

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**GERMINAÇÃO E REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE À
DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE *Campomanesia
adamantium* (CAMBESS.) O. BERG (MYRTACEAE)**

DAIANE MUGNOL DRESCH

**DOURADOS
MATO GROSSO DO SUL
2013**

**GERMINAÇÃO E REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE À
DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE *Campomanesia adamantium*
(CAMBESS.) O. BERG (MYRTACEAE)**

DAIANE MUGNOL DRESCH
Engenheira Agrônoma

Orientadora: PROF. DRA. SILVANA DE PAULA QUINTÃO SCALON

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutora.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil

D773g Dresch, Daiane Mugnol.
Germinação e redução da sensibilidade à dessecação
em sementes de *Campomanesia adamantium* (Cambess.)
O. Berg (Myrtaceae) / Daiane Mugnol Dresch –
Dourados, MS : UFGD, 2013.
99 f.

Orientadora: Profa. Dra. Silvana de Paula Quintão
Scalon.

Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade
Federal da Grande Dourados.

1. Guavira. 2. Sementes – Conservação. 3. Plantas
dos cerrados – Brasil. I. Scalon, Silvana de Paula
Quintão. II. Título.

CDD: 634.4

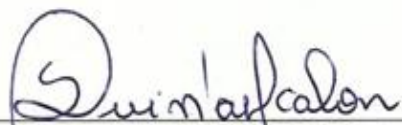
**GERMINAÇÃO E REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE À DESSECAÇÃO EM
SEMENTES DE *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O. BERG
(MYRTACEAE)**

por

Daiane Mugnol Dresch

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTOR EM AGRONOMIA

Aprovada em: 03 / 05 / 2013




Prof. Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon
Orientador – UFGD/FCA



Prof. Dra. Tathiana Elisa Masetto
UTFPR



Prof. Dra. Rosilda Mara Mussury
UFGD/FCBA



Prof. Dra. Maria do Carmo Vieira
UFGD/FCA



Prof. Dra. Lúcia Filgheiras Braga
UNEMAT

Aos meus queridos pais,

Dionisio (*in memoriam*) e ***Marines***,

*Pela confiança, apoio, dedicação, exemplos de humildade, honestidade
e pelos imensuráveis esforços que me fizeram chegar até aqui.*

OFEREÇO

*Ao meu esposo, **Albino***

Pelo amor, carinho, paciência

e pelas palavras de incentivo

e coragem.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela sua presença constante na minha caminhada, guiando e iluminando meus passos.

À Universidade Federal da Grande Dourados e a Faculdade de Ciências Agrárias.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Profa Dra. Silvana de Paula Quintão Scalon, pela orientação, ensinamentos, compreensão, amizade, confiança ao longo desses anos e atenção prestada em todas as horas necessárias. Muito Obrigada!

Às professoras Dra. Tathiana Elisa Masetto e Dra. Rosilda Mara Mussury, pela amizade e co-orientação.

Às professoras Dra. Maria do Carmo Vieira e Dra. Lúcia Filgueiras Braga, pelas correções e contribuições com o trabalho.

Ao meu esposo Albino, pelo estímulo em nunca me deixar desistir, compreensão, companheirismo e generosidade em repartir os momentos de nosso convívio com essa conquista.

Aos meus pais, Marines e Dionísio (*in memoriam*) e minha irmã Fernanda pelo carinho, apoio e incentivos durante o decorrer da minha existência.

Aos amigos do Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas, nas pessoas de Flávia, Tatiane, Danieli, Carla, Derek e Leandro, pela amizade e momentos de descontração.

A todo corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia que contribuíram para minha formação.

A todas as pessoas que colaboraram de forma direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

PÁGINA

RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 Tolerância à dessecação.....	13
1.2 Armazenamento de sementes.....	15
1.3 <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae).....	17
2 REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
CAPÍTULO I. Influência do tamanho do fruto e da semente na germinação e vigor de <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg.....	22
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	23
1 INTRODUÇÃO.....	23
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4 CONCLUSÕES.....	35
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
CAPÍTULO II. Secagem de sementes de <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg: influência no vigor e ácidos nucléicos.....	39
RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	40
1 INTRODUÇÃO.....	40
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4 CONCLUSÕES.....	53
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
CAPÍTULO III. Armazenamento de sementes de <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg: influência de teores de água e ambientes.....	58
RESUMO.....	59
ABSTRACT.....	59
1 INTRODUÇÃO.....	60
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	61
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
4 CONCLUSÕES.....	77
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
CAPÍTULO IV. Redução da sensibilidade à dessecação em sementes de <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg.....	83
RESUMO.....	84
ABSTRACT.....	84
1 INTRODUÇÃO.....	84
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	87
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	89
4 CONCLUSÕES.....	95
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96

LISTA DE QUADROS

PÁGINA

CAPÍTULO I

- QUADRO 1. Diâmetro e massa dos frutos de *Campomanesia adamantium*..... 29
- QUADRO 2. Dimensões e massa de sementes de *Campomanesia adamantium* provenientes de frutos com diferentes tamanhos..... 29
- QUADRO 3. Número de sementes por fruto de *Campomanesia adamantium*..... 30
- QUADRO 4. Teor de água (TA) (%), germinação (G) (%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) (cm), comprimento da raiz (CR) (cm), comprimento total (CT) (cm), massa fresca total (MFT) (g) e massa seca total (MST) (g) de *Campomanesia adamantium* em função das classes de frutos (P - pequeno, MP - médio pequeno, MG - médio grande e G - grande)..... 33
- QUADRO 5. Coeficiente de correlação simples (r) entre os resultados de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), comprimento total (CT), massa fresca total (MFT) e massa seca total (MST) e das dimensões e massa das sementes em função dos tamanhos dos frutos de *Campomanesia adamantium*..... 34

CAPÍTULO II

- QUADRO 1. Teores de água (% base úmida) desejado e obtido após a secagem de sementes de *Campomanesia adamantium*..... 45

CAPÍTULO III

- QUADRO 1. Testes microquímicos dos xilopódios de plântulas de *Campomanesia adamantium*..... 77

CAPÍTULO IV

- QUADRO 1. Protrusão da raiz primária (PROT) (%), porcentagem de plântulas normais (PN) (%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) (cm), comprimento da raiz primária (CR) (cm), comprimento total (CT) (cm) e massa seca total (MST) (g) de *Campomanesia adamantium* submetidas aos tratamentos de polietileno glicol (PEG) -1,48 e -2,01 MPa associados ou não com ácido abscísico (ABA) durante a embebição e posterior secagem em sílica gel em diferentes teores de água..... 91
- QUADRO 2. Protrusão da raiz primária (PROT) (%), porcentagem de plântulas normais (PN) (%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) (cm),

comprimento da raiz primária (CR) (cm), comprimento total (CT) (cm) e massa seca total (MST) (g) de *Campomanesia adamantium* submetidas aos tratamentos de polietileno glicol (PEG) -1,48 e -2,01 MPa associados ou não com ácido abscísico (ABA) durante a embebição e posterior secagem em ambiente de laboratório (lenta) em diferentes teores de água.....

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

CAPÍTULO I

- FIGURA 1. Frutos de *Campomanesia adamantium* que foram classificados de acordo com o tamanho em grande (G), médio grande (MG), médio pequeno (MP) e pequeno (P). Dourados/MS, UFGD, 2013..... 28
- FIGURA 2. Curva de embebição de água das sementes de *Campomanesia adamantium* provenientes de frutos com diferentes tamanhos Dourados/MS, UFGD, 2013..... 31

CAPÍTULO II

- FIGURA 1. Curva de secagem em sílica (rápida) e em ambiente (lenta) de sementes de *Campomanesia adamantium*. Dourados/MS, UFGD, 2013..... 45
- FIGURA 2. Protrusão da raiz primária (a) (%), porcentagem de plântulas normais (b) (%) e índice de velocidade de germinação (IVG) (c) de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013..... 46
- FIGURA 3. Comprimento da parte aérea (CPA) (cm) (a) e comprimento da raiz primária (CR) (cm) (b) de plântulas de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013..... 48
- FIGURA 4 Comprimento total (CT) (cm) (a) e massa seca total (MST) (g) (b) de plântulas de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013..... 49
- FIGURA 5. Condutividade elétrica massal de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013..... 50
- FIGURA 6. Gel de agarose 1% com DNA extraído de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. M: Marcador 100 pb (peso molecular). Dourados/MS, UFGD, 2013..... 51
- FIGURA 7 Gel de agarose 1% com RNA extraído de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. M: Marcador 100 pb (peso molecular). Dourados/MS, UFGD, 2013..... 52

CAPÍTULO III

- FIGURA 1. Curva de secagem lenta de sementes de *Campomanesia adamantium*. Dourados/MS, UFGD, 2013..... 64
- FIGURA 2. Teor de água (%) de sementes de *Campomanesia adamantium* acondicionadas com diferentes teores de água (%), temperaturas de ambientes e armazenadas por diferentes períodos.

	Dourados/MS, UFGD, 2013.....	65
FIGURA 3.	Protrusão da raiz primária (PRP) (%) (a, b, c) e porcentagem de plântulas normais (PPN) (%) (d, e, f) de sementes de <i>Campomanesia adamantium</i> em função das interações teores de água x condições de ambiente (a, d), períodos de armazenamento x condições de ambiente (b, e) e períodos de armazenamento x teores de água (c, f). Dourados/MS, UFGD, 2013.....	66
FIGURA 4.	Comprimento da parte aérea (CPA) (cm) (a, b, c) e comprimento da raiz primária (CR) (cm) (d, e, f) de plântulas de <i>Campomanesia adamantium</i> em função das interações teores de água x condições de ambiente (a, d), períodos de armazenamento x condições de ambiente (b, e) e períodos de armazenamento x teores de água (c, f). Dourados/MS, UFGD, 2013.....	70
FIGURA 5.	Comprimento total (CT) (cm) (a, b, c) e massa seca total (MST) (g) (d, e, f) de plântulas de <i>Campomanesia adamantium</i> em função das interações teores de água x condições de ambiente (a, d), períodos de armazenamento x condições de ambiente (b, e) e períodos de armazenamento x teores de água (c, f). Dourados/MS, UFGD, 2013.....	72
FIGURA 6.	Taxa de sobrevivência da parte aérea e da raiz primária de plântulas de <i>Campomanesia adamantium</i> acondicionadas em diferentes teores de água (%), condições de ambiente e períodos de armazenamento. Dourados/MS, UFGD, 2013.....	74
FIGURA 7.	Visão geral de plântulas normais e anormais de <i>Campomanesia adamantium</i> (provenientes de sementes com teores de água de 21,5, 15,3 e 10,2%). (cot: cotilédones expandido, hp: hipocótilo, xl: xilopódio, rp: raiz primária). Dourados/MS, UFGD, 2013.....	75
FIGURA 8.	Secção transversal do xilopódio em estágio primário de crescimento de plântula normal (a) e anormal (b) (M = medula, C= córtex, P= parênquima, Col= colênquima, CV= cilindro vascular, Ep= epiderme, seta vermelha = lipídeos detectados com Sudan III e seta amarela= compostos fenólicos detectados com cloreto férrico). Dourados/MS, UFGD, 2013.....	76

CAPÍTULO IV

FIGURA 1.	Curva de embebição (a) e teores de água (%) (b) de sementes de <i>Campomanesia adamantium</i> submetidas ao tratamento com polietileno glicol (PEG) (-1,48 e -2,01 MPa) com adição ou não de ácido abscísico (ABA) e controle (água), durante a embebição. As barras indicam o desvio padrão das médias. (*) Protrusão da raiz primária. Dourados/MS, UFGD, 2013.....	90
-----------	---	----

GERMINAÇÃO E REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE À DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O. BERG (MYRTACEAE)

