quando uma espécie vegetal exerce efeito alelopático sobre outras espécies ou intra-específica se o efeito for sobre ela mesma (Macias *et al.* 2007).

Substâncias isoladas com esta propriedade têm sido utilizadas como alternativa ao uso de herbicidas e pesticidas na agricultura (Walter 1999).

O estímulo ou a inibição, no desenvolvimento de outras plantas por aleloquímicos, sinalizam de forma secundária mudanças ocorridas em nível molecular e celular. Alterações nas estruturas citológicas e ultra-estruturas, na permeabilidade da membrana, nos processos metabólicos e no material genético, podem induzir alterações no DNA e RNA, de forma direta ou indireta (Ferreira & Áquila 2000).

Dentre as espécies nativas arbóreas que apresentam efeitos alelopáticos, encontra-se a *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Espindola *et al.* 2006). Essa espécie é conhecida popularmente como mirindiba rosa, e pertence à família Lythraceae. Apresenta crescimento rápido, e por isto é recomendada para plantios mistos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente. É uma planta semidecídua, heliófita, característica da floresta pluvial atlântica. Ocorre tanto no interior da floresta primária densa como em formações secundárias e apresenta dispersão restrita e irregular, ocorrendo geralmente em baixa frequência (Lorenzi 2002).

Foi constatado que a maioria das suas sementes não é capaz de germinar em solos próximos a indivíduos da mesma espécie. O estudo fitoquímico desta espécie, realizado a partir do caule e da casca dos frutos, conduziu ao isolamento e identificação de ésteres derivados do ácido cinâmico, cumarato de alquila, ferulato de alquila e cinamato de sitosterila, além de saponinas e triglicérides (Carvalho *et al.* 2006).

Sabe-se que os aleloquímicos podem estar presentes em todos os órgãos das plantas, incluindo folhas, flores, frutos, raízes, rizomas, caules e sementes (Borella *et al.*, 2009). Face ao exposto acima, este trabalho teve como objetivos:

- Identificar os possíveis efeitos alelopáticos causados por extratos aquosos de folhas e raízes de *Lafoensia glyptocarpa* Kohne, na germinação, crescimento e na morfologia das células radiculares de gergelim.
- Observar se existe ou não reversibilidade do efeito alelopático nos extratos desta espécie
- Realizar o fracionamento do extrato que possui maior atividade alelopática e verificar a atividade de cada uma das frações.

## **Material e Métodos**

Folhas maduras e raízes de *Lafoensia glyptocarpa* Kohne foram coletadas no *campus* da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz- USP em Piracicaba - SP em setembro de 2007.

Após a coleta o material vegetal foi triado manualmente, posto para secar em estufa com ventilação a 40 °C durante 72 h, moído em moinho industrial, acondicionado em sacos plásticos e congelado para posterior utilização nos ensaios biológicos.

## **Preparação do Extrato Aquoso**

Ao material vegetal seco e triturado foi adicionado água destilada para se obter as concentrações de 5 e 10% de peso/volume (g/mL). Em seguida, os extratos de folhas e raízes foram deixados em repouso durante três horas no escuro, em geladeira. Posteriormente, foram filtrados com auxílio de bomba à vácuo acoplada a um funil de Buchner, recoberto com papel de filtro qualitativo e imediatamente utilizados.

## **Bioensaio de Germinação**

A espécie alvo utilizada para este bioensaio foi o gergelim (*Sesamum indicum* L., Pedaliaceae).

Foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com duas folhas de papel de filtro umedecidas com 5 mL dos extratos de folha ou raiz 5 e 10% além de água destilada (como controle), onde foram distribuídas 30 sementes de gergelim.

As placas seladas com papel filme de PVC foram mantidas em câmeras B.O.D. climatizadas a 28°C ( $\pm$  2) com fotoperíodo de 12 horas. Para este bioensaio foram realizadas quatro repetições de 30 sementes.

As leituras foram realizadas em intervalos de 12 horas, durante sete dias, considerando-se sementes germinadas as que apresentaram 2 mm de protrusão de radícula e curvatura geotrópica positiva (Borguetti & Ferreira, 2004). Os parâmetros analisados foram porcentagem e velocidade de germinação, calculadas de acordo com fórmulas propostas por Labouriau & Valadares (1976). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

## **Bioensaio de Crescimento**

Para a avaliação dos efeitos dos extratos sobre o crescimento das plântulas, foram utilizadas as mesmas concentrações de extrato de folhas ou raízes (5 e 10%). A espécie alvo utilizada para este bioensaio foi o gergelim. As sementes previamente germinadas em água, apresentando emissão de raiz primária de cerca de 2 mm de comprimento, foram transferidas para caixas

plásticas transparentes (11 x 29 x 9,5 cm), forradas com duas folhas de papel de filtro e umedecidas com 20 mL de extrato ou água.

O experimento foi conduzido em câmaras tipo B.O.D. a 28°C e fotoperíodo de 12 h. Após 7 dias, foram feitas medidas da parte aérea e da parte radicular das plântulas com paquímetro digital e pesada a massa seca total das plântulas, após a permanência em estufa a 40°C durante 72 hs.

As plântulas foram analisadas quanto à presença ou ausência de folhas ou alterações nas raízes.

### **Bioensaio de Recuperação**

As sementes de gergelim previamente germinadas em água, apresentando emissão de raiz primária de cerca de 2 mm de comprimento, foram transferidas para caixas plásticas transparentes (11 x 29 x 9,5 cm), forradas com duas folhas de papel de filtro e umedecidas com 20 mL de extrato de folhas ou raízes (5 e 10%) ou água, nas mesmas condições de luz e temperatura citadas no bioensaio de crescimento.

Decorridos dois dias nesta condição, todas as plântulas foram transferidas para caixas contendo água destilada, e permaneceram nesta condição até o 7º dia.

As avaliações realizadas foram número total de plântulas normais e massa seca total das plântulas em cada repetição. As plântulas foram analisadas quanto à presença ou ausência de folhas ou alterações nas raízes.

### **Avaliações dos Efeitos Alelopáticos em Elementos do Xilema**

Para este tipo de avaliação, as plântulas cresceram nas mesmas condições de luz e temperatura citadas no bioensaio de crescimento. Decorridos quatro dias, as plântulas foram retiradas das caixas, e com o auxílio de um estilete, foi separado um segmento da raiz primária e colocado em álcool 70%.

A coloração do material vegetal foi feita a partir do método Fuchs modificado (Kraus & Arduim, 1997), onde as raízes foram imersas em álcool (70%) durante uma semana e depois colocadas em soda cáustica (NaOH a 25%) durante o período de 24 a 120 h até que o material estivesse clarificado (Gatti, 2008-dados não publicados).

Decorrido este período, o material vegetal foi colocado em uma solução de safranina (C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>C<sub>1</sub>) e soda cáustica (NaOH a 50%) e colocadas em estufa a 60°C durante 24 h.

Após a coloração, o material vegetal foi colocado em lâminas de vidro com xarope de Apathy para observação em microscópio óptico (Olympus-BX41) acoplado com câmara fotográfica (Sony CCD-IRIS).

Foram utilizadas quatro raízes primárias provenientes de plântulas de gergelim crescidas em água ou nos extratos de raiz ou folha de *L. glyptocarpa*. De cada raiz foi fotografado 50% de seu comprimento total, da região central em direção ao colo (Gatti, 2008). Destas fotos foram medidas as células centrais do metaxilema. De cada fotografia foram realizadas medidas todas as células do metaxilema, sempre em aumento de 20 vezes (Programa Image Pro Plus).

#### Fracionamento do Extrato Bruto - Extração Líquido-Líquido

Para extração líquido-líquido foi preparado extrato aquoso com 50 g de folhas *L. glyptocarpa* diluído em 500 mL de água destilada. Este extrato foi mantido em geladeira no escuro durante 24 horas. Para esta extração foram utilizados 500 mL do extrato aquoso concentrado de folhas. Este extrato foi extraído com os solventes orgânicos, em ordem crescente de polaridade: hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol utilizando-se um funil de separação. Durante a extração, agitou-se levemente o funil para melhor extração dos aleloquímicos. Neste funil foram passados 500 mL de cada solvente. Fez-se duas extrações consecutivas.

Em seguida, as frações foram deixadas em repouso até a separação de duas fases: a do solvente adicionado e a do extrato aquoso. As fases obtidas para cada um dos solventes (hexano, diclorometano e acetato de etila, acetona e metanol) foram reunidas e secas em rotavapor. Com as frações obtidas da extração fez-se a avaliação daquelas com maior potencial alelopático.

#### Bioensaio com coleóptilo

Para este bioensaio foram utilizadas plântulas obtidas de sementes de trigo (*Triticum aestivum* var. Pizon) germinadas em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, forradas com papel de filtro umedecido com água destilada. As placas foram mantidas em estufa a 24° C ( $\pm 1$ ) na ausência de luz, durante três dias (Gatti, 2008)

Após o prazo de três dias, as plântulas foram selecionadas e colocadas numa guilhotina de Van der Weij, onde foram descartados os 2 mm apicais da parte aérea. Do restante, foram cortados segmentos de coleóptilos de 4 mm de comprimento, os quais foram mantidos em meio nutritivo durante uma hora antes de serem utilizados para o bioensaio. Todo este procedimento foi realizado sobre luz verde de segurança (Gatti, 2008).

O crescimento dos coleóptilos foi realizado em tubos de ensaio contendo solução tampão fosfato de potássio (pH 5,6), composto de 10g de sacarose, 0,525 g de ácido cítrico e 15 g de fosfato dibásico dissolvidos em meio litro de água destilada. A este tampão foram adicionadas as frações provenientes da extração líquido-líquido dissolvidas em dimetilsulfóxido (DMSO). As frações

dissolvidas em DMSO foram diluídas para que nas diferentes concentrações finais a quantidade de DMSO presente fosse igual, e que não ultrapassasse 0,1%.

De cada uma das frações obtidas com a extração líquido-líquido foi utilizado 10 mg, e as concentrações utilizadas para os bioensaios foram 600, 300 e 150 ppm.