RESUMO

A conservação de sementes de espécies frutíferas nativas através do armazenamento vem sendo utilizada com a finalidade de manter a qualidade fisiológica e a viabilidade das sementes durante períodos de tempo pré-determinados (curto, médio ou longo prazo), para posterior semeadura. Baseado nisso, o objetivo geral desse trabalho foi conservar sementes de *Campomanesia adamantium* uma espécie frutífera nativa encontrada no Cerrado Sul-Matogrossense, popularmente conhecida como guavira ou gabioba. Inicialmente, foi avaliado o efeito do tamanho dos frutos e sementes na germinação e vigor de *C. adamantium*. Observou-se que os frutos possuem diferentes tamanhos que apresentam relação direta com as dimensões e massas de sementes, além de influenciarem a germinação e o vigor de sementes. A classe de frutos pequeno, médio pequeno e médio grande apresentam sementes com maior porcentagem e velocidade de germinação, enquanto frutos classificados como grandes proporcionam plântulas com maior acúmulo de biomassa. Para avaliar a sensibilidade à dessecação das sementes foi realizada a redução do nível de hidratação das sementes visando à obtenção de teores de água de 45, 35, 30, 25, 20, 15, 10 e 5%, por meio de secagem em sílica gel ativada (rápida) e em condições de laboratório (lenta). Com base nos resultados, as sementes de *C. adamantium* são sensíveis à dessecação e a redução do teor de água a partir de 21,1% na secagem rápida e 17,2% na lenta prejudica o potencial fisiológico das sementes. A integridade do DNA não foi afetada após a secagem rápida e lenta das sementes. Porém, a secagem rápida no teor de água de 4,5% e a lenta no teor de 5,4% provocaram a perda da integridade do RNA das sementes. Para avaliar a conservação, as sementes foram submetidas à secagem em condições de laboratório (lenta) nos teores de água de 20, 15, 10 e 5% e posteriormente submetidas ao armazenamento nas condições de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 35% UR), câmara fria e seca ($16 \pm 1^\circ\text{C}$, 40% UR), geladeira ($8 \pm 1^\circ\text{C}$, 35% UR) e freezer ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$, 42% UR) durante zero (recém-processadas), 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. De acordo com os resultados, as sementes de *C. adamantium* apresentam comportamento recalcitrante, não suportando a dessecação a níveis inferiores a 15,3% e ao armazenamento em condições de ambiente de laboratório, câmara fria e seca, geladeira e freezer durante 30 dias. A dessecação e o armazenamento das sementes prejudicam a formação das plântulas, impedindo o desenvolvimento normal das estruturas de raiz e parte aérea. Os efeitos deletérios da secagem associados com o armazenamento provocam o aparecimento de compostos fenólicos e frutanos nas plântulas anormais. Para avaliar a redução a sensibilidade à dessecação em sementes de *C. adamantium* utilizando polietileno glicol e ácido abscísico (ABA), as sementes foram submetidas, por 120 horas, ao condicionamento com polietileno glicol (PEG) nos potenciais de -1,48 e -2,04 MPa, associada ou não com ABA (100 μM). As sementes que não foram submetidas aos tratamentos constituíram o controle. Em seguida foram desidratadas por meio de secagem lenta e rápida, com redução do teor de água de 20, 15 e 10%. O tratamento com polietileno glicol -1,48 MPa sem ácido abscísico e posterior secagem em sílica gel (rápida) no teor de água de 15% foi eficiente para induzir a redução da sensibilidade à dessecação das sementes. O osmocondicionamento associado ou não ao ácido abscísico não induz a redução da sensibilidade à dessecação em sementes de *C.*

adamantium nos teores de água de 20, 15 e 10% quando submetidas a secagem em condições de laboratório (lenta).

Palavras-chave: Guavira, conservação, secagem, ácido abscísico (ABA), condicionamento osmótico.

**GERMINATION AND REDUCTION OF DESICCATION SENSIVITY IN
Campomanesia adamantium SEEDS (CAMBESS.) O. BERG (MYRTACEAE)**

ABSTRACT

The conservation of the seeds of native plant species by storing their fruits has been used to maintain seed physiological quality and viability during predetermined periods of time (short, medium, or long term) before sowing. The present study sought to conserve the seeds of *Campomanesia adamantium* (popularly known as "guavira" or "gabirola") a native savanna species from southern Mato Grosso State, Brazil. We initially evaluated the effects of fruit size on seed germination and vigor and observed that fruit size has a direct relationship with the sizes and masses of the seeds and influences their germination and vigor. Small, medium-small, and medium fruits produced large seeds with higher germination percentages and germination speeds, while large fruits produced seedlings showing higher biomass accumulations. The object of the present work was to evaluate *C. adamantium* seed sensitivity to either slow or fast desiccation. To evaluate seed sensitivity to desiccation, their water contents were reduced by 45, 35, 30, 25, 20, 15, 10 and 5% by drying over activated silica gel (fast drying) or at normal room-temperature conditions (slow drying). *C. adamantium* seeds were found to be sensitive to water content reductions below 21.1% with fast drying and below 17.2% with slow drying due to reductions in their physiological potentials. DNA integrity was not affected by drying by either of the two methods. Activated silica gel (fast) drying to 4.5% water content and laboratory (slow) drying to 5.4% water contents caused losses of RNA integrity of the seeds. To evaluate seed conservation, seeds were submitted to drying under laboratory conditions (slow) to different final water contents and subsequently exposed to various environment conditions: at room-temperature ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 35% RH), in a cold/dry chamber ($16 \pm 1^\circ\text{C}$, 40% RH), under refrigeration ($8 \pm 1^\circ\text{C}$, 35% RH), and under freezing conditions ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$, 42% RH) for 0 (recently processed seeds, with only superficial drying for 40 minutes), 30, 60, 90, 120, 150 and 180 days. *C. adamantium* seeds were found to be recalcitrant and could not support desiccation to levels below 15.3% and subsequent storage under laboratory environment conditions, in a cold/dry chamber, under refrigeration, or in a freezer for 30 days. The desiccation and storage of seeds affected seedling formation, impeding the normal development of root and shoot structures. The deleterious effects associated with dry storage were reflected in the appearance of phenolic compounds and fructans in abnormal *C. adamantium* seedlings. To evaluate any reductions in sensitivity desiccation in seeds primed with polyethylene glycol and abscisic acid (ABA), seeds were submitted to osmotic treatments with polyethylene glycol (PEG) at concentrations of -1.48 and -2.04 MPa associated, or not, with ABA (100 μM) for 120 hours. Seeds not subjected to these treatments constituted the controls. The seeds were then dehydrated by drying over activated silica gel (fast drying) or under room-temperature conditions (slow drying), with water content reductions of 20, 15, and 10%. Treatment with polyethylene glycol (-1.48 MPa) without abscisic acid with subsequent drying over silica gel (fast) induced sensitivity of *C. adamantium* seeds to desiccation at water contents of 15%. This osmopriming, associated or not with abscisic acid, did not induce sensitivity to desiccation in seeds with water contents of 20, 15 and 10% when subjected to slow drying.

Keywords: Guavira, conservation, drying, abscisic acid (ABA), osmotic conditioning.

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os planos e ações de conservação da diversidade biológica, principalmente em áreas com maior abundância e diversidade de grupos ecológicos, são fundamentais para evitar o agravamento da devastação e de uma maior erosão genética, mas ainda há carência de informações científicas que permitam subsidiar tais iniciativas (BARBEDO et al., 2002). A conservação *ex situ*, ou seja, realizada fora da área de ocorrência da espécie, geralmente em bancos de germoplasma, consiste na coleta e preservação de amostras representativas de indivíduos presentes em uma população a ser conservada. Destes, podem ser coletados tanto material vegetativo (estacas e gemas, por exemplo) quanto sementes que são armazenadas sob determinadas condições, por um longo período (GRAUDAL et al., 1997; JOSÉ et al., 2007). Entretanto, a carência de conhecimento sobre as condições ideais de armazenamento de sementes de algumas espécies impede a manutenção da viabilidade do germoplasma de algumas espécies em bancos de sementes (JETTON et al., 2008).

O Brasil possui considerável área de mata nativa com grande variedade de espécies frutíferas ainda pouco estudadas, muitas com potencial de aproveitamento pouco explorado e com falta de estudos que permitam a implantação de pomares comerciais (KOHAMA et al. 2006). Os estudos relacionados à tolerância à dessecação de sementes são importantes para a conservação *ex situ* do germoplasma de espécies frutíferas nativas e para indicar o grau de umidade para o armazenamento eficiente das sementes, sem causar danos à qualidade fisiológica e ao sucesso da propagação futura da espécie (SCALON et al., 2012).

1.1 Tolerância à dessecação

O comportamento fisiológico das sementes de frutíferas nativas durante a germinação está relacionado com o seu local de origem; porém, nem todas as espécies se comportam da mesma maneira durante o armazenamento. Esse comportamento fisiológico da semente durante o armazenamento foi inicialmente estudado por Roberts (1973) ao classificar as sementes em ortodoxas (mantém a viabilidade após a secagem até teores de água próximos de 5% e podem ser armazenadas sob baixas temperaturas por longos períodos) ou recalcitrantes (sensíveis à redução excessiva do teor de água, perdendo a viabilidade e dificultando o armazenamento por longo prazo). Farrant et al. (1988) propuseram a classificação

das sementes recalcitrantes em altamente recalcitrantes, quando possuem pequena tolerância à dessecação, moderadamente recalcitrantes e minimamente recalcitrantes. Posteriormente, uma terceira categoria intermediária entre as ortodoxas e as recalcitrantes foi identificada por Ellis et al. (1990), as quais toleram a perda de água até teores de 7 a 10% e não suportam baixas temperaturas de armazenamento por períodos prolongados.

Assim, a classificação das sementes quanto à capacidade de armazenamento depende de estudos de tolerância à dessecação, armazenamento sob temperaturas baixas (HONG e ELLIS, 1996) e mecanismos fisiológicos e moleculares envolvidos com a tolerância e sensibilidade à dessecação de sementes (PAMENTER e BERJAK, 1999; FARIA et al., 2004).

Durante a fase final da maturação das sementes, o ácido abscísico (ABA) é um dos responsáveis pela síntese de proteínas de armazenamento, a indução de proteínas LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) e a indução da tolerância à dessecação (CASTRO et al., 2004). Normalmente o conteúdo de ABA durante o início da embriogênese é baixo, atingindo níveis mais elevados na fase intermediária desse processo, sendo que entre as fases intermediárias e tardias do desenvolvimento da semente ocorre o acúmulo de RNA's mensageiros específicos em resposta à concentração do ABA (TAIZ e ZEIGER, 2009).

A tolerância à dessecação pode estar relacionada com a produção de um grupo de proteínas denominadas LEA (*Late Embryogenesis Abundant*) (BLACKMAN et al., 1991; WALTERS et al., 2001; ROSA et al. 2005). As proteínas do grupo LEA estão envolvidas na estabilização de estruturas macromoleculares no estado desidratado, portanto, permitem a integridade funcional das membranas após a desidratação e reidratação (BUITINK et al., 2002). Porém, apenas a presença das proteínas do grupo LEA não é suficiente para garantir tolerância à dessecação, normalmente estas proteínas agem sinergicamente com a sacarose na formação do estado viscoso da matriz citoplasmática garantindo a estabilidade celular em organismos tolerantes a dessecação (BERJAK e PAMMENTER, 2007).

O RNA e o DNA são responsáveis pela atividade gênica que controlam os processos celulares vitais. A estabilidade do DNA durante a desidratação e sua capacidade de reparo durante a reidratação são componentes essenciais de um mecanismo de tolerância à dessecação. Recentemente, a integridade dos ácidos nucléicos tem sido alvo dos estudos relacionados à dinâmica da perda da viabilidade

de sementes (BOUBRIAK et al., 1997; FARIA et al., 2005; KRANNER et al., 2006; MASETTO et al., 2008; KRANNER et al., 2011).

Além das proteínas LEA, os carboidratos solúveis são importantes componentes envolvidos na tolerância à dessecação. Estes compostos apresentam característica hidrofílica e durante a perda de água pela semente agem como moléculas osmoprotetoras, substituindo a água e evitando que ocorram danos à membrana durante a embebição (KOSTER e LEOPOLD, 1988; PAMMENTER e BERJAK, 2000). Os carboidratos solúveis são constituídos principalmente por sacarose, glucose e frutose e, em menores proporções, por ciclitóis e oligossacarídeos da série da rafinose (ROs), como rafinose e estaquiose (BORGES et al., 2006, GARCIA et al., 2006).

1.2 Armazenamento de sementes

As características morfológicas de semente e do fruto constituem critério bastante seguro para a identificação de espécies e auxiliam na interpretação dos testes de germinação em laboratório; orientam quanto ao armazenamento de sementes e métodos de cultivo, além de facilitarem o reconhecimento das espécies em bancos de sementes no solo (DONADIO e DEMATTÊ, 2000, RAMOS e FERRAZ, 2008).

O armazenamento de sementes das espécies de preservar a viabilidade sob condições ideais, mantendo a redução da atividade fisiológica durante o período de conservação, podendo, em condições não favoráveis, resultar em germinação ou deterioração (SCHMIDT, 2007). Durante o armazenamento ocorrem alterações que resultam na deterioração das sementes. Dentre as principais alterações destacam-se o esgotamento das reservas alimentares, a alteração da composição química, como a oxidação dos lipídeos e a quebra parcial das proteínas, alteração das membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização, as alterações enzimáticas e alterações de nucleotídeos (VILLELA e PERES, 2004), sendo que a capacidade de armazenamento varia entre e dentro de lotes de sementes e entre as espécies (GROOT et al., 2003).

A conservação de sementes com o armazenamento, depende do conhecimento sobre o desempenho e viabilidade destas durante esse processo, o que possibilita a utilização de condições adequadas para a manutenção da viabilidade (HONG e ELLIS, 1996). Diversas técnicas são estudadas em busca de melhores

condições de armazenamento, sendo que a principal técnica é a redução do metabolismo, seja por meio da remoção da água ou da diminuição da temperatura (KOHAMA et al., 2006).

Segundo Davide et al. (2003), as condições para a conservação *ex situ* de sementes variam conforme a classificação do comportamento delas durante o armazenamento. Para as sementes ortodoxas, por tolerarem a dessecação até atingirem teores de água relativamente baixos (até 5%), são recomendadas temperaturas abaixo de zero e umidade relativa do ar inferior a 25 ou 30% para a preservação da qualidade fisiológica por períodos longos, mantendo a viabilidade (ROBERTS, 1973; VILLELA e PERES, 2004). Para as recalcitrantes, o armazenamento depende da manutenção do seu teor de água em níveis elevados e constantes, da escolha da embalagem e principalmente da umidade relativa do ar sob as quais as sementes ficarão armazenadas (FONSECA e FREIRE, 2003). De acordo com Hong e Ellis (1996), não existe nenhum método satisfatório para a manutenção da viabilidade de sementes recalcitrantes em longo prazo, visto que elas não podem ser secas e armazenadas em temperaturas abaixo de zero, devido à formação de cristais de gelo durante o congelamento.

Grande número de espécies frutíferas e florestais possui sementes recalcitrantes, que podem apresentar recalcitrância. As sementes com alta recalcitrância apresentam tolerância à redução de poucos pontos percentuais de água e muita sensibilidade a baixas temperaturas e são sementes comuns em plantas de floresta tropical. Porém, as de baixa recalcitrância exibem tolerância à pequena redução de teor de água, reduzida sensibilidade a baixas temperaturas e baixa germinação quando não umedecidas, sendo características de sementes de plantas de clima temperado e subtropical (VILLELA e PERES, 2004). O armazenamento de sementes recalcitrantes de clima temperado ocorre geralmente em temperaturas de 0 a 5°C e em embalagens impermeáveis à perda de umidade, de modo a impedir as trocas gasosas com a atmosfera. Porém, para as recalcitrantes adaptadas a clima tropical, as temperaturas devem ser mantidas em níveis mais elevados, geralmente entre 12 a 20°C (BONNER, 2008).

As informações sobre armazenamento de sementes de espécies frutíferas nativas no Bioma Cerrado são insuficientes, dentre elas a espécie *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg.

1.2.1 *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae)

A família Myrtaceae apresenta pelo menos 132 gêneros e mais de 5600 espécies, sendo que o gênero *Campomanesia* apresenta 36 espécies conhecidas (GOVAERTS et al., 2008), das quais 33 delas se encontram na flora brasileira (SOBRAL et al., 2013).

A espécie *Campomanesia adamantium* é uma frutífera nativa e não cultivada, porém abundante na região de Campos e Cerrado de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul até Santa Catarina, em alguns casos, chegando a ultrapassar os limites do Brasil para alcançar as terras do Uruguai, Argentina e Paraguai (LORENZI, 2008). Floresce nos meses de setembro a novembro. Os frutos amadurecem de novembro a dezembro, apresentando formato redondo, de coloração que varia do verde-escuro ao verde-claro e amarelo, exalando aroma adocicado e bastante agradável. Os frutos apresentam potencial para serem utilizados "*in natura*", na indústria de alimentos e como flavorizantes na indústria de bebidas, devido aos seus atributos de qualidade como: elevada acidez, ácido ascórbico (vitamina C), minerais, fibras alimentares e hidrocarbonetos monoterpênicos (a-pineno, limoneno e b-(z) ocimeno), presentes em maior quantidade no óleo volátil dos frutos, e que lhes conferem o aroma cítrico (VALLILO et al., 2006a, VALLILO et al., 2006b). Suas folhas e frutos possuem algumas propriedades medicinais como antiinflamatória, antidiarréica e antisséptica das vias urinárias (PIVA, 2002).

As sementes recém-dispersas de *C. adamantium* apresentam teores elevados de água, o que pode reduzir a viabilidade e longevidade das mesmas. Diante disso, este trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar o efeito do tamanho dos frutos e sementes na germinação e vigor; o comportamento das sementes durante o armazenamento; a sensibilidade à dessecação por meio de secagem em temperatura ambiente (lenta) e em sílica gel (rápida) e a redução da sensibilidade à dessecação das sementes por meio de osmocondicionamento com polietileno glicol (PEG) e ácido abscísico (ABA).

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echicata* Lam. (pau-brasil), espécie de Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 4, p. 431-439, 2002.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicennia* to *Zizania*: Seed Recalcitrance in Perspective. **Annals of Botany**, Oxford, p. 1-16, 2007.

BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, p. 868-874, 1991.

BONNER, F. T. **Storage of Seeds**. In: The Woody Plant Seed Manual, BONNER, F. T.; KARRFALT, R. P. (Ed.), USDA FS Agriculture Handbook, p. 85-95, 2008.

BORGES, I. F.; BARBEDO, C. J.; RICHTER, A. A.; FIGUEIREDO RIBEIRO, R. C. L. Variations in sugars and cyclitols during development and maturation of seeds of brazilwood (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae). **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Curitiba, n. 18, p. 475-482, 2006.

BOUBRIAK, I.; KARGIOLAKI, H.; LYNE, L.; OSBORNE, D.J. The requirement for DNA repair in desiccation tolerance of germinating embryos. **Seed Science Research**, Zürich, v. 7, p. 97-105, 1997.

BUITINK, J.; HOEKSTRA, F. A.; LEPRINCE O. Biochemistry and Biophysics of desiccation tolerance systems. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and Survival in Plants**. Wallingford: CABI, 2002. p. 293-318.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 51-68.

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, p. 29-35, 2003.

DONADIO, N. M. M.; DEMATTÊ, M. E. S. P. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng) Taub.) e jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth.) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 64-73, 2000.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

FARIA, J. M. R.; VAN LAMMEREN, A. A. M.; HILHORST, H. W. M. Desiccation sensitivity and cell cycle aspects in seeds of *Inga vera* subsp. affinis. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, p. 165-178, 2004.

FARIA, J. M. R.; BUITINK, J.; LAMMEREN, A. A. M. van; HILHORST, H. W. M. Changes in DNA and microtubules during loss and re-establishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. **Journal of Experimental Botany**, Lancaster, v. 56, p. 2119-2130, 2005.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Recalcitrance: a current assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 16, p. 155-166, 1988.

FONSECA, S. C. L.; FREIRE, H. B. Sementes recalcitrantes: problemas na pós-colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 62, p. 297-303, 2003.

GARCIA, I. S.; SOUZA, A.; BARBEDO, C. J.; DIETRICH, S. M. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Changes in soluble carbohydrates during storage of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, n. 66, p. 739-745, 2006.

GOVAERTS, R.; SOBRAL, M.; ASHTON, P.; BARRIE, F.; HOLST, B. K.; LANDRUM, L. R.; MATSUMOTO, K.; MAZINE, F. F.; NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C.; SOARES-SILVA, L. H.; WILSON P. G.; LUCAS, E. **World checklist of Myrtaceae**. The board of trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. 2008. 455p.

GROOT, S. P. C.; SOEDA, Y.; STOOPEN, G.; KONINGS, M. C. J. M.; GEEST, A. H. M. van der. Gene expression during loss and regaining of stress tolerance at seed priming and drying. In: NICOLÁS, G.; BRADFORD, K. J.; CÔME, D.; PRITCHARD, H.D. (Ed.). **The biology of seeds: recent research advances**. Cambridge: CAB International, 2003. p. 279-287.

GRAUDAL, L.; KJAER, E.; THOMSEN, A.; LARESEN, A. B. **Planning national programmes for conservation of Forest genetic resource**. Humlebaek: DFSC, 1997. 55p. (Technical Note, 48).

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55p. (Technical Bulletin, 1).

JOSE, A. C.; SILVA, E. A. DA; DAVIDE, A. C. Classificação fisiológica de sementes de cinco espécies arbóreas de mata ciliar quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, 2007.

JETTON, R. M.; DVORAK, W. H.; WHITTIER, W. A. Ecological and genetic factors that define the natural distribution of Carolina hemlock in the southeastern United States and their role in ex situ conservation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 255, n. 8-9, p. 3212-3221, 2008.

KOHOMA, 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**, Pelotas, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.

KOSTER, K. L.; LEOPOLD, A. C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, p. 829-832, 1988.

KRANNER, I.; BIRTIC, S.; ANDERSON, K. M.; PRITCHARD, H. W. Glutathione half-cell reduction potential: a universal stress marker and modulator of programmed cell death? **Free Radical Biology and Medicine**, v. 40, p. 2155-2165, 2006.

KRANNER, I.; CHEN, H.; PRITCHARD, H. W.; PEARCE, S. R.; BIRTIC, S. Inter-nucleosomal DNA fragmentation and loss of RNA integrity during seed ageing. **Plant Growth Regulation**, v. 63, p. 63-72, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras - manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1, 5.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 384 p.

MASETTO, T. E.; FARIA, J. M. R.; DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. Desiccation tolerance and DNA integrity in *Eugenia pleurantha* O. Berg. (Myrtaceae) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v. 30, n. 1, p. 51-56, 2008.

PAMMENTER N. W; BERJAK P. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 10, p. 301-306, 2000.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, p. 13-37, 1999.

PIVA, M. G. **O caminho das plantas medicinais: estudo etnobotânico**. Rio de Janeiro: Mondrian, 2002. 313 p.

RAMOS, M. B. P.; FERRAZ, I. D. K. Estudos morfológicos de frutos, sementes e plântulas de *Enterolobium schomburgkii* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n. 31, p. 227-235, 2008.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 499-514, 1973.

ROSA, S. D. V. F. DA; PINHO, E. R. V.; VIEIRA, E. S. N.; VEIGA, R. D.; VEIGA, A. D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas LEA associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.