Dois mL de cada solução e suas respectivas concentrações foram colocadas em tubos de ensaios onde posteriormente foram adicionados os coleóptilos de trigo. Estes tubos foram colocados em uma centrífuga com rotação de 6 rpm durante 24 horas a 25°C no escuro. Além dos tubos contendo as frações e suas concentrações foram feitos dois controles, um com água mais DMSO e outro somente com a solução tampão. De cada uma das frações, nas diferentes concentrações, e dos controles foram feitas seis repetições contendo cinco coleóptilos cada. Após 24 horas de crescimento, os coleóptilos foram retirados dos tubos de ensaio, fotografados com câmera digital e medidos com auxílio do programa Image Pro-Plus.

### **Fracionamento**

Com base nos resultados obtidos no bioensaio dos coleóptilos de trigo, foi realizado um outro fracionamento utilizando-se a fração que apresentou maior potencial de inibição de crescimento. Assim, a fração acetato de etila, obtida a partir da extração líquido-líquido, foi submetida ao fracionamento cromatográfico utilizando sílica gel 60 (fase normal) (70 -230 mesh ASTM) como fase estacionária. Como fases móveis foram utilizadas uma série de eluentes em ordem crescente de polaridade: hexano 100%, hexano + acetato 75, 50, 25 %, acetato de etila 100%, acetato de etila + acetona 75, 50, 25 % , acetona 100 %, acetona + metanol 75, 50, 25 % e metanol 100%.

Com este procedimento foram obtidas 82 sub-frações, que foram novamente reunidas de acordo com semelhanças entre elas, visualizadas em cromatografia de camada delgada analítica (CCDA), resultando 8 sub-frações. Cada cromatoplaça foi observada sob luz ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm e revelada com *Oleum* (solução de 10 mL de ácido sulfúrico e 200 mL de ácido acético dissolvidos em 40 mL de água).

Novamente foi realizado um bioensaio do coleóptilo para determinar o potencial alelopático das oito sub-frações obtidas.

### **Análise Estatística**

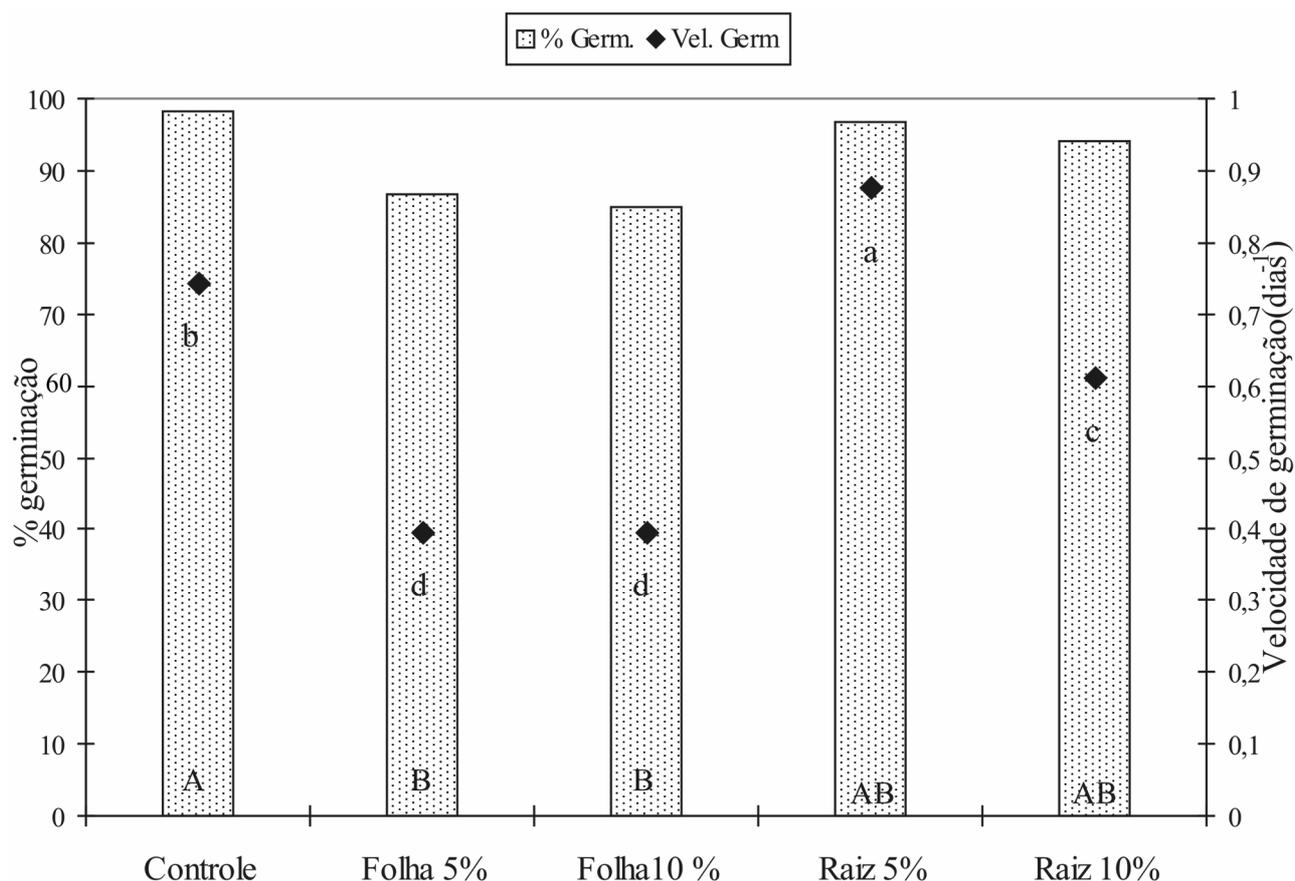
O delineamento experimental dos bioensaios foi inteiramente casualizado, com quatro repetições para cada tratamento. Os valores de porcentagem foram transformados em arco seno (Labouriau, 1983). Os dados foram submetidos à análise de variância e, dependendo da

distribuição, foi utilizado teste não paramétrico (Kruskal-Wallis) ou paramétrico (Tukey) a 5% de probabilidade (Santana & Ranal, 2005). As análises estatísticas foram realizadas no Programa Estat 5.0.

## Resultados e discussão

### Bioensaio de germinação

Observa-se na figura 1 que os extratos de folhas de *L. glyptocarpa* causaram alterações tanto na porcentagem quanto na velocidade de germinação das sementes de gergelim para as duas concentrações testadas. Entretanto, o extrato de raiz a 5% aumentou a velocidade de germinação, enquanto que o extrato de raiz a 10% diminuiu a velocidade de germinação quando comparadas com o controle.



**Figura 1** – Porcentagem e velocidade de germinação de sementes de gergelim submetidas a ação de extratos aquosos de folhas (5 e 10 %) e raízes (5 e 10%) de *Lafoensia glyptocarpa*. Médias seguidas pelas letras maiúsculas diferem si para os dados de porcentagem de germinação (Teste de Tukey). Médias seguidas pelas letras minúsculas diferem entre si pelo teste Tukey para velocidade de germinação

Sabe-se que a germinação é muito menos sensível aos aleloquímicos do que o crescimento das plântulas, mas uma redução significativa tanto na porcentagem da germinação quanto na velocidade da germinação de sementes indicam que os aleloquímicos presentes no extrato vegetal estão atuando sobre a espécie alvo (Ferreira & Borguetti 2004). Atrasos na germinação de sementes de qualquer espécie podem ter implicações biológicas importantes, pois se refletirão no estabelecimento da planta em condições naturais e na relação com espécies vizinhas (Escudero 2000; Chaves *et al.* 2001). O estudo fitoquímico de *L. glyptocarpa*, realizado por Carvalho *et al.* (2006) revelou a presença de ácido cinâmico, cumarato de alquila, ferulato de alquila. Baleroni *et al.* (2000) demonstraram que os ácidos p-cumáricos e ferúlicos aumentaram o conteúdo total de lipídeos nos cotilédones de sementes de canola e sugerem que esta alteração aconteça por redução na mobilização de reservas durante a germinação, na presença destes compostos fenólicos, alterando o padrão de germinação das sementes.

Dentre as possíveis alterações no padrão de germinação, são observados efeitos sobre a permeabilidade de membranas, transcrição e tradução de RNA, integridade dos mensageiros secundários, da respiração, conformação de enzimas e de receptores, ou uma ação conjunta destas alterações (Ferreira & Áquila, 2000; Maraschin - Silva & Áquila 2006).

Todas as respostas fisiológicas das plantas aos aleloquímicos são particularmente complexas, pois não se trata apenas de uma adaptação a um determinado estresse biótico, mas sim de gerações de co-evolução entre as espécies.