SCALON, S. P. Q.; NEVES, E. M. S.; MASETO, T. E.; PEREIRA, Z. V. Sensibilidade à dessecação e ao armazenamento em sementes de *Eugenia pyriformes* Cambess. (uvaia). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 269-276, 2012.

SCHMIDT, L. **Tropical forest seed**. New York: Springer, 2007, 409 p.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. Myrtaceae. In: Forzza, R.C. (org.). **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil>

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed., Artmed editora, Porto Alegre, 2009. 820p.

VALLILO, M. I.; BUSTILLOS, O. V.; AGUIAR, O. T. de Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg – Myrtaceae. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 18, n. único, p. 15-22, 2006a.

VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, 2006b.

VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, secagem e beneficiamento de sementes. In. FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, R. (Ogs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 265-281 p.

WALTERS, C.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; CRANE, J. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 11, p. 135-148, 2001.

CAPÍTULO I

**INFLUÊNCIA DO TAMANHO DO FRUTO E DA SEMENTE NA
GERMINAÇÃO E VIGOR DE *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O.
BERG**

RESUMO – (Influência do tamanho do fruto e da semente na germinação e vigor de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg)¹. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do tamanho do fruto e da semente na germinação e vigor de sementes *C. adamantium*. Para a caracterização biométrica, foram selecionados aleatoriamente 100 frutos, divididos visualmente em quatro classes com predominância de tamanho, nas quais foram tomadas as medidas de diâmetro longitudinal e transversal (mm) e massa (g) das sementes. A caracterização da semente foi realizada em 30 frutos de cada classe, por meio da determinação do número de sementes íntegras, vazias e total de cada fruto. O potencial fisiológico das sementes em função do tamanho dos frutos foi analisado por meio dos seguintes testes: curva de embebição, grau de umidade, porcentagem e índice de velocidade de germinação, comprimento de plântulas, massa fresca e seca total de plântulas. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e os dados das avaliações foram submetidos ao teste de correlação linear simples (r). Os frutos de *C. adamantium* possuem diferentes tamanhos que apresentam relação direta com as dimensões e massas de sementes, além de influenciarem a germinação e o vigor de sementes. Os frutos foram classificados de acordo com o diâmetro longitudinal e transversal, respectivamente, em pequeno (12,71; 12,46 mm), médio pequeno (15,38; 15,01 mm), médio grande (18,84; 18,02 mm) e grande (22,74; 22,36 mm). A classe de frutos pequeno, médio pequeno e médio grande apresentam sementes com maior porcentagem e velocidade de germinação, enquanto frutos classificados como grandes proporcionam plântulas com maior acúmulo de biomassa.

Palavras-chaves: Myrtaceae; classes de tamanho; dimensões de sementes.

ABSTRACT – (Influence of the fruit and seed size on the seeds germination and vigor of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg). The aim of this study was to evaluate the influence of the fruit and seed size on the germination and vigor of *C. adamantium*. For the biometrics characterization, 100 fruits were randomly selected, visually split in four classes with size predominance, in which were taken measures of longitudinal and transversal diameter (mm) and mass (g) of seeds. The characterization of the seed was carried out in 30 fruits of each class, through the determination the number of whole seeds, empty and full seeds of every fruit. The seeds physiological potential in function of fruit size was analyzed through the following tests: imbibition curve, moisture content, percentage and germination speed index, seedling length, fresh and dry mass total of seedlings. The completely randomized design with four treatments and data of evaluations were submitted to analysis of simple linear correlation (r). The fruits of *C. adamantium* show different sizes which have direct relation with the size and mass of the seeds and they influence the germination and seed vigor. The fruits were classified according to the longitudinal and transverse diameter, respectively, into small (12.71; 12.46 mm), medium small (15.38; 15.01 mm), medium large (18.84; 18.02 mm) and large (22.74; 22.36 mm). The class of small fruits, medium small and medium provide large seeds with higher percentage and germination speed, while that one classified as large fruits provide seedlings with higher biomass accumulation.

Keywords: Myrtaceae; seed dimensions; size classes.

1 INTRODUÇÃO

¹ Artigo publicado no periódico “Pesquisa Agropecuária Tropical”, Goiânia, v. 43, n. 3, p. 262-271, jul./set. 2013.

A espécie *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae) é uma frutífera nativa e não cultivada, porém abundante na região de campos e Cerrado de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul até Santa Catarina (LORENZI, 2006). Os frutos coletados em diferentes estádios de amadurecimento apresentam potencial para serem utilizados "in natura", na indústria de alimentos e como flavorizantes na indústria de bebidas, devido à elevada acidez, ácido ascórbico (vitamina C), minerais, fibras alimentares e hidrocarbonetos monoterpênicos, presentes em maior quantidade no óleo volátil dos frutos e que lhes conferem o aroma cítrico (VALILLO et al., 2006).

No ambiente nativo os frutos de *C. adamantium* os frutos apresentam variedade de formas e tamanhos (PAOLI e BIANCONI, 2008), não havendo informações sobre o efeito desta variação sobre a germinação das sementes. Nesse sentido, as características morfológicas de frutos e sementes constituem critério bastante seguro para a identificação de espécies e auxiliam na interpretação dos testes de germinação em laboratório; orientam quanto ao armazenamento de sementes e métodos de cultivo, além de facilitarem o reconhecimento das espécies em bancos de sementes no solo (DONADIO e DEMATTÊ, 2000; RAMOS e FERRAZ, 2008).

Os métodos adequados para análise de sementes de espécies florestais são importantes, especialmente quando visa à obtenção de informações que expressem a qualidade fisiológica da semente (CRUZ e CARVALHO, 2003). A separação das sementes por classes de tamanho para determinação da qualidade fisiológica, por meio de testes de germinação e vigor, é empregada visando definir a classe ideal para multiplicação das diversas espécies vegetais (TORRES, 1994). Nesse contexto, a classificação das sementes por tamanho ou massa é uma estratégia que pode ser adotada para uniformizar a emergência das plântulas e para a obtenção de mudas de tamanho semelhante e/ou de maior vigor (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Para muitas espécies, o peso da semente é um indicativo de sua qualidade fisiológica, sendo que em um mesmo lote, sementes leves, normalmente apresentam menor desempenho do que as pesadas (BEZERRA et al., 2004). A maior quantidade de reserva aumenta a possibilidade de sucesso no estabelecimento da plântula, uma vez que possibilita a sua sobrevivência por um tempo maior em condições ambientais que, ainda, não permitem o aproveitamento das reservas nutricionais e

hídricas do solo e a realização da fotossíntese (HAIG e WESTOBY, 1991). Vários autores relataram o efeito do tamanho de sementes na germinação e no estabelecimento de plântulas. Costa et al. (2006) observaram que as sementes de *Syzygium malaccense* (L.) Merr. e L.M. Perry (jambo-vermelho) de menor tamanho possuem menor germinação e vigor do que as de tamanho médio e maior. Klein et al. (2007) relataram que sementes de *Eugenia uniflora* L. (pitanga) de tamanho médio e grande apresentam maiores médias para as características avaliadas entretanto, Pereira et al. (2011) observaram que sementes médias de *Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Lee. Y. T. e J. H. Langenheim (jatobá-do-Cerrado) apresentam maior capacidade de emissão da raiz primária que sementes grandes.

A germinação da semente consiste na reativação do crescimento do embrião por meio de uma sequência ordenada de eventos metabólicos, resultando na ruptura do tegumento pela raiz primária (BEWLEY e BLACK, 1994). O início desse processo se dá pela absorção de água pelas sementes e termina com o alongamento do eixo embrionário. A velocidade de absorção das sementes varia de acordo com espécie, disponibilidade hídrica, temperatura, área de contato, composição química dos tecidos de reserva e as condições fisiológicas das sementes (BEWLEY e BLACK, 1994, CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). De acordo com a revisão de Bortolotto et al. (2008), pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de associar a velocidade de hidratação da semente com o seu potencial fisiológico, à medida que a velocidade de absorção pode ser afetada pela qualidade das sementes, constituindo-se, assim, em indicativo de qualidade. Entretanto, para as sementes de espécies florestais nativas estudos nesse sentido ainda são escassos.

Assim, os conhecimentos sobre os aspectos biométricos de frutos e sementes e sua influência na germinação podem auxiliar na tomada de decisão durante a coleta dos frutos e, conseqüentemente, na produção de mudas de espécies tropicais nativas. Assim, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito do tamanho dos frutos e sementes na germinação e vigor de *C. adamantium*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Campomanesia adamantium* foram coletados no final do mês de dezembro/2011, a partir de 30 matrizes localizadas em região de Cerrado (*stricto sensu*), na cidade de Ponta Porã-MS. Após a coleta, os frutos foram levados ao Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas da Universidade Federal da

Grande Dourados (UFGD), em Dourados-MS, onde foram lavados em água corrente, descartando-se os frutos danificados. Posteriormente, foram submetidos às seguintes determinações:

Biometria dos frutos e sementes

Para a caracterização biométrica, foram selecionados aleatoriamente 100 frutos, divididos visualmente em quatro classes com predominância de tamanho, nas quais foram tomadas as medidas de diâmetro longitudinal e transversal (mm), utilizando-se paquímetro digital com precisão de 0,01 mm. A massa (g) das sementes também foi determinada com auxílio de uma balança digital com precisão de 0,0001g.

Para a caracterização das sementes, foram selecionados, aleatoriamente, 30 frutos de cada classe que foram cortados transversalmente para a extração das sementes. Determinou-se o número de sementes íntegras, vazias e total para cada fruto. Posteriormente, as sementes íntegras foram lavadas e secas superficialmente sobre uma toalha de papel por 15 minutos em temperatura ambiente (25 ± 1 °C e 60% UR). Em seguida, foram determinadas as medidas de comprimento (mm), largura (mm) e espessura (mm) com auxílio de paquímetro digital e a massa (g) das sementes foi determinada em balança digital (precisão de 0,0001g).

Os dados de biometria de frutos e sementes foram analisados por meio das medidas de posição (médias, valores mínimo e máximo) e medidas de dispersão (desvio padrão e coeficientes de variação).

Germinação e vigor de sementes

Para avaliar a absorção de água pelas sementes em função das classes de tamanho dos frutos, foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes. Inicialmente, as sementes foram pesadas e posicionadas sobre duas folhas de papel Germitest[®], umedecidas com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco. As pesagens foram realizadas em balança com precisão de 0,0001g a cada hora durante as primeiras 8 horas de embebição e, posteriormente, a cada 12 horas até o final do sexto dia de embebição.

Para a determinação do potencial fisiológico das sementes em função das classes de frutos, estes foram despolidos manualmente e as sementes lavadas em água corrente e secas sobre uma toalha de papel em ambiente de laboratório (25 ± 1 °C e 60% UR), por 30 minutos. Após o processamento das sementes, foram determinadas as seguintes características:

Teor de água: foi determinado a 105 ± 3 °C por 24 h, pelo método da estufa (BRASIL, 2009), com três repetições de 5g de sementes cada e os resultados foram expressos em base úmida.

Germinação: foi realizada em rolos de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25 °C, sob luz branca constante. As avaliações foram realizadas aos quarenta e dois dias após a semeadura, computando-se as percentagens de plântulas normais utilizando-se como critério a emissão de parte aérea e sistema radicular desenvolvido (DRESCH et al., 2012).

Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire (1962): $IVG = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + (G_3/N_3) + \dots + (G_n/N_n)$, em que: *IVG* = índice de velocidade de germinação, $G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$ = número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem; $N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$ = número de dias da semeadura à primeira, segunda, terceira e última contagem.

Comprimento de plântulas: o comprimento de raízes, parte aérea e total das plântulas foi mensurado a partir de 10 plântulas provenientes do teste de germinação. Os resultados foram expressos em centímetros (cm).

Massa seca total: obtida a partir das plântulas secas em estufa regulada a 60°C por 48 horas, até obter-se a massa seca constante, medida em balança analítica de precisão (0,0001g) e os resultados foram expressos em gramas (g).