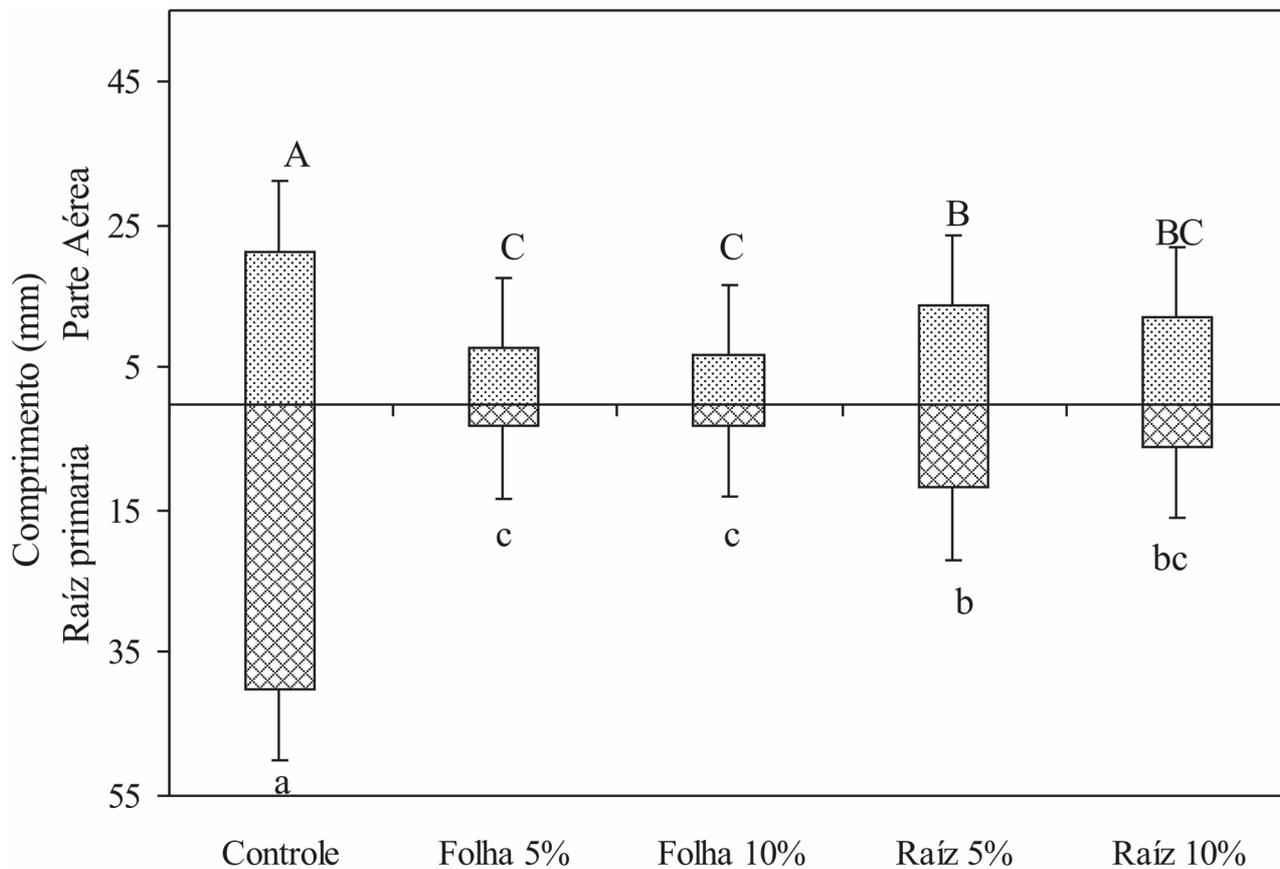
A avaliação do pH e do potencial osmótico dos extratos vegetais é fundamental quando se desconhece sua constituição em açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, íons e outras moléculas, pois valores extremos tanto de pH quanto de potencial osmótico dos extratos podem atuar sobre as sementes e/ou plântulas e mascarar o efeito alelopático (Carmo *et al.* 2007). Neste presente estudo, tanto o pH quanto o potencial osmótico dos extratos foram encontrados dentro de uma faixa de valores aceitáveis como não interferentes sobre a germinabilidade das sementes.

Os extratos de aquosos *L. glyptocarpa* alteraram o processo germinativo das sementes de gergelim, sugerindo que estas alterações podem também ocorrer em ambiente natural. A inibição da germinação foi mais efetiva quando foram utilizados os extratos foliares.

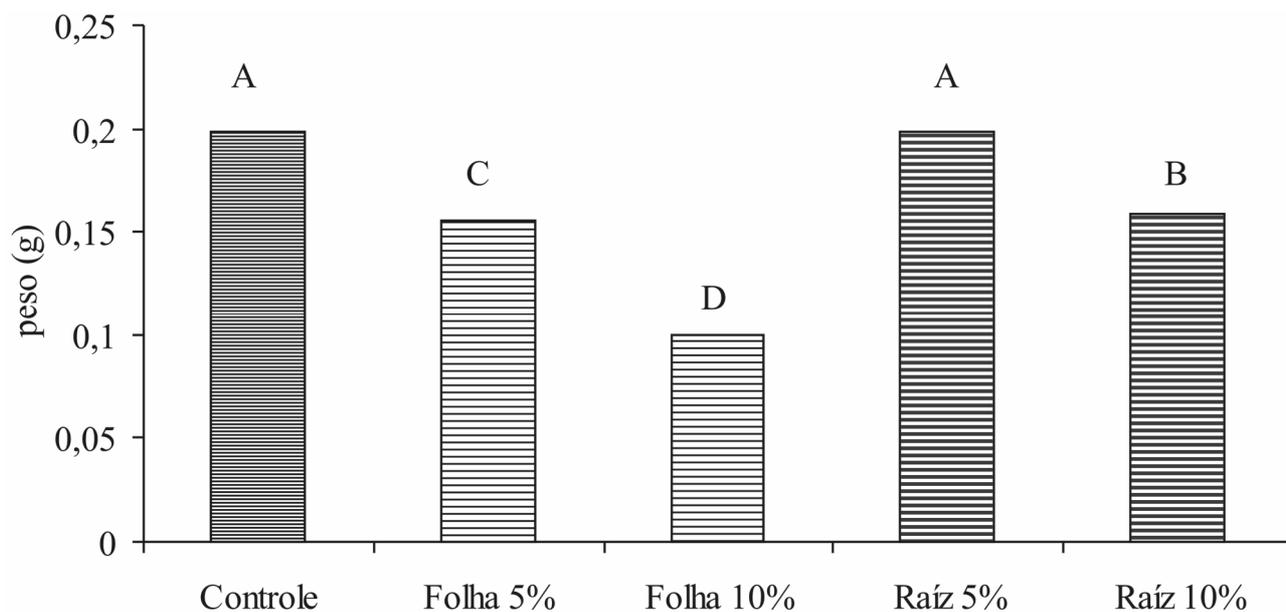
### **Bioensaio de Crescimento**

O crescimento de plântulas de gergelim, na presença de extratos aquosos de raiz e folhas de *L. glyptocarpa* (5 e 10%), apresentou redução significativa, diferindo estatisticamente do controle. Todas as plântulas apresentaram-se deterioradas quando foram expostas aos extratos de folhas e

raízes a 5% e 10%. A redução mais significativa, tanto da parte aérea quanto das raízes, foi observada com o uso dos extratos de folhas a 5 e 10% (Figura 2).



**Figura 2** – Comprimento da parte aérea e raiz primária (cm) de gergelim crescidos sob influência de extrato aquoso de *Lafoensia glyptocarpa* de folha (5% e 10%) e raiz (5% e 10%). Controle crescimento em água. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (parte aérea) e minúsculas (parte subterrânea) não diferem entre si pelo teste de Tukey.



**Figura 3** - Peso da matéria seca em plântulas de gergelim submetidas à ação de extratos aquosos de folhas (5 e 10 %) e raízes (5 e 10%) de *Lafoensia glyptocarpa*. Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem si para (Teste de Tukey).

Verificou-se que os extratos de folhas e raízes causaram redução significativa no crescimento das raízes primárias de gergelim. Conforme observado na figura 2, o crescimento das raízes sofreu redução significativa no comprimento quando comparadas com o grupo controle. As raízes primárias tornaram-se escurecidas e necrosadas quando mantidas em meio contendo os referidos extratos (raiz 5% e 10% e folhas 5% e 10%). Assim, verifica-se que, em relação ao crescimento inicial, as plântulas de gergelim apresentaram anormalidade no desenvolvimento das raízes.

Esse mesmo efeito foi observado por Áquila (2000) e por Gatti *et al.* (2004). A presença de anormalidade em raízes parece ser um bom parâmetro para a detecção de efeitos alelopáticos, pois este órgão é mais sensível à ação alelopática que a parte aérea (Pires & Oliveira 2001). A avaliação da anormalidade das plântulas é instrumento valioso nos experimentos de alelopatia e a necrose da radícula é o sintoma mais comum da anormalidade.

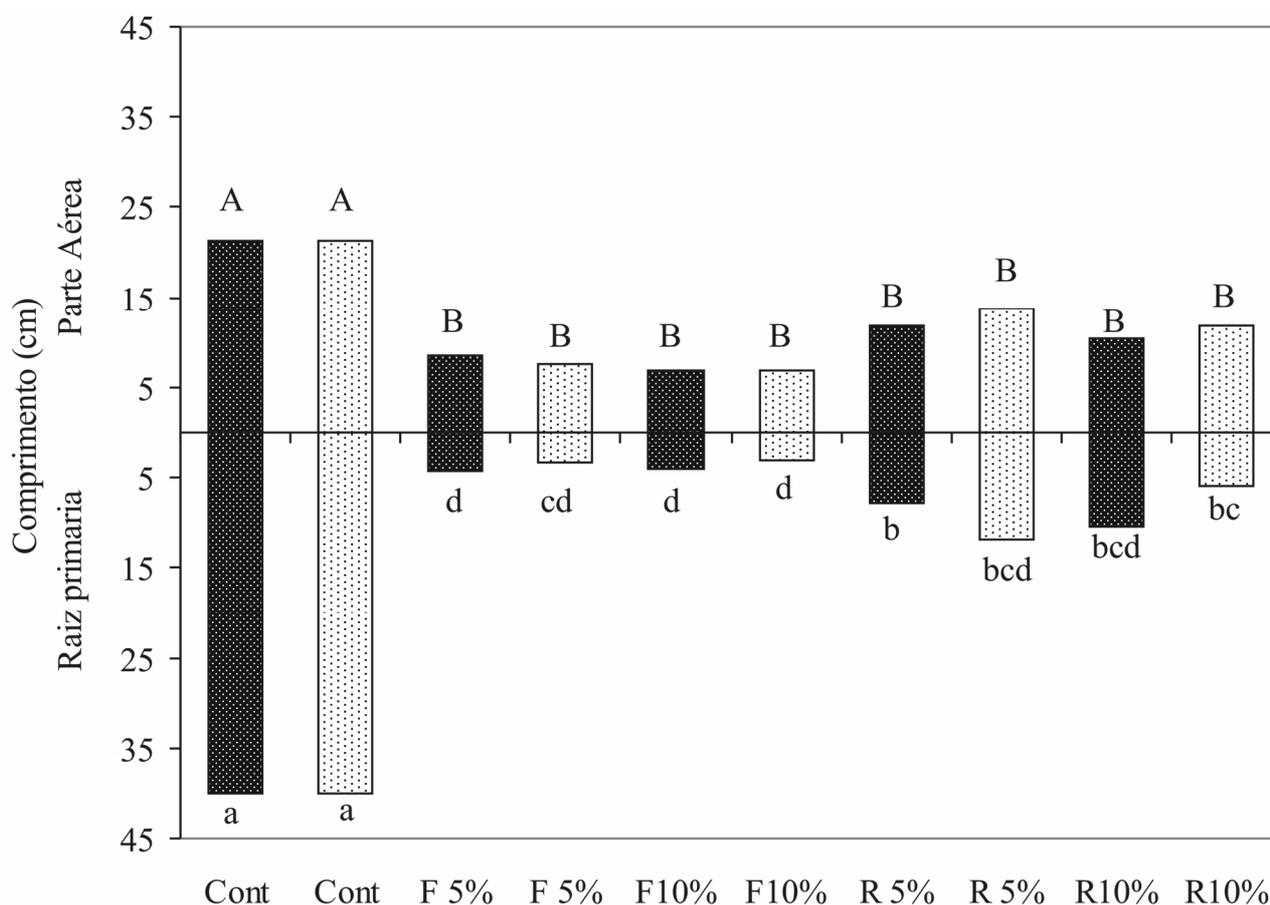
A parte aérea das plântulas de gergelim submetidas aos extratos de *L. glyptocarpa* também sofreu alterações significativas no seu desenvolvimento. Além do comprimento da parte aérea ter sido significativamente menor que no grupo controle, ocorreram alterações morfológicas não observadas no controle, como o desenvolvimento de folhas primárias, quando submetidas a extratos de folhas (5 e 10 %). Esta possível estratégia de sobrevivência, causada pela ação dos aleloquímicos presentes no extrato, foi observada também por Rodrigues *et al.*, (1992) o qual enfatiza que os compostos alelopáticos são inibidores da germinação e crescimento, pois interferem na divisão celular, permeabilidade da membrana e ativação de enzimas.

Pires *et al.* (2001) observaram que plântulas de milho apresentaram redução do índice mitótico em presença do extrato de *Leucena leucocephala* e foi observado que a ausência de divisão celular e o espessamento destas raízes foi devido ao aumento da atividade da enzima peroxidase nestas plântulas. Outros trabalhos também identificaram alterações nos índices mitóticos na presença de substâncias alelopáticas (Dayan *et al.* 1999; Jacobi & Fleck 2000; Pires *et al.* 2001; Iganci *et al.* 2006).

Os extratos de *L. glyptocarpa* alteraram o crescimento de plântulas de gergelim e, possivelmente, o modo de atuação desses aleloquímicos deve ser o mesmo encontrado em ambientes naturais.

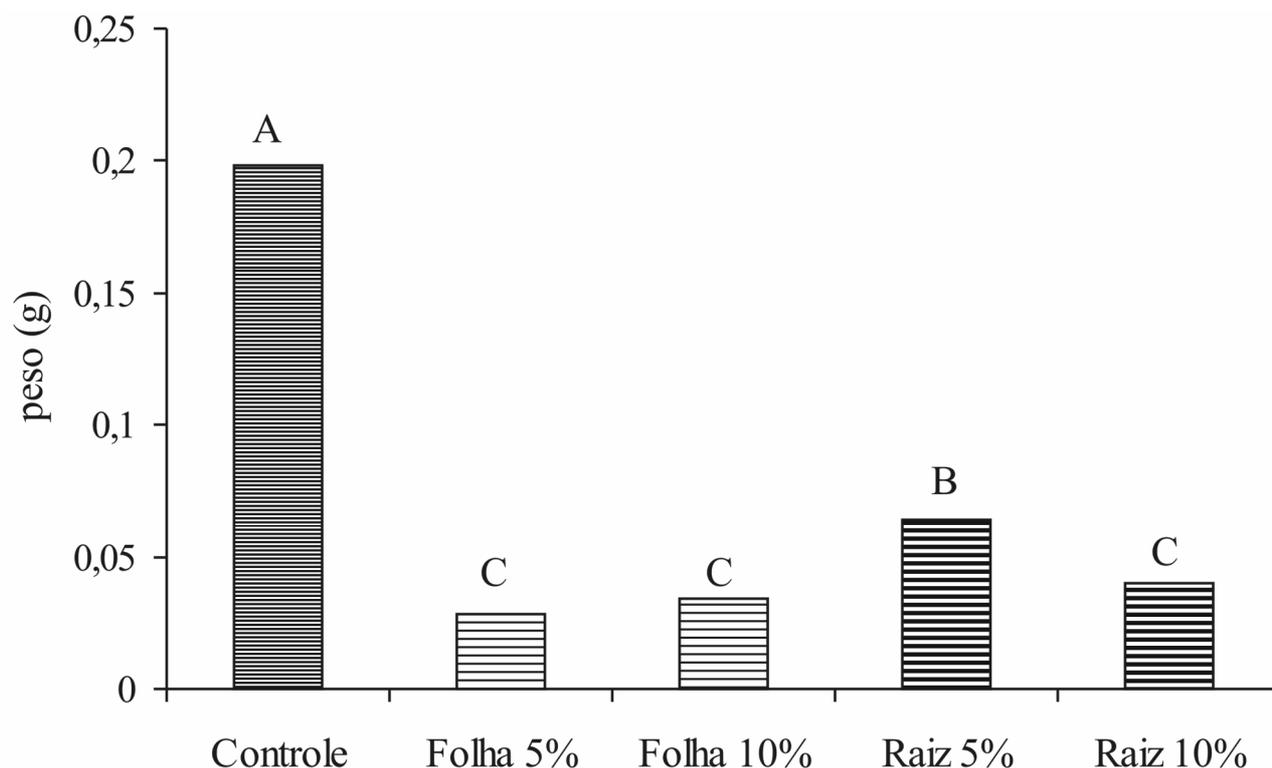
### Bioensaio de Recuperação

Verificou-se que as plântulas de gergelim não foram capazes de retomar o seu crescimento inicial e sofreram alterações significativas quanto ao seu tamanho quando comparadas com o grupo controle e ao grupo que permaneceu sete dias na presença dos extratos.



**Figura 4** - Comprimento da parte aérea e raiz primária de plântulas de gergelim crescidas em duas condições: 7 dias nos extratos (barras negras) e dois dias nos extratos + cinco dias em água (barras brancas) de folha 5% (F 5) e 10% (F 10%), raiz 5 (R 5%), e 10% (R 10%) de *Lafoensia glyptocarpa* e controle em água (Contr). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas (parte aérea) e minúsculas (parte radicular) não diferem entre si pelo teste Tukey.

Com relação à parte aérea das plântulas, em ambos os tratamentos, (dois dias nos extratos + cinco dias em água e 7 dias de permanência nos extratos), observou-se que ambos diferiram significativamente do grupo controle (Figura 4). Os extratos de raízes e folhas causaram escurecimento em 100% das raízes de gergelim, e diminuição no comprimento da parte aérea. O peso da matéria seca de plântulas de gergelim sofreu redução significativa nos extratos de folhas (5 e 10%) e de raízes (5 e 10%) como pode ser observado na figura 5.



**Figura 5** - Peso da matéria seca de plântulas de gergelim submetidas à ação de extratos aquosos de folhas (5 e 10 %), raízes (5 e 10%) de *Lafoensia glyptocarpa* e posterior transferência para água destilada . Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey.

Não foram observadas diferenças significativas entre as duas condições de crescimento (dois dias nos extratos + cinco dias em água e sete dias de permanência nos extratos), indicando que mesmo após a retirada das plântulas da presença dos extratos (permanência por dois dias) estas não conseguiram recuperar seu crescimento normal, ficando similarmente afetadas em relação àquelas que permaneceram sete dias nos extratos (Figura 4).

Ao contrário dos estudos realizados por Gatti (2008), onde foi observado um estímulo no crescimento da parte aérea das plântulas de gergelim, expostas ao extrato aquoso de *Aristolochia esperanzae*, quando submetidas a extratos de *L. glyptocarpa* todas as plântulas de gergelim sofreram diminuição no comprimento da parte aérea. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois tratamentos, embora ambos tenham diferido do grupo controle.

Com a transferência das plântulas para a água após a permanência de dois dias nos extratos, registrou-se que nos dois tratamentos (dois dias nos extratos + cinco dias em água e 7 dias de permanência nos extratos) o tamanho de suas raízes primárias não diferiu estatisticamente daquelas que permaneceram sete dias no mesmo extrato. Não houve recuperação do crescimento, tanto da parte aérea quanto da raiz primária, em nenhum dos tratamentos estudados (Figura 4).

As plântulas que foram transferidas para a água após dois dias de permanência nos referidos extratos não apresentaram resposta de recuperação, considerando a presença, quantidade e tamanho das raízes secundárias em relação àquelas plântulas que permaneceram sete dias nos extratos como também em comparação ao grupo controle. Estes dados demonstram um alto índice de fitotoxicidade do extrato aquoso de *L. glyptocarpa*.

Foi observado desenvolvimento de raízes secundárias nas plântulas que cresceram sete dias em meio contendo os extratos de raiz e folhas, e o mesmo fato ocorreu quando foram transferidas para água depois de permanecerem dois dias nestes mesmos extratos.

O conceito de reversão baseia-se em amenizar parcial ou totalmente os efeitos inibitórios fitotóxicos, fornecendo um substrato que elimine a deficiência fisiológica ocasionada pelo aleloquímico ou ainda que possibilite que o substrato reaja diretamente com ele, impedindo sua ação. A reversão dos efeitos deletérios é alcançada quando o inibidor/aleloquímico é aplicado na menor concentração que seja capaz de induzir a inibição (Dayan, 2000).