O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos e para a análise de variância, as médias foram comparadas por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2008). Os dados das avaliações também foram submetidos ao teste de correlação linear simples (*r*).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Biometria dos frutos e sementes

Os frutos de *Campomanesia adamantium* apresentaram elevada heterogeneidade quanto ao tamanho no momento da dispersão, o que permitiu classificá-los em quatro classes distintas: grande (G), médio grande (MG), médio pequeno (MP) e pequeno (P) (Figura 1 e Quadro 1). Segundo Nogueira et al. (2010),

as diferenças dos tamanhos dos frutos podem estar relacionadas à diversidade genética inerente à cada espécie na população, sendo que a modificação nos tamanhos de frutos estão relacionadas não apenas ao patrimônio genético, mas às condições determinadas pelo ambiente.



FIGURA 1. Frutos de *Campomanesia adamantium* classificados pelo tamanho em grande (G), médio grande (MG), médio pequeno (MP) e pequeno (P). Dourados/MS, UFGD, 2013.

Os resultados médios de diâmetro longitudinal e transversal para os frutos P foram de 12,71 e 12,46 mm; para os MP de 15,38 e 15,01 mm, para os MG de 18,84 e 18,02 mm e para os G de 22,74 e 22,36 mm (Quadro 1). Esses resultados são semelhantes aos mencionados na literatura, sendo que Melchior et al. (2006) relataram comprimento longitudinal de 14 a 22 mm e Oliveira et al. (2011) verificaram 15 e 20,99 mm para os comprimentos longitudinal e transversal. Os resultados do Quadro 1 permitem inferir que os frutos com os maiores diâmetros longitudinal e transversal apresentaram os maiores resultados de massa de sementes (Quadro 2).

Para a massa do frutos, observou-se diferenças entre a média dos frutos P (1,2839 g), MG (2,0913 g), MP (3,7695 g) e G (7,2717 g) (Quadro 1). O resultado máximo encontrado para a massa de sementes provenientes de frutos grandes (9,75 g) são semelhantes aos relatados por Oliveira et al. (2011) que observaram valores máximo no intervalo de frequência de 9,00 - 9,99 g de frutos frescos de *C. adamantium*.

QUADRO 1. Diâmetro e massa dos frutos de *Campomanesia adamantium*.

Variáveis	Mínimo	Média	Máxima	D.P. ⁽¹⁾	C.V. (%) ⁽²⁾
Pequeno (P)					
Diâmetro longitudinal (mm)	11,6	12,71	13,39	0,6347	4,99
Diâmetro transversal (mm)	10,57	12,46	14,89	0,9548	7,66
Massa (g)	1,0191	1,2839	1,9342	0,2129	16,58
Médio pequeno (MP)					
Diâmetro longitudinal (mm)	14,05	15,38	17,53	0,7826	5,09
Diâmetro transversal (mm)	13,82	15,01	16,61	0,7053	4,70
Massa (g)	1,5826	2,0913	2,8302	0,2762	13,21
Médio grande (MG)					
Diâmetro longitudinal (mm)	16,73	18,84	20,93	1,2134	6,44
Diâmetro transversal (mm)	16,21	18,02	20,35	1,008	5,60
Massa (g)	3,0952	3,7695	5,0492	0,5799	15,38
Grande (G)					
Diâmetro longitudinal (mm)	20,42	22,74	25,71	1,7047	7,50
Diâmetro transversal (mm)	19,15	21,36	26,31	2,3036	10,78
Massa (g)	6,0364	7,2717	9,75	1,1711	16,11

⁽¹⁾ D.P. - Desvio Padrão e ⁽²⁾ C.V. - Coeficiente de Variação.

QUADRO 2. Dimensões e massa de sementes de *Campomanesia adamantium* provenientes de frutos com diferentes tamanhos.

Variáveis	Mínimo	Média	Máxima	D.P. ⁽¹⁾	C.V. (%) ⁽²⁾
Pequeno (P)					
Comprimento (mm)	4,10	4,76	6,08	0,422	8,85
Largura (mm)	3,14	3,78	4,93	0,429	11,32
Espessura (mm)	1,59	2,03	2,78	0,292	14,39
Massa (g)	0,0162	0,0256	0,041	0,006	23,73
Médio pequeno (MP)					
Comprimento (mm)	4,61	5,19	6,05	0,399	7,68
Largura (mm)	3,20	4,01	5,88	0,579	14,46
Espessura (mm)	1,62	2,15	2,60	0,304	14,16
Massa (g)	0,0214	0,0325	0,0441	0,007	21,01
Médio grande (MG)					
Comprimento (mm)	5,52	6,12	6,83	0,400	6,53
Largura (mm)	3,9	4,53	5,48	0,450	9,94
Espessura (mm)	1,73	2,24	2,86	0,316	14,09
Massa (g)	0,0277	0,0467	0,0667	0,010	14,46
Grande (G)					
Comprimento (mm)	5,87	6,64	7,74	0,551	8,30
Largura (mm)	4,11	4,81	5,54	0,386	8,02
Espessura (mm)	1,77	2,17	2,43	0,161	7,42
Massa (g)	0,034	0,0504	0,0642	0,007	13,07

⁽¹⁾ D.P.- Desvio Padrão e ⁽²⁾ C.V. - Coeficiente de Variação.

No Quadro 2 são apresentados os diâmetros e massas de sementes de *C. adamantium* em função das classes dos frutos. Para os comprimentos das sementes, observa-se que os valores médios para os frutos P, MP, MG e G foram de 4,76; 5,19;

6,12 e 6,64 mm, respectivamente. Com relação à largura, os frutos P, MP, MG e G apresentaram valores médios de 3,78; 4,01; 4,53 e 4,81 mm, respectivamente. Para a espessura das sementes, observou-se uma variação dos resultados médios entre os tamanhos dos frutos P, MP, MG e G (2,03; 2,15; 2,24 e 2,17 mm, respectivamente). Para a massa das sementes, os frutos P, MP, MG e G apresentaram os valores médios de 0,0256; 0,0325; 0,0467 e 0,0504 g, respectivamente.

De acordo com os resultados do Quadro 2, o tamanho dos frutos influenciou os resultados de comprimentos, largura, massa, número de sementes íntegra e total, aumentando significativamente de acordo com o diâmetro dos frutos. Esses resultados sugerem que o ambiente de ocorrência de *C. adamantium* proporciona variações no número de sementes em função dos frutos coletados em diferentes populações. Contudo, as classes de tamanho de frutos não influenciaram os resultados de espessura e número de sementes vazias. Resultados semelhantes foram observados por Ferreira e Torres (2000) que não verificaram influência do tamanho dos frutos na espessura das sementes de *Acacia senegal* (L.) Willd (acácia-do-senegal).

O número de sementes por fruto variou em função do tamanho dos frutos P, MP, MG e G, apresentando resultados médios para sementes íntegras de 2,15; 3,05; 3,30 e 4,3 sementes por fruto, respectivamente (Quadro 3).

QUADRO 3. Número de sementes por fruto de *Campomanesia adamantium*.

Variáveis	Mínimo	Média	Máxima	D.P. ⁽¹⁾	C.V. (%) ⁽²⁾
Pequeno (P)					
Semente íntegra	1	2,15	5	1,387	64,51
Semente vazia	1	2,55	4	0,945	37,04
Total	3	4,70	6	1,129	24,01
Médio pequeno (MP)					
Semente íntegra	1	3,05	6	1,504	49,30
Semente vazia	0	2,15	5	1,226	57,01
Total	3	5,20	7	1,240	23,84
Médio grande (MG)					
Semente íntegra	2	3,30	6	1,302	39,45
Semente vazia	0	2,25	5	1,552	68,97
Total	4	5,55	7	0,759	13,68
Grande (G)					
Semente íntegra	1	4,30	7	1,750	40,7
Semente vazia	0	2,45	6	1,877	76,62
Total	5	6,75	8	0,967	14,42

⁽¹⁾D.P.- Desvio Padrão e ⁽²⁾C.V. - Coeficiente de Variação.

Com relação ao número de sementes vazia, observa-se que os valores médios para os frutos P, MP, MG e G, foram de 2,55; 2,15; 2,25 e 2,25 sementes por fruto, respectivamente (Quadro 3). Os valores médios do número total de sementes nos frutos P, MP, MG e G, foram 4,7; 5,2; 5,55 e 6,75 sementes por fruto, respectivamente.

Germinação e vigor de sementes

As curvas de absorção de água das sementes de *C. adamantium* provenientes de frutos P, MP, MG e G não apresentaram o padrão trifásico do processo germinativo (Figura 2). Houve aumento elevado na absorção de água durante a primeira hora de embebição, que permaneceu de modo lento e constante nas horas seguintes até a emissão da raiz primária, impedindo a determinação pontual das fases de germinação das sementes. Assim, o comportamento de embebição observado não pode ser caracterizado como o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994), que é caracterizado por uma fase inicial de absorção rápida de água, seguida por uma fase estacionária, finalizando com um novo aumento que coincide com a protrusão da raiz primária.

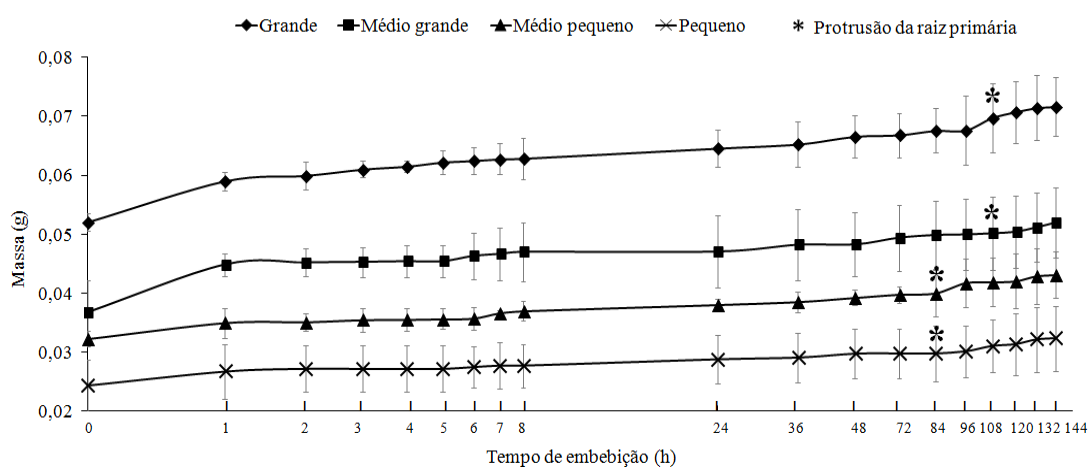


FIGURA 2. Curva de embebição de água das sementes de *Campomanesia adamantium* provenientes de frutos com diferentes tamanhos. Dourados/MS, UFGD, 2013

Para as sementes provenientes de frutos P e MP observa-se a protrusão da raiz primária a partir de 84 horas (3° dia) e para os frutos MG e G a partir de 108 horas (4° dia) do início da embebição (Figura 2). As sementes provenientes de frutos P e MP, por apresentarem as menores dimensões e massas de sementes apresentaram uma rápida protrusão da raiz primária, em relação aos demais tamanhos de frutos. Esses resultados podem ser explicados por Harper et al. (1970), ao relatarem que

sementes pequenas têm maior facilidade em obter água para germinação do que sementes grandes, devido à maior razão superfície/volume.

No Quadro 4 encontram-se os resultados das avaliações da germinação e vigor das sementes em função das classes dos frutos. O teor de água das sementes foi maior em sementes provenientes dos frutos MG e G (33,5 e 33,9%, respectivamente) e menor em frutos P (28,5%). Resultados semelhantes foram observados por Melchior et al. (2006), os quais relataram que sementes provenientes de frutos com diâmetro médio de 2,21 cm, apresentaram 30% de teor de água. Entretanto, Oliveira et al. (2011) encontraram os teores de água de $54,98 \pm 4,20\%$ para as sementes de *C. adamantium* e Dresch et al. (2012) verificaram 57% de teor de água em sementes recém-processadas de *C. adamantium*. As diferenças encontradas podem estar associadas à pré-secagem superficial de 30 minutos realizada anteriormente aos testes e que, possivelmente, ocasionou a redução do teor de água das sementes.