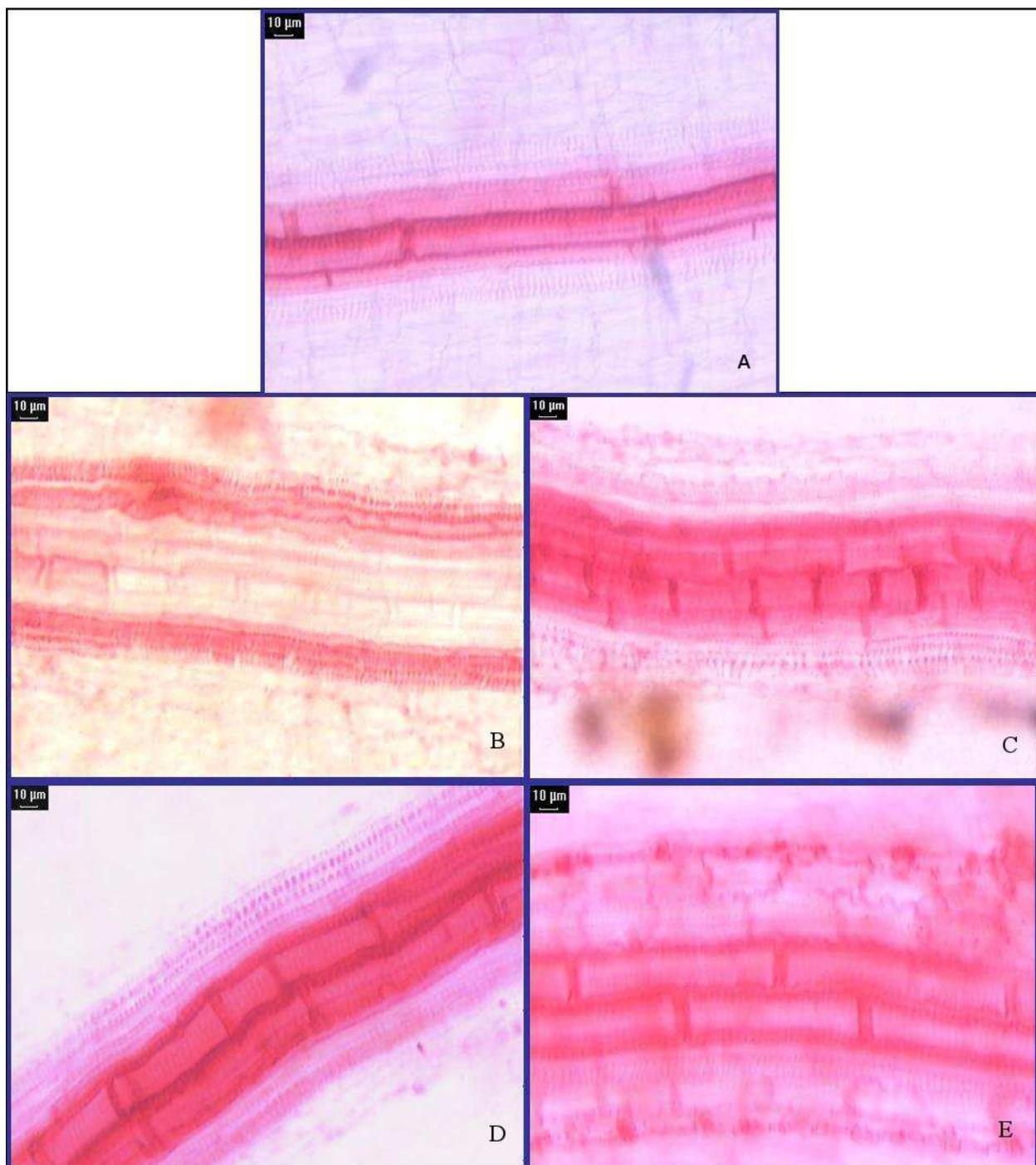
Neste estudo, os efeitos deletérios dos extratos aquosos de *L. glyptocarpa* não foram suprimidos quando as plântulas de gergelim foram colocadas novamente em água, diferente do que foi observado por Gatti (2008), onde parte das plântulas submetidas a extratos aquosos de *A. esperanzae* conseguiu reverter o processo.

Plântulas de canola também retomaram seu crescimento, após serem retirados da influência do aleloquímico 1.8-cineole (Koitabashi *et al.* 1997), bem como plântulas de gergelim submetidas a extratos de *Solanum lycocarpum* (C.A. Jerônimo, 2006, dados não publicados).

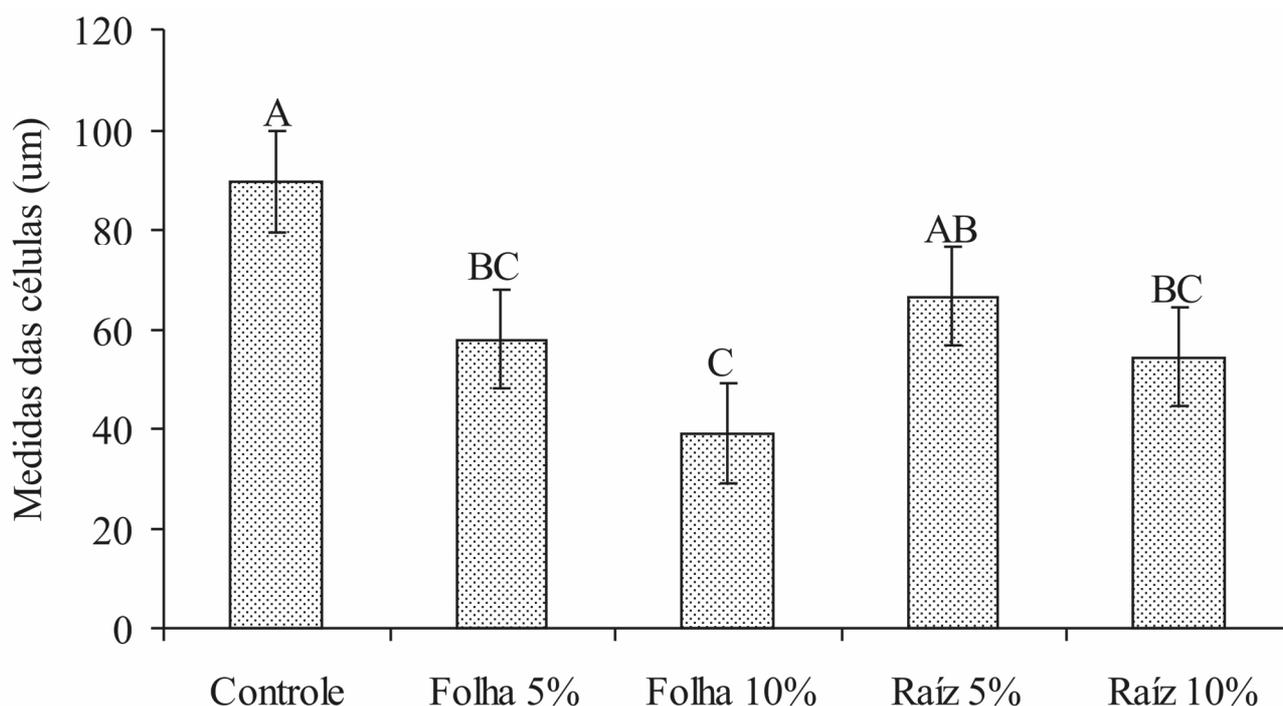
A presença de compostos fenólicos está associada ao escurecimento das raízes, e este processo pode ser revertido se a plântula for retirada dessa condição. Em alguns casos, porém, pode ocorrer a necrose do tecido por falta de oxigênio (Wandscheer & Pastorini 2008).

### **Elementos do xilema**

Os extratos de raízes e folhas de *L. glyptocarpa* interferiram no tamanho das células xilemáticas de gergelim, inibiram o crescimento de suas raízes e esta inibição ocorreu pela diminuição na alongação das células radiculares do metaxilema das raízes (Figura 11). Isto indica a provável interferência dos aleloquímicos presentes nos extratos de *L. glyptocarpa* (Figura 6).



**Figura 11-** Fotomicrografia de células do xilema de raiz de gergelim crescidas em água (A), em presença dos extratos de folha 5%(B), folha 10% (C), raiz 5% (D), raiz 10% (E) de *Lajoensia glyptocarpa* K.



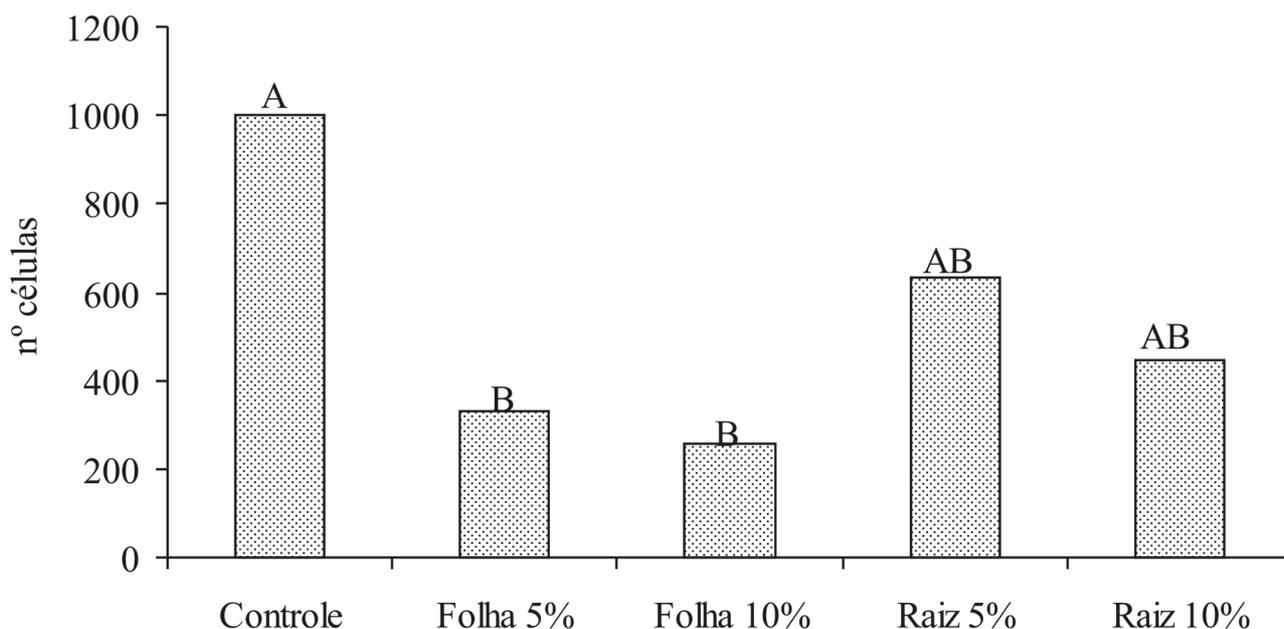
**Figura 6** - Tamanho das células do metaxilema de raízes de gergelim crescidas em água (A) e em presença dos extratos folha 5%(B), folha 10% (C) raiz 5%(D) raiz 10% (E) de *Lafoensia glyptocarpa* K. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey.

O crescimento das células meristemáticas pode ser interrompido sob condições de estresse. Um dos prováveis agentes que atuam na divisão celular das células radiculares é a auxina. Uma diminuição na concentração de auxina pode levar a um aumento ou diminuição do tamanho das células. As auxinas desempenham um papel central na regulação do crescimento de raízes modulando diversos processos, como as respostas trópicas a luz e gravidade, arquitetura geral de raízes e caules, desenvolvimento vascular, alongação celular, entre outros (Tamimoto 2005).

Sabe-se ainda que vários herbicidas contendo grupos fenólicos são análogos às auxinas, além do fato de que substâncias como o ácido benzóico são freqüentemente descritas com atividade alelopática, sendo a utilização de seus derivados como herbicida (TBA, TIBA, Dicamba) bem conhecida (Souza-Filho 2006).

As auxinas também controlam o crescimento da raiz modulando a resposta celular para as giberelinas sendo, portanto, necessárias para a resposta de crescimento mediado por giberelinas (Fu & Harberd 2003; Hardtke 2003; Dolan & Davies 2004).

Foi verificado ainda que os extratos aquosos de folhas de *L. glyptocarpa* não apenas alteraram o tamanho das células metaxilemáticas do gergelim. O efeito deletério dos extratos de folha a 5 e 10% foi percebido também provocando alterações significativas no número de células, quando comparadas com o grupo controle (Figura 7).



**Figura 7** – Número de células medidas do metaxilema de raízes de gergelim crescidas em água (A) e em presença dos extratos folha 5%(B), folha 10% (C) raiz 5%(D) raiz 10% (E) de *Lafoensia glyptocarpa* K. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste Tukey.

Este fato pode estar associado à diminuição no índice mitótico causado pela toxicidade do extrato. Aliotta *et al.* (2004) demonstraram que a expansão de células radiculares foi reduzida em presença de diferentes concentrações de resíduos de *Olea europea* e esta redução resultou no espessamento da ponta da raiz em comparação ao controle. Segundo Al-Wakeel *et al.* (2007) a inibição da elongação celular pode estar relacionada com a ação direta dos aleloquímicos por interferirem também no processo de divisão celular alterando o equilíbrio entre os diferentes hormônios.

As substâncias alelopáticas podem ser inibidores da germinação e do crescimento, pois interferem na divisão celular, na permeabilidade de membranas, na ativação de enzimas e na produção de hormônios nas plantas (Rodrigues *et al.*, 1992). Porém, alguns autores demonstraram que estes compostos podem atuar como promotores de crescimento (Yamada *et al.* 1992, Yokotani-Tomita *et al.* 1998).

Em estudo realizado por Gatti (2008), foi verificado que os diferentes extratos de *A. esperanzae* causaram alterações na germinação e no crescimento das plântulas de gergelim. Dentre os extratos dos diferentes órgãos utilizados, os de raiz foram os que mais inibiram a germinação e o crescimento de gergelim e esta inibição foi dependente da concentração utilizada, provocando alterações morfológicas e diminuição no crescimento e desenvolvimento das plântulas, com supressão total da germinação e do crescimento na concentração 10%. A exudação radicular pode

ser o modo como os aleloquímicos de *A. esperanzae* sejam liberados no solo, confirmando a maior atividade inibitória com o uso dos extratos de raízes. (Gatti 2008- dados não publicados)

Os extratos aquosos de *L. glyptocarpa* reduziram o tamanho das células do metaxilema das plântulas de gergelim em todas as concentrações estudadas.

### **Extração dos metabólitos das folhas**

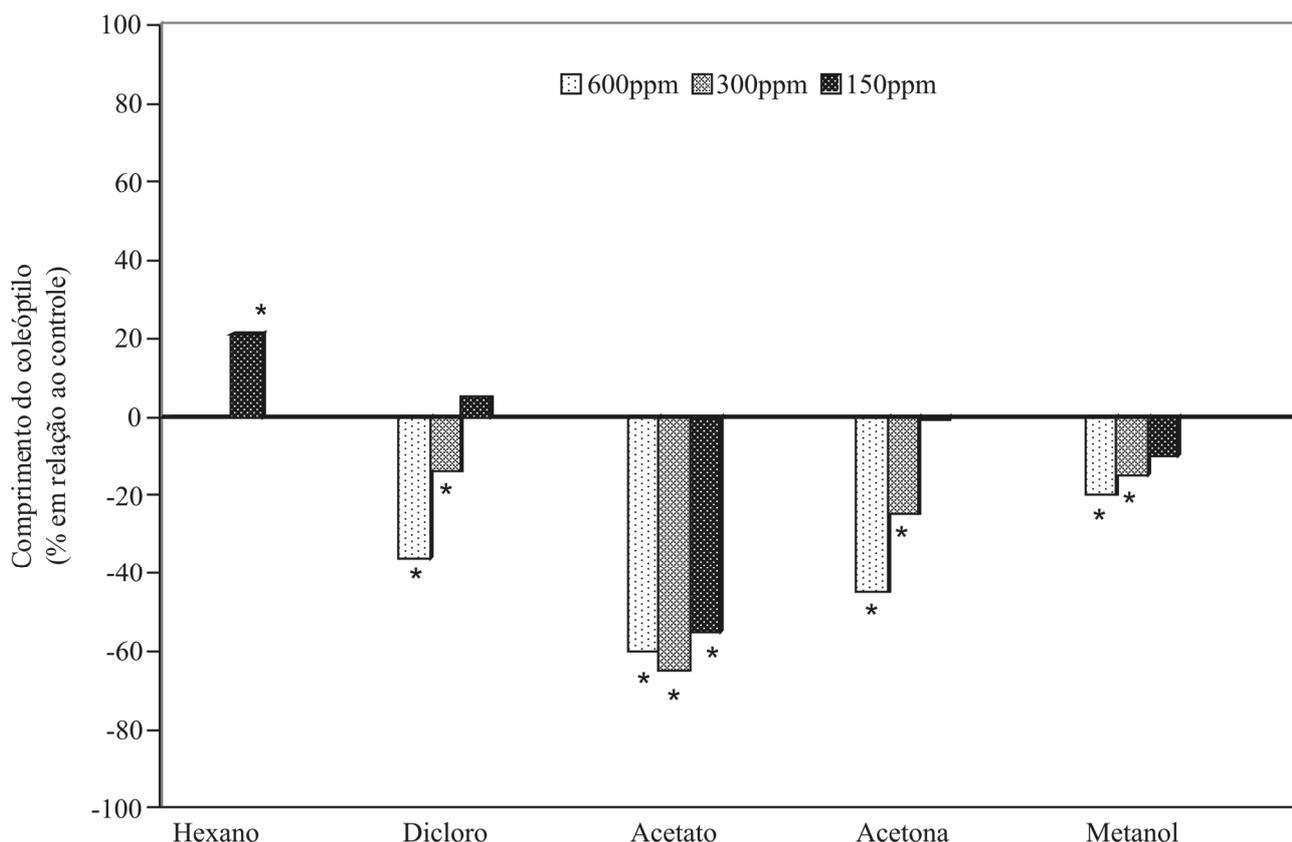
A massa total das frações obtidas a partir de 500 g de pó de folhas com a extração líquido-líquido (L) está apresentada na tabela 1. As frações que apresentaram maior massa foram as do diclorometano e acetato de etila.

**Tabela 1** – Massa total das frações obtidas na extração líquido-líquido

<i>Frações</i>	<i>Massa total (mg)</i>
Hexano	2,2
Diclorometano	321,5
Acetato de etila	367,8
Acetona	285,4
<b>Metanol</b>	220,9

### **Bioensaio com coleóptilos**

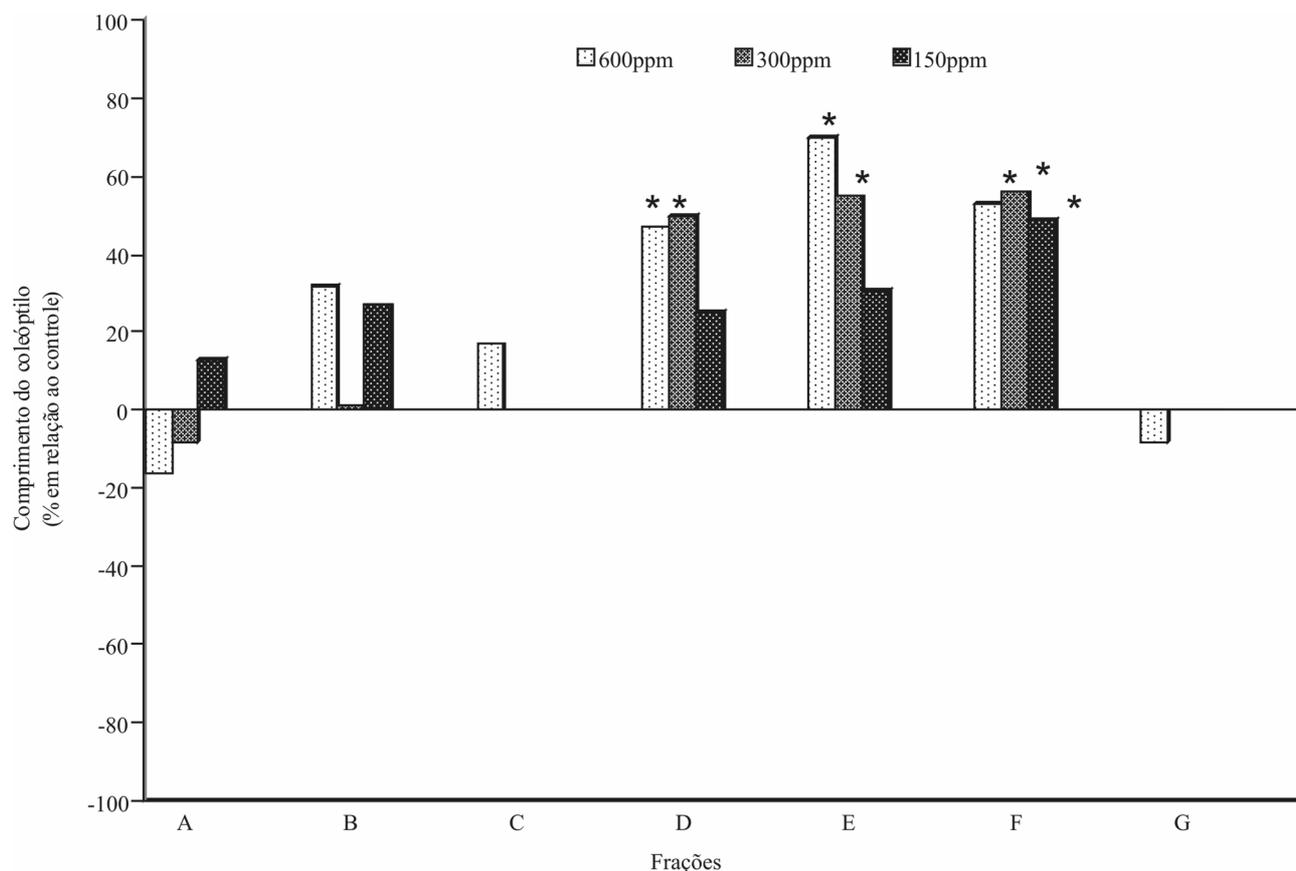
Observa-se na figura 8 que as frações que causaram inibições significativas no crescimento dos coleóptilos em relação ao controle foram diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol.