As porcentagens de germinação e velocidade foram maiores em sementes provenientes dos frutos P (87% e 2,889), MP (86% e 2,267) e MG (79% e 2,132) que não diferiram significativamente entre si e os menores resultados foram observados para sementes de frutos G (72% e 1,712) (Quadro 4). As sementes provenientes de frutos P apresentaram os maiores resultados de germinação e velocidade de germinação, sendo verificada alta correlação da germinação com as dimensões das sementes provenientes de frutos P (Quadro 5).

Estes resultados se assemelham aos observados pra sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (sábvia) de menor tamanho que apresentaram os maiores resultados de velocidade de germinação (ALVES et al., 2005). De acordo com Krzyzanowski et al. (1999), as sementes menores, por necessitarem de menor quantidade de água, são as primeiras a germinar. Entretanto, Klein et al. (2007) observaram que as sementes de tamanho médio e grande foram as que apresentam maiores médias de emergência de plântulas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga). Por outro lado, Paz et al. (1999) não encontraram efeito significativo entre o tamanho da semente e a porcentagem e velocidade de emergência de plântulas de sete espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae). Dessa forma, a influência da massa de sementes na germinação e no vigor de plântulas varia entre espécies e regiões distintas de ocorrência (PEREIRA et al., 2011).

QUADRO 4. Teor de água (TA) (%), germinação (G) (%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) (cm), comprimento da raiz (CR) (cm), comprimento total (CT) (cm), massa fresca total (MFT) (g) e massa seca total (MST) (g) de *Campomanesia adamantium* em função das classes de frutos (P - pequeno, MP - médio pequeno, MG - médio grande e G - grande).

Classe	TA	G	IVG	CPA	CR	CT	MFT	MST
P	29,4 b ⁽¹⁾	87,0 a	2,889 a	4,02 a	5,27 a	9,31 a	0,0815 b	0,1550 c
MP	28,5 c	86,0 a	2,267 ab	4,81 a	4,51ab	9,29 a	0,9863 a	0,1860 bc
MG	33,5 a	79,0 ab	2,132 ab	4,35 a	4,85 a	9,19 a	0,1076 a	0,0235 ab
G	33,7 a	72,0 b	1,712 b	4,01 a	3,68 b	7,70 a	0,1115 a	0,0261 a

⁽¹⁾ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

Os comprimentos da parte aérea e total das plântulas não variaram significativamente entre o tamanho do fruto, sugerindo que o crescimento da plântula, especialmente da parte aérea não é uma variável que sofre influência do tamanho do fruto. Para o comprimento das raízes os maiores resultados foram observados em sementes provenientes dos frutos P, MP e MG (5,27, 4,51 e 4,85 cm, respectivamente), que não variaram significativamente entre si, evidenciando as sementes de fruto G com o menor comprimento de raiz.

Entretanto, para a massa fresca total das plântulas, as sementes provenientes dos frutos G, MG e MP apresentaram os maiores resultados e elevada correlação com a espessura, largura, (G), comprimento (MG e G) e massa das sementes (G) (Quadro 4 e 5). Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Oliveira et al. (2011), ao observarem que os frutos de maior volume, com maior acúmulo de massa fresca e maior amplitude biométrica de *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg (gabirola) e *C. adamantium* apresentam potencial para seleção de materiais promissores para fins de melhoramento.

Com relação à massa seca total, as sementes provenientes de frutos G e MG (0,0261 e 0,0235 g) apresentaram os maiores resultados em relação às demais classes de tamanhos. Ressalta-se que houve uma relação direta entre as sementes provenientes de frutos da classe G, conseqüentemente com as sementes de maiores massa e que apresentaram os maiores acúmulos de biomassa, evidenciando a maior capacidade de transferência de reservas para a plântula. Observou-se, ao mesmo tempo, a correlação positiva entre as dimensões, massa das sementes e a massa seca total das plântulas provenientes de frutos G, indicando que essa característica pode ser eficiente para detectar diferenças de vigor entre as classes de tamanho de frutos

(Quadro 5). De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012) em uma mesma espécie, a semente de maior peso, por serem mais bem nutridas durante o seu desenvolvimento, possuem embriões bem formados e com maior quantidade de reservas, sendo, por conseguinte, mais vigorosas, originando plântulas mais desenvolvidas. Para a *C. adamantium*, a extração de sementes a partir da classe de frutos P, MP e MG proporciona sementes com maior porcentagem e velocidade de germinação, além de maior comprimento de raiz. Entretanto, sementes oriundas de frutos grandes pode representar a obtenção de plântulas com elevado acúmulo de biomassa, que possivelmente originarão mudas mais vigorosas e com maior capacidade de sobrevivência em condições inóspitas.

QUADRO 5. Coeficiente de correlação simples (r) entre os resultados de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), comprimento total (CT), massa fresca total (MFT) e massa seca total (MST) e das dimensões e massa das sementes em função dos tamanhos dos frutos de *Campomanesia adamantium*.

Variáveis	G	IVG	CPA	CR	CT	MFT	MST
Comprimento (mm)							
Pequeno	0,53	-0,31	-0,43	-0,45	-0,45	-0,39	-0,09
Médio Pequeno	-0,79	0,47	0,04	-0,21	-0,18	-0,18	-0,55
Médio Grande	0,13	-0,78	0,03	0,15	0,11	0,84	0,61
Grande	-0,93	-0,93	0,93	-0,93	-0,93	0,93	0,93
Largura (mm)							
Pequeno	0,74	0,45	0,84	0,87	0,88	0,82	0,96
Médio Pequeno	0,61	-0,66	0,11	0,48	0,45	0,13	0,41
Médio Grande	0,14	-0,03	-0,82	-0,41	-0,60	-0,70	-0,23
Grande	-0,91	-0,91	0,91	-0,91	-0,91	0,91	0,91
Espessura (mm)							
Pequeno	0,60	0,39	0,85	0,94	0,93	0,81	0,99
Médio Pequeno	0,32	-0,27	-0,90	-0,23	-0,41	0,92	0,99
Médio Grande	0,64	-0,15	0,57	0,78	0,74	0,96	-0,05
Grande	-0,87	-0,87	0,87	-0,87	-0,87	0,87	0,87
Massa (g)							
Pequeno	-0,71	0,16	0,19	0,22	0,21	0,16	-0,15
Médio Pequeno	0,13	-0,50	0,81	0,75	0,85	-0,56	-0,45
Médio Grande	-0,46	0,70	0,30	-0,15	0,01	-0,59	-0,32
Grande	-0,93	-0,93	0,93	-0,93	-0,93	0,93	0,93

O coeficiente de correlação para o comprimento das sementes foi positivo entre sementes provenientes dos frutos P com a germinação (0,53); os frutos MP para o IVG (0,47), os frutos MG e G respectivamente para a massa fresca total (0,84 e 0,93) e massa seca total de plântulas (0,61 e 0,93) (Quadro 5).

Com relação à largura, as sementes provenientes dos frutos P apresentaram correlação positiva para todos os parâmetros de germinação e vigor (Quadro 5). Para os frutos MP, as correlações foram positivas para a germinação (0,61), comprimento de raiz (0,48), comprimento total de plântulas (0,45) e massa seca total (0,41). A espessura de sementes correlacionou-se positivamente para todas as características de vigor de sementes provenientes de frutos P. Os frutos MP apresentaram correlação positiva entre a espessura e a germinação (0,32), a massa fresca total (0,92) e massa seca total de plântulas (0,99), indicando a influência do tamanho dos frutos e a espessura da semente sobre essas características. As sementes provenientes de frutos MG apresentaram correlação positiva entre a espessura e as características de vigor, exceto para o IVG (-0,15) e a massa seca total (-0,05) que apresentaram correlação negativa. Com relação à massa, as sementes provenientes de frutos P correlacionaram positivamente com todas as características, exceto para a germinação (-0,71) e a massa seca total (-0,15). Verificou-se correlação positiva elevada entre a massa de sementes provenientes de frutos MP para o comprimento de plântulas (parte aérea 0,81, raiz 0,75 e total 0,85), sendo que para os frutos MG observou-se para o IVG (0,70) maior que o observado para MP e o comprimento da parte aérea (0,30) menor que o observado em MP.

As sementes provenientes de frutos G apresentaram correlação positiva entre as dimensões e massas de sementes para o comprimento da parte aérea, massa fresca e seca total de plântulas, demonstrando que o acúmulo de biomassa pelas plântulas é proporcional às dimensões da semente (Quadro 5). Segundo Surlles et al. (1993), sementes maiores produzem plântulas mais vigorosas, presumivelmente porque possuem mais material de reserva, maior nível de hormônio e maior embrião.

4 CONCLUSÕES

Os frutos de *Campomanesia adamantium* apresentam diferentes tamanhos que têm relação direta com as dimensões e massas de sementes, além de influenciarem a germinação e o vigor de sementes.

Frutos classificados como pequeno, médio pequeno e médio grande apresentam sementes com maior porcentagem e velocidade de germinação. Sementes oriundas de frutos grandes produzem plântulas com maior acúmulo de biomassa.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; OLIVEIRA, A. P.; ALVES, A. U.; PAULA, R. C. Influência do tamanho e da procedência de sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. sobre a germinação e vigor. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 877-885, 2005.

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

BEZERRA, A. M. E.; MOMENTÉ, V. G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 295-299, 2004.

BORTOLOTTO, R. P.; MENEZES, N. L.; GARCIA, D. C.; MATTIONI, N. M. Comportamento de hidratação e qualidade fisiológica das sementes de arroz. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 4, p. 991-996, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Regras para análises de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 399 pp. 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

COSTA, R. S.; OLIVEIRA, I. V. M.; MÔRO, F. V.; MARTINS, A. B. G. Aspectos morfológicos e influencia de tamanho da semente na germinação de jambeiro vermelho. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 117-120, 2006.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e germinação de sementes de *Couratari stellata* A. C. Smith (Lecythidaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 33, n. 3, p. 381-388, 2003.

DONADIO, N. M. M.; DEMATTÊ, M. E. S. P. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng) Taub.) e jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth.) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 64-73, 2000.

DRESCH, D. M.; SCALON, S. P. Q.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M.C. Germinação de sementes de *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg em diferentes temperaturas e umidades do subtrato. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 40, v. 94, 223-229, 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Campinas, v. 6, p. 36-41, 2008.

FERREIRA, M. G. R.; TORRES, S. B. Influência do tamanho das sementes na germinação e no vigor de plântulas de *Acacia senegal* (L.) de Willd. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 271-275, 2000.

HAIG, D.; WESTOBY, M. Seed size, pollination casts and angiosperm success. **Evolutionary Ecology**, Tucson, v. 5, n. 2, p. 231-247, 1991.

HARPER, J. L.; LOVEL, P. H.; MOORE, K. G. The shapes and sizes of seeds. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, n. 1, p. 327-356, 1970.

KLEIN, J.; ZUCARELI, V.; KESTRING, D.; CAMILLI, L.; RODRIGUES, J. D. Efeito do tamanho da semente na emergência e desenvolvimento inicial de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 861-863, 2007.

KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

LORENZI, H.; CACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo, Instituto Plantarum. 2006. 640 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* Camb. - Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 3, p.141-150, 2006.

NOGUEIRA, F. C. B.; MEDEIROS FILHO, S.; GALLAO, M. I. Caracterização da germinação e morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Dalbergia cearensis* Ducke (pau-violeta) - Fabaceae. **Acta Botânica Brasílica**, Feira de Santana, v. 24, n. 4, p. 978-985, 2010.

OLIVEIRA, M. C.; SANTANA, D. G.; SANTOS, C. M. Biometria de frutos e sementes e emergência de plântulas de duas espécies frutíferas do gênero *Campomanesia*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 2, p. 446-455, 2011.

PAOLI, A. A. S.; BIANCONI, A. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pseudima frutescens* (Aubl.) Radlk.(Sapindaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, n. 30, n. 2, p. 146-155, 2008.

PAZ, H.; MAZER, S. J.; MARTINEZ-RAMOS, M. Seed mass, seedling emergence, and environmental factors in seven rain forest *Psychotria* (Rubiaceae). **Ecology**, v. 80, n. 5, p. 1594-1606, 1999.

PEREIRA, S. R.; GIRALDELLI, G. R.; LAURA, V. A; SOUZA, A. L. T. de. Tamanho de frutos e de sementes e sua influência na germinação de jatobá-do-

cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* var. *stigonocarpa* Mart. ex Hayne, Leguminosae – Caesalpinoideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 1 p. 141-148, 2011.

RAMOS, M. B. P.; FERRAZ, I. D. K. Estudos morfológicos de frutos, sementes e plântulas de *Enterolobium schomburgkii* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n. 31, p. 227-235, 2008.

SURLES, S. E.; WHITE, T. L.; HODGE, G. P. Relationships among seed weight components, seedling growth traits, and predicted field breeding values in slash pine. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v. 23, n. 8, p. 1550-1556, 1993.

TORRES, S. B. Influência do tamanho das sementes de *Acacia gomifera* no desenvolvimento das mudas. **Agropecuária Catarinense**, v. 7, n. 2, p. 5, 1994.

VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E. de; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 805-810, 2006.

CAPÍTULO II

**SECAGEM DE SEMENTES DE *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O.
BERG: INFLUÊNCIA NO VIGOR E ÁCIDOS NUCLÉICOS**

RESUMO - (Secagem de sementes de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg: influência no vigor e ácidos nucleicos). Objetivou-se com este trabalho avaliar a sensibilidade à dessecação em sementes de *C. adamantium*, por meio de secagem em sílica gel ativada (rápida) e em condições de laboratório (lenta). Os frutos utilizados foram coletados em matrizes localizadas na cidade de Ponta-Porã-MS. Para o estudo da sensibilidade à dessecação, realizou-se a redução do nível de hidratação das sementes visando a obtenção de teores de água de 45, 35, 30, 25, 20, 15, 10 e 5%, por meio de secagem com sílica gel (rápida) e secagem em condições de laboratório (lenta) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 35 UR%). Para avaliação do potencial fisiológico das sementes foram realizados os testes de protrusão da raiz primária, porcentagem de plântulas normais, índice de velocidade de germinação, comprimento de plântulas, massa seca total de plântulas e condutividade elétrica massal. A integridade do DNA e RNA das sementes foi avaliada por eletroforese. O delineamento foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 secagens x 8 teores de água). As sementes de *C. adamantium* são sensíveis à dessecação e a redução do teor de água a partir de 21,1% na secagem em sílica gel (rápida) e 17,2% para secagem em ambiente (lenta) prejudica o potencial fisiológico das sementes. A integridade do DNA não foi afetada após a secagem das sementes nos dois métodos. Porém, a secagem em sílica gel (rápida) no teor de água de 4,5% e no ambiente (lenta) com o teor de água de 5,4% provocou a perda da integridade do RNA das sementes.

Palavras-chave: Cerrado, guavira, secagem, viabilidade.

ABSTRACT – (Drying of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg seeds: influence on vigor and nucleic acid integrity). The present work sought to evaluate the desiccation sensibility of *C. adamantium* seeds to drying over activated silica gel (fast drying) and under room-temperature conditions (slow drying). The fruits used were collected from matrices located in the city of Ponta Porã-MS, Brazil. The evaluations of seed sensibility to desiccation were carried out by reducing their water content levels to 45, 35, 30, 25, 20, 15, 10 and 5% by drying over activated silica gel (fast) and under normal laboratory conditions (slow) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ and 35 RH%). The physiological tests of seed germination potential were based on primary radicle protrusion, percentages of normal seedlings, the germination speed index, seedling length, total seedling dry mass, and seed electrical conductivity. The integrity of seed DNA and RNA was evaluated by electrophoresis. The experimental design was a completely randomized factorial scheme (2 drying regimes x 8 water contents). *C. adamantium* seeds were found to be sensitive to desiccation, and water content reductions of 21.1% for fast drying and 17.2% for slow drying were found to be detrimental to their physiological potentials. Seed DNA integrity was not affected by drying by either of the two methods used, although activated silica gel (fast) drying to 4.5% water content and room-temperature (slow) drying to 5.4% water content caused losses of RNA integrity

Palavras-chave: Savannah, guavira, drying, viability.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado ocupa aproximadamente 25% do território nacional, apresentando grande diversificação na fauna e na flora; porém, ele tem sido agredido e depredado, colocando em risco de extinção várias espécies de plantas (ÁVIDOS e FERREIRA, 2003; SOARES et al., 2009). No Mato Grosso do Sul, o Cerrado abriga

vários grupos de espécies, dentre as quais, representantes das Myrtaceae que podem ser utilizados de forma ornamental ou na produção comercial na fruticultura regional, devido à qualidade dos frutos (DONADIO e MORO, 2004; SCALON et al., 2012).

Dentre as plantas frutíferas, a *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, popularmente conhecida como guabiroba e guavira, que possui hábito arbustivo com aproximadamente de 0,5 a 1,5 m de altura. Floresce nos meses de setembro a novembro e os frutos amadurecem de novembro a dezembro, apresentando formato redondo, de coloração que varia do verde-escuro ao verde-claro e amarelo, com aroma adocicado e bastante agradável. O fruto pode ser consumido *in natura* ou na forma de sucos, doces, geléias e ainda serve como matéria-prima para licores, picolés, sorvetes e aguardente. A propagação dessa espécie é realizada por sementes (VALLILO et al., 2004; VALLILO et al., 2006; LORENZI, 2008).

O desenvolvimento das sementes da maioria das espécies termina com uma fase pré- programada de secagem daquelas tolerantes à perda de água, com redução considerável do teor de água (entre 90 a 95% da água original) e do metabolismo da semente e do embrião, passando a um estado quiescente (BLACK e PRITCHARD, 2002). Porém, as sementes recalcitrantes permanecem sensíveis à desidratação, desde o desenvolvimento até a liberação da planta- mãe (BERJAK e PAMMENTER, 2008). Dessa forma, o desenvolvimento das sementes progride, culminando na germinação, ou seja, na emissão da raiz primária, sem a necessidade de suprimento exógeno de água (BERJAK et al., 1989).

As espécies que produzem sementes intolerantes à dessecação em condições desejáveis para conservação em armazenamento requerem o desenvolvimento de tecnologias específicas para sua conservação, sendo que a principal técnica utilizada é, ainda, a redução do seu metabolismo, seja através da remoção da água ou da diminuição da temperatura (KOHAMA et al., 2006). Um dos fatores que influencia na sensibilidade à dessecação é a taxa de secagem (WESLEY-SMITH et al., 2001; KERMODE e FINCH-SAVAGE, 2002; MARCOS FILHO, 2005; BERJAK e PAMMENTER, 2008), que depende de características inerentes da semente como a natureza dos revestimentos, do tamanho e o estado de desenvolvimento (BERJAK e PAMMENTER, 2008).

Os processos e os mecanismos de proteção a danos decorridos da secagem vêm sendo identificados sob diversos aspectos, e juntos promovem a

tolerância à dessecação das sementes, embora o modo como operam e sua interação ainda não estejam muito bem compreendidos (BERJAK et al., 2007). A estabilidade do DNA durante a desidratação e sua capacidade de reparo durante a reidratação são componentes essenciais de um mecanismo de tolerância completo (BOUBRIAK et al., 1997).

O DNA e o RNA são responsáveis pela atividade gênica que controlam os processos celulares vitais. Recentemente, a integridade dos ácidos nucleicos tem sido alvo dos estudos relacionados à dinâmica da perda da viabilidade de sementes (FARIA et al., 2005; KRANNER et al., 2006; MASETTO et al., 2008; KRANNER et al., 2011). A perda da integridade do DNA em sementes sensíveis à dessecação foi caracterizada pela morte programada de células, que é um processo complexo de regulação celular para eliminar células redundantes (VIANNELO et al., 2007) em sementes de *Medicago truncatula* Gaertn. (alfafa) (BUITINK et al., 2003; FARIA et al., 2005) e *Pisum sativum* L. (ervilha) (KRANNER et al., 2011), e na morte passiva de células que é um processo não fisiológico dissociado dos eventos morfogenéticos e sem mudanças do DNA (XU et al., 2004), como observado em *Eugenia pleurantha* O. Berg (pitanga-do-mato) (MASETTO et al., 2008).

Como tentativa de elucidar o comportamento das sementes de *C. adamantium* quanto à secagem visando à sua conservação em longo prazo, objetivou-se estudar a sensibilidade à dessecação de sementes de *C. adamantium*, por meio de secagem lenta sob temperatura ambiente e rápida sobre sílica gel.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Campomanesia adamantium* foram coletados no final do mês de dezembro/2011, a partir de 30 matrizes localizadas em área de Cerrado (*stricto sensu*), na cidade de Ponta Porã-MS. Após a coleta, os frutos foram levados ao Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados-MS, onde foram lavados em água corrente, descartando-se os frutos danificados. Posteriormente, os frutos foram processados manualmente e sobre peneiras para a separação das sementes. Em seguida, as sementes foram lavadas e colocadas sobre papel Germitest[®] por 40 minutos em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 35% UR). Posteriormente, as sementes foram submetidas à secagem rápida em sílica gel ativada (8% UR) e à secagem lenta em condições de ambiente de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 35 UR%).

A secagem em sílica-gel foi conduzida pela disposição das sementes no interior de caixas tipo “gerbox” com sílica gel ao fundo, sendo feita a troca da sílica-gel assim que a camada superficial tornava rosa e perdia a coloração azul indicativa. Para a secagem lenta, as sementes foram acondicionadas dentro de recipientes plásticos sem tampa, ambas em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 35 UR%). Posteriormente a cada hora, as sementes foram pesadas até que atingissem os pontos pré-estabelecidos, conforme a fórmula de Sacandé et. al. (2004). Após a obtenção dos graus de umidade desejados nas duas condições de secagem, as sementes foram pré-umidificadas em câmara úmida (100% UR e a 25°C sob luz branca constante) por 24 h, para que fossem evitados danos por embebição, e posteriormente, foram determinadas as seguintes características para avaliação do potencial fisiológico:

Teor de água: foi determinado a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h, pelo método da estufa (BRASIL, 2009), com três repetições de 5 g de sementes cada e os resultados foram expressos em base úmida.

Protrusão da raiz primária: foi realizada em rolos de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25°C , sob luz branca constante. As avaliações ocorreram diariamente, considerando-se a protrusão da raiz como mínimo de 5 mm de comprimento. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Porcentagem de plântulas normais: foi realizada em rolos de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25°C , sob luz branca constante. As avaliações foram realizadas aos quarenta e dois dias após a semeadura, computando-se as plântulas normais, utilizando-se como critério a emissão de parte aérea e sistema radicular desenvolvido (DRESCH et al., 2012). Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire (1962): $IVG = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + (G_3/N_3) + \dots + (G_n/N_n)$, em que: IVG = índice de velocidade de germinação, $G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$ = número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem; $N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$ = número de dias da semeadura à primeira, segunda, terceira e última contagem.

Comprimento de plântulas: obtido por meio das medidas do comprimento da raiz primária, parte aérea e total das plântulas, com auxílio de régua graduada em milímetros. Os resultados foram expressos em centímetros (cm).

Massa seca total: obtida a partir das plântulas secas em estufa regulada a 60°C por 48 horas, até obter-se a massa seca constante, medida em balança analítica de precisão (0,0001g). Os resultados foram expressos em gramas (g).