**Figura 8** - Porcentagem de inibição do crescimento do coleóptilo crescidos durante 24 horas a 25°C no escuro. Fração Hexânica, Diclorometano, Acetato de etila, Acetona (Acet(D)) e Metanol da extração líquido-líquido. \* indica diferenças significativas em relação ao controle (teste de Tukey 5% de probabilidade).

A fração hexano estimulou significativamente o crescimento dos coleóptilos. A fração que promoveu maior inibição no comprimento dos coleóptilos foi a do acetato de etila, alcançando mais de 65% de inibição na concentração 300 ppm. Esta inibição pode ser melhor observada quando comparada com o crescimento dos coleóptilos crescidos em solução tampão (controle com DMSO). Dados similares foram encontrados por Macias *et al.* (2004) onde frações e substâncias isoladas de *Helianthus annuus* também provocaram inibição no comprimento de coleóptilos de trigo. Gatti (2008) verificou que as frações de *Aristolochia esparanzae* causaram diminuição no comprimento dos coleóptilos quando comparados com o grupo controle.

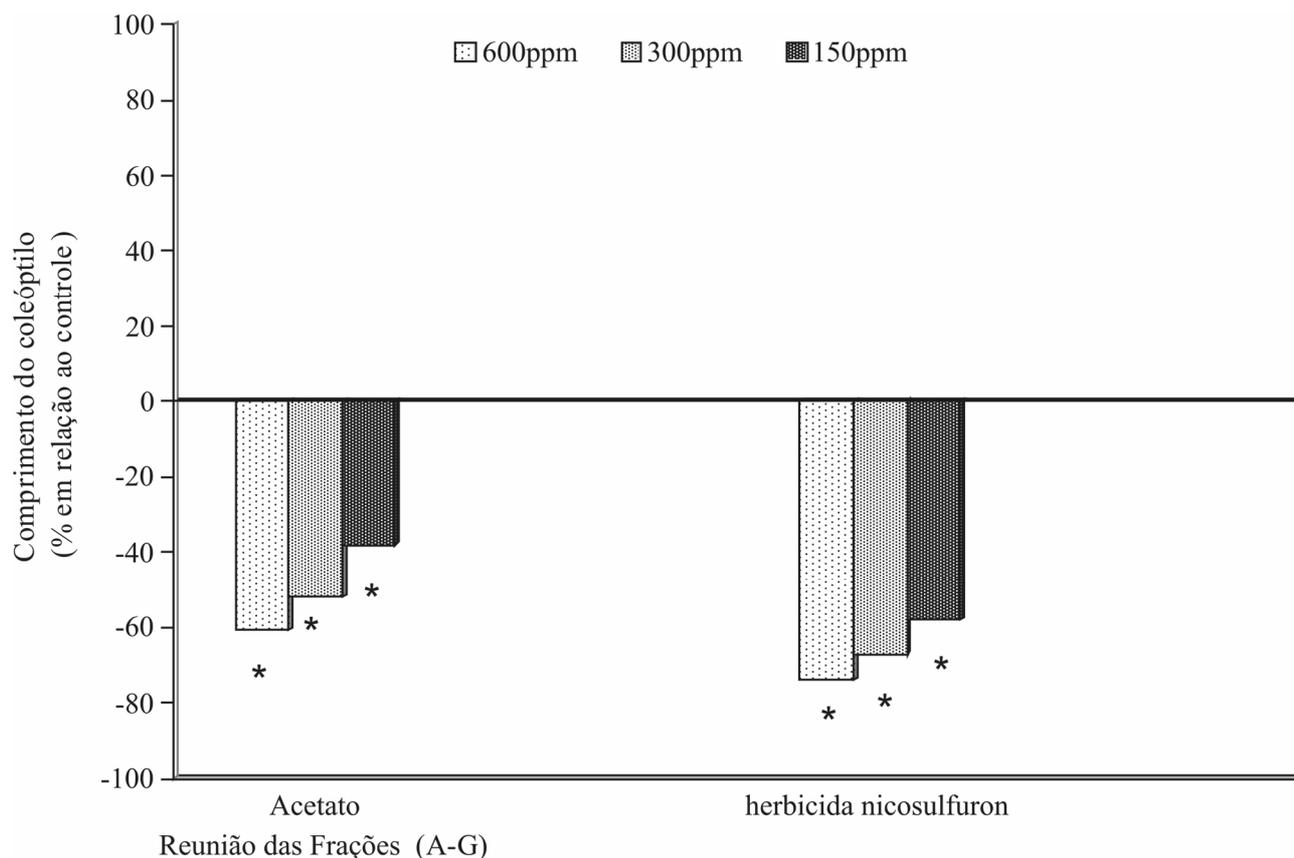
Os resultados dos ensaios com coleóptilos levaram a um segundo fracionamento da fração acetato de etila em coluna de sílica. As subfrações aí obtidas foram agrupadas de acordo com a similaridade encontrada na cromatografia de camada delgada (Figura 9).



**Figura 9** - Porcentagem de estímulo do crescimento do coleóptilo crescidos durante 24 horas a 25°C no escuro. Sub-frações da fração Acetato de etila. (A1 a G1) da extração líquido-líquido. \* indica diferenças significativas em relação ao controle (teste de Tukey 5% de probabilidade).

Entretanto, o que se observa na figura 9 é um aumento significativo no tamanho dos coleóptilos nas subfrações D, E e F em relação ao controle nas diferentes concentrações (600 ppm, 300 ppm, e 150 ppm), e aumento de tamanho em quase todas as subfrações estudadas.

Diante deste fato, as frações foram novamente agrupadas (Figura 10), e observou-se novamente inibição do crescimento dos coleóptilos em relação ao controle. Observou-se que tanto o herbicida nicossulfuron quanto a fração reagrupada de acetato de etila causaram uma inibição significativa no comprimento dos coleóptilos, nas três concentrações estudadas, quando comparadas com o grupo controle.



**Figura 10** - Porcentagem de inibição do crescimento do coleóptilo crescidos durante 24 horas a 25°C no escuro. Reunião das sub-frações da fração Acetato de etila. (A1 a G1) da extração líquido-líquido. \* indica diferenças significativas em relação ao controle (teste de Tukey 5% de probabilidade).

Este fato levou a crer na possibilidade de sinergismo entre os metabólitos encontrados nas frações de acetato de etila de *L. glyptocarpa*. Segundo Odum (2007) sinergismo é um fenômeno químico no qual o efeito obtido pela ação combinada de duas substâncias químicas diferentes é maior do que a soma dos efeitos individuais dessas mesmas substâncias. Existem, na literatura, algumas informações sugerindo a existência de sinergismos como resultado da ação combinatória de diferentes aleloquímicos (Kubo *et al.* 1992; Weidenhamer *et al.* 1994; Einhellig 1995; Silva 2009). Nos poucos trabalhos em que essa hipótese é testada, a combinação entre dois ou mais agentes alelopáticos envolve concentrações fixas e as inferências são baseadas no aumento das inibições (em que se conclui pela existência de sinergismo) ou na ausência de aumento (em que se conclui pela inexistência de sinergismo) (Souza-Filho 2006).

A possível presença de sinergismo nas sub-frações de acetato de etila de *L. glyptocarpa* elucidaria o aumento significativo do crescimento dos coleóptilos de trigo e posterior diminuição do crescimento dos coleóptilos quando as sub-frações foram novamente reagrupadas.

**Conclusões:**

Os extratos de *L. glyptocarpa* alteraram a germinação, o crescimento de plântulas de gergelim, e os efeitos deletérios não foram revertidos quando as plântulas foram transferidas para água.

Os extratos de *L. glyptocarpa* alteram o padrão de crescimento das células metaxilemáticas da raiz gergelim.

As sub-frações de acetato de etila de *L. glyptocarpa* apresentaram sinergismo.

## Bibliografia

- Aquila, M.E.A. 2000. Efeito alelopático de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre, 53: 51-66.
- Al-Wakeel, S.A.M.; Gabr, M.A.; Hamid, A.A. & Abu-El-Soud, W.M. 2007. Allelopathic effects of *Acacia nilotica* leaf residue on *Pisum sativum* L. **Allelopathy Journal** 19(2): 411-422.
- Aliotta, G.; Ligrone, R.; Ciniglia, C.; Pollio, A.; Stanzione, M. & Pinto, G. 2004. Application of microscopic techniques to the study of seeds and microalgae under olive oil wastewater stress. Pp. 289-314. In: F.A. Macias; J.C.G. Galindo; J.M.G. Molinillo, H.G. Cutler. **Allelopathy – Chemistry and mode of action of allelochemicals**. Washington, D.C. U.S.A., CRC Press.
- Baleroni, C.R.S.; Ferrarese, M.L.L.; Souza, N.E.; Ferrarese-Filho, O. 2000. Lipid accumulation during canola seed germination in response to cinnamic acid derivatives. **Biologia Plantarum**, 43(2): 313-316.
- Borella, J. Pastorini, L.H 2009. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Biotemas**, 22 (3): 67-75.
- Borghetti, B., Ferreira, A. G. (2004) Interpretação de resultados de germinação. In: **Germinação do básico ao aplicado** (Eds. G.A. FERREIRA, F. BORGHETTI) pp. 209-222. Porto Alegre: Ed. Artmed
- Carmo, F. M. S., Borges E. E. L. e, Takaki M. 2007. Alelopátia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**. 21(3): 697-705.
- Carvalho, P.E.R. 2006. **Espécies arbóreas brasileiras**. v.2. EMBRAPA – Informação Tecnológica, Brasília.
- Chaves, N., Sosa, T., Escudero, J.C. 2001. Plant growth inhibiting flavonoids in exudate of *Cistus ladanifer* and in associated soils. **Journal of Chemical Ecology** 27: 623-631.

- Dayan, F.E.; Romagni, J.G.; Duke, S.O. 2000. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, 26(9): 2079-2094.
- Dayan, F.E.; Watson, S.B.; Galindo, J.C.G.; Hernández, A.; Dou, J.; Mcchesney, J.D. & Duke, O. 1999. Phytotoxicity of quassinoids: physiological responses and structural requirements. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 65: 15-24.
- Dolan, L. & Davies, J. 2004. Cell expansion in root. Current Opinion in **Plant Biology**, 7: 33-39.
- Einhellig, F.A. 1995. Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. p. 96–116. In Inderjit et al. (ed.) **Allelopathy: Organisms, processes, and applications**. Am. Chem. Soc. Symp. Ser. 582. Am. Chem. Soc., Washington, DC.
- Enhellig, F. A.; Leather, G. R. 1988. Potential for allelopathy to enhance crop production. **J. Chem. Ecol.**, v. 14, n. 10, p. 1829-1844.
- Escudero, A., Albert, M.J., Pita, J.M., Pérez-García, F. 2000. Inhibitory effects of *Artemisia herba-alba* on the germination of the gypsophyta *Helianthemum squamatum*. **Plant Ecology** 148:71-80.
- Espindola J. A. A.; Guerra J. G. M. ; Almeida D. L. ; Teixeira MG; Urquiaga S. 2006. Decomposição e liberação de nutrientes acumulados em leguminosas herbáceas perenes consorciadas com bananeira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo** 30: 321-328.
- Ferreira, A.G. 2005. Alelopatia: sinergismo e inibição. In: R.J.M.C. Nogueira, E.L. Araújo, L.G. Willadino, U.M.T. Cavalcante (eds.). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**, Imprensa Universitária, UFPE, Recife, pp. 433-440.
- Ferreira, A.G.; Aquila, M.E.A. 2000. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 12: 175-204. Edição Especial.
- Ferreira, A. G.; Borghetti, F. 2004. (Orgs.). **Germinação. Do básico ao aplicado**. Porto Alegre :Artmed Cap. 16, p. 251- 262.

- Fu, X.; Harberd, N.P. 2003. Auxin promotes Arabidopsis root growth by modulating gibberellin response. **Nature**, 421: 740-743.
- Gatti, A.B., Perez, S.C.J.G.A. & Lima, M.I.S. 2004. Atividade Alelopática de extratos aquosos de *Aristolochia esperanzae* O. Ktze na germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasílica**, 18(3): 459-472.
- Hardtke, C.S. 2003. Gibberellin signaling: GRASs growing dispatch roots. **Current Biology**, 13: 366-367
- Iganci, J.R.V.; Bobrowski, V.L.; Heiden, G.; Stein, V.C. & Rocha, B.H.G. 2006. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico** 73(1): 79-82.
- Jacobi, U.S.; Fleeck, N.G. 2000. Avaliação do potencial alelopático de genótipos de aveia no início do ciclo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35(1): 11-19.
- Koitabashi, R., Suzuki, T., Kawazu, T., Sakai, A., Kuroiwa, H., Kuroiwa, T. 1997. 1,8-Cineole inhibits root growth and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* L. **Journal of Plant Research** 110:1-6.
- Kraus, J. E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro, Seropédica, R. J. Editora Universitária Rural - EDUR, 198 pp.
- Kubo, I.; Muroi, H.; Himejina, M. 1992. Antimicrobial activity of green tea flavor components and their combination effects. **J. Agric. Food Chem.**, v. 40, p. 245-248.
- Labouriau, L.G.; Valadares, M.B. 1976. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 48: 174-186.
- Lorenzi, H. 2002. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4th Ed. Nova Odessa: Editora Plantarum. 368 pp.
- Macias, F. A.; Galindo, J. C. G.; Molinillo, J. M. G.; Cutler H. G. 2004. **Allelopathy: Chemistry and mode of action of allelochemicals**. CRC Press. 372 p.

- Macías, F. A.; Galindo, J. L. G.; Galindo J. C. G., 2007. Evolution and current status of ecological phytochemistry. **Phytochemistry** 68 : 2917–293.
- Maraschin-Silva, F.; Aquila, M. E. A. 2006. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Bot. Bras.**, São Paulo, 20 (1): pp. 61-69
- Miller, D.A. Allelopathic effects of alfafa (1983). **Journal of Chemical Ecology**, 9(8): 1059-1072.
- Odum, E. 2007. **Fundamentos de Ecologia**. Thomson: São Paulo, 612p.
- Pires, N.M.; Oliveira, V.R. 2001. Alelopatia. In: Oliveira Jr, R.S.; Constantin, J. (Coord.). **Plantas daninhas e seu manejo**. Guaíba: Agropecuária, p. 145-185.
- Putnam, A.R.; Tang, C.S. 1986. Allelopathy: state of the science. In: Putnam, A.R. ; Tang, C.S. **The science of allelopathy**. New York: John Wiley & Sons, p. 1-19.
- Rizvi, S.J.H., Rizvi, V. (1992). **Allelopathy: basic and applied aspects**. 1<sup>nd</sup> Ed. London: Chapman & Hall. 480 pp.
- Rodrigues, L.R.A.; Rodrigues, T.J.D. & Reis, R.A. 1992. **Alelopatia em plantas forrageiras**. Jaboticabal: FUNEP, 68p.
- Santana, D. G., Ranal, M. A. 2004. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. 1<sup>nd</sup> Ed. Brasília: Editora Universidade de Brasília. 247 pp.
- Souza Filho, A.P.S. 2006. Proposta metodológica para análise da ocorrência de sinergismo e efeitos potencializadores entre aleloquímicos. **Planta daninha**, Viçosa, v. 24, n. 3.
- SILVA, Cristiane B. da *et al* . Composição química e atividade alelopática do óleo volátil de *Hydrocotyle bonariensis* Lam (araliaceae). **Química. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 9, 2009 .

- Tamimoto, E. (2005). Regulation of root growth by plant hormones: Roles for auxin and gibberellin. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24, 249–265.
- Waller, G.R. 1999. Introduction. Pp. 63-70. In: Macias F. A.; Galindo J. C. G.; Molinillo J. M. G.; Cutler H.G. **Recent Advances in Allelopathy**. Cádiz, Servicio de Publicaciones, Universidad de Cádiz.
- Wandscheer, A. C. D.; Pastorini, L. H. 2008. Interferência alelopática de *Raphanus raphanistrum* L. sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. e *Solanum lycopersicon* L. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4.
- Weidenhamer, J. D. 1994. Allelopathic potential of menthofuran monoterpenes from *Calamuntha ashei*. **J. Chem. Ecol.**, v. 20, p. 3345-3359.
- Yamada, K; Anai, T.; Kosemura, S.; Yamamura, S.; Hasegawa, K. 1992. Structure-activity relationship of lepidimoide and its analogues. **Phytochemistry**, 41(3): 671-673.
- Yokotani-Tomita, K.; Goto, N.; Kosemura, S.; Yamamura, S. & Hasegawa, K. 1998. Growth-promoting allelopathic substance exuded from germinating *Arabidopsis thaliana* seeds. **Phytochemistry**, 47(1): 1-2.

## CONCLUSÕES GERAIS

As sementes e frutos de *L. glyptocarpa* apresentaram pouca variação biométrica e a maior variação foi evidenciada no número de sementes por fruto.

A emissão da radícula, que se deu após 50 h do início da embebição.

A germinação das sementes de *L. glyptocarpa* apresentaram limite mínimo de temperatura de 10 e 15°C, e o limite máximo entre 35°C e 40°C.

A temperatura de 25°C promoveu o menor tempo médio de germinação de sementes de *L. glyptocarpa*.

Houve uma redução da porcentagem de emergência das plântulas, após 90 dias de armazenamento para todos os tipos de embalagem e local de armazenamento.

A embalagem vidro 5°C proporcionou uma maior qualidade fisiológica das sementes após o período de armazenamento.

O teste de condutividade elétrica foi eficiente para avaliar a qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento.

Para o teste de envelhecimento artificial, o teste fisiológico de transferência de matéria seca foi o mais indicado para separar os lotes de sementes com tegumento claro e escuro de *L. glyptocarpa* quanto ao potencial fisiológico e vigor das sementes.

Para o envelhecimento acelerado salino o foi eficiente para detectar diferenças de vigor entre os lotes de sementes com tegumento claro e escuro de *L. glyptocarpa*.

Da mesma maneira, o teste de deterioração controlada foi capaz de detectar diferenças de vigor entre os lotes de sementes com tegumento claro e escuro de *L. glyptocarpa* com os testes de condutividade elétrica e o teste fisiológico de transferência de matéria seca.

Os lotes de sementes com tegumento claro apresentaram maior vigor durante todos os testes apresentados, sendo então considerado o lote com melhor qualidade fisiológica.

Os extratos de *L. glyptocarpa* alteraram a germinação, o crescimento de plântulas de gergelim, e os efeitos deletérios não foram revertidos quando as plântulas foram transferidas para água.

Os extratos de *L. glyptocarpa* alteram o padrão de crescimento das células metaxilemáticas da raiz gergelim.

As sub-frações de acetato de etila de *L. glyptocarpa* apresentaram sinergismo.