Condutividade elétrica: foi realizada pelo método de massa, com quatro repetições de 25 sementes, pesadas, colocadas para embeber em 75 mL de água deionizada em copos plásticos de 200 mL, mantidos a 25°C por 2 horas (OKUHISA et al., 2009). A leitura foi realizada com o auxílio de um condutivímetro de bancada, agitando-se cuidadosamente cada recipiente com o intuito de uniformizar os eletrólitos lixiviados na solução e os resultados foram expressos em $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$.

Extração de DNA, RNA e eletroforese: Inicialmente, as amostras foram armazenadas no freezer (-18°C, 42% UR) até a realização da extração. As amostras foram maceradas separadamente em nitrogênio líquido, até obtenção de um pó bem fino, que foi transferido para um tubo de ependorff 1,5 mL. Foram acrescentados 600 μL de tampão de extração 1X (2,5 mL do tampão 2X (0,6M NaCl; 0,1M TRIS-HCl pH 8,0; 0,04M EDTA pH 8,0; 4% de Sarcosyl (p/v) e 1% SDS); 2 mL de ureia 12M; 0,25 mL de fenol; 0,25 mL de água destilada). Posteriormente, os microtubos foram colocados no vortex para homogeneizar a amostra e em seguida adicionados 600 μL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1). Os microtubos foram centrifugados a 14.000 rpm, durante 15 minutos, à temperatura a 20°C. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e foram acrescentados 80% do volume de isopropanol. Em seguida, os microtubos foram invertidos durante 3 minutos, para a formação do pélete e posteriormente, os tubos foram deixados em temperatura ambiente por 10 minutos. Os microtubos foram centrifugados a 3500 rpm, durante 10 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, o sobrenadante foi descartado, adicionaram-se 500 μL de etanol 70% e foram novamente centrifugados a 2000 rpm, durante 5 minutos, à temperatura ambiente. Os tubos foram então invertidos em papel limpo para secar o pélete, que posteriormente foi dissolvido em 200 μL de TE (10mM TRIS HCl e 1 MM EDTA) pH 8,0.

Para a eletroforese foi utilizado o marcador Ladder (Ld) de 100pb. e 3 μL de DNA de cada amostra em um gel de agarose 1% com coloração de brometo de

etídio (EtBr) sendo visualizado sob radiação ultravioleta e fotografado no equipamento Sony

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 secagens x 9 teores de água). Os dados foram submetidos à análise de variância e foram realizadas análise de regressão à 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2008). A análise dos resultados obtidos pela eletroforese de DNA e RNA foram qualitativas, buscando-se avaliar visualmente a integridade e qualidade das bandas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A secagem lenta (ambiente) das sementes de *C. adamantium* levou mais de 19 horas para atingir o teor de água de 7,5%, ligeiramente acima do programado (5%). Entretanto, verificou-se que a secagem rápida (sílica gel) ocorreu em menor tempo, sendo necessárias apenas 17 horas para atingir o teor de água de 7,9%, também acima do preestabelecido (5%) (Quadro 1 e Figura 1).

QUADRO 1. Teores de água (% , base úmida) desejado e obtido após a secagem de sementes de *Campomanesia adamantium*.

Secagem	Teor de água desejado e obtido (%)							
	45	35	30	25	20	15	10	5
Rápida	45,3	36,7	31,6	25,9	21,1	17,3	11,7	7,9
Lenta	45,3	36,9	32,3	26,5	21,7	17,2	12,2	7,5

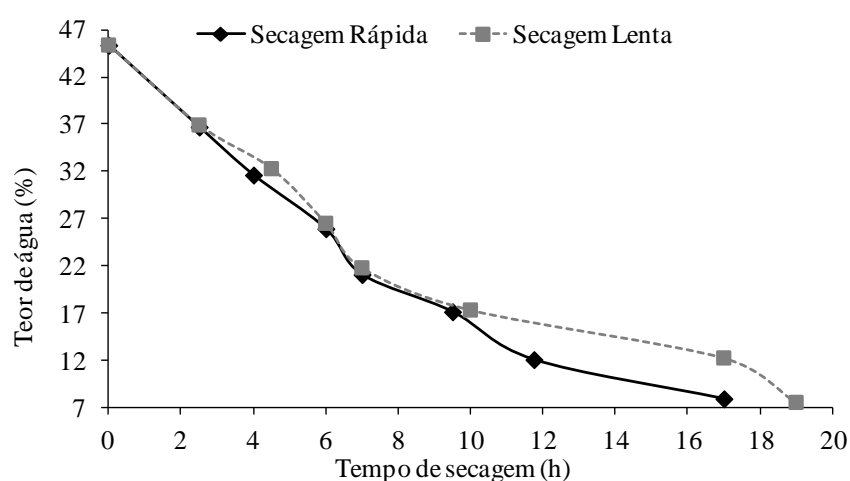


FIGURA 1. Curva de secagem em sílica (rápida) e em ambiente (lenta) de sementes de *Campomanesia adamantium*. Dourados/MS, UFGD, 2013.

Para a protrusão da raiz primária o valor máximo de 72,3% foi observado nas sementes com o teor de água de 46,5% (Figura 2a). Para a secagem lenta houve

redução linear da protrusão da raiz primária à medida que os teores de água diminuíram, evidenciando a redução do percentual de retomada do crescimento do embrião de 74% (teor de água de 45,3%) para 47% (teor de água de 7,9%). Esses resultados podem ter ocorrido devido às células sensíveis à dessecação, quando secas apresentarem distúrbios metabólicos provenientes do aumento da concentração de solutos (sais, aminoácidos, açúcares), alterando a força iônica e o pH da solução intracelular, levando à desnaturação irreversível de proteínas (NEDEVA e NIKOLOVA, 1997).

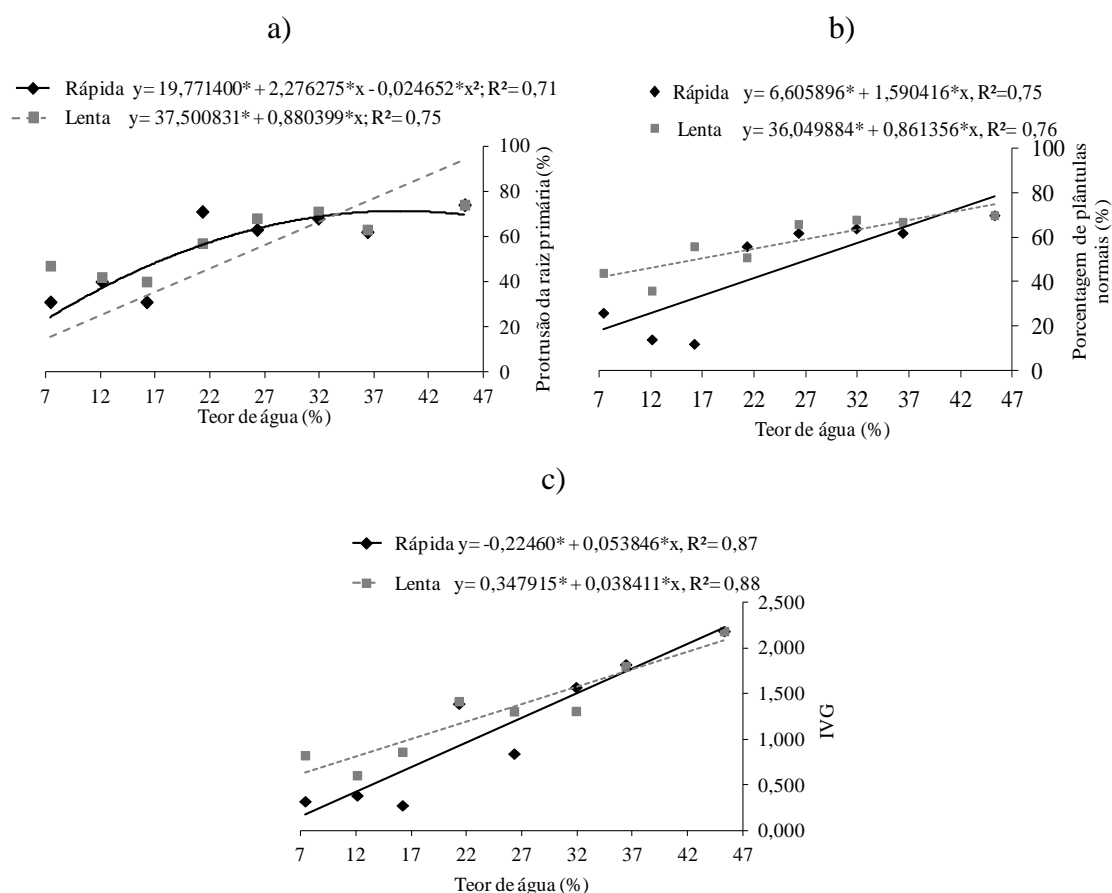


FIGURA 2. Protrusão da raiz primária (%) (a), porcentagem de plântulas normais (%) (b) e índice de velocidade de germinação (IVG) (c) de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013.

A porcentagem de plântulas normais foi influenciada pelo método de secagem das sementes, decrescendo linearmente com os teores de água, de modo que inicialmente apresentaram sobrevivência de 70%, atingindo 26 e 44%, com a secagem rápida e lenta, respectivamente (Figura 2b). Os métodos de secagem

utilizados evidenciaram níveis diferenciados de sensibilidade à dessecação das sementes aos teores de água atingidos, sendo observados valores de plântulas normais superiores a 50%, nos teores de água de 21,1% para a secagem rápida (56%) e de 17,2% na secagem lenta (56%) (Quadro 1 e Figura 2b). Ressalta-se que a secagem rápida foi mais drástica que a lenta, visto que os danos provocados pela remoção da água ao nível de 17,3% resultaram na redução da protrusão da raiz primária e de plântulas normais para valores inferiores a 50%, enquanto que para a secagem lenta esse valor foi inferior somente quando as sementes apresentavam teor de água de 12,2%.

Essas reduções nos teores de água ao nível de 17,2% e 12,2% para secagem rápida e lenta, respectivamente, podem ser considerados críticos para a espécie. Segundo Barbedo e Marcos Filho (1998), o teor de água crítico seria atingido após a perda de toda a água celular livre, e em diversos trabalhos e espécies pesquisadas foram obtidos valores de 15 a 38%, mostrando que essa característica é muito variável de espécie para espécie e mesmo de indivíduo para indivíduo.

Resultados semelhantes foram observados em sementes de *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg (gabirola), sendo que a redução do teor de água de 35 para 4% acarretou em redução no potencial germinativo e no vigor, sugerindo que as sementes são intolerantes à secagem e podem ser classificadas como recalcitrantes (DOUSSEAU et al., 2011). Melchior et al. (2006) observaram que o comportamento das sementes de *C. adamantium* indica que a espécie pode ser classificada como recalcitrante, por não suportarem armazenamento a baixa temperatura (8°C) e ser intolerante à dessecação. Carvalho et al. (1997) verificaram que a redução do teor de água para 16% promoveu o decréscimo da germinação das sementes de *Campomanesia lineatifolia* Ruiz e Pav. (guabiraba), indicando assim o comportamento recalcitrante das sementes.

O índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes decresceu linearmente com a dessecação nos dois métodos de secagem. As sementes provenientes da secagem rápida apresentaram os menores valores de IVG (0,3239), quando comparadas com a lenta (0,8291), evidenciando assim os danos causados pela secagem rápida na velocidade de germinação das sementes.

O comprimento da parte aérea foi influenciado negativamente pela dessecação (Figura 3a). Com a secagem rápida o valor mínimo foi de 3,03 cm, com o teor de água de 12,9%. Porém, com a secagem lenta, a dessecação crescente

intensificou os danos causados nas sementes, verificado pelo menor comprimento da parte aérea no teor de água de 7,5% (3,12 cm).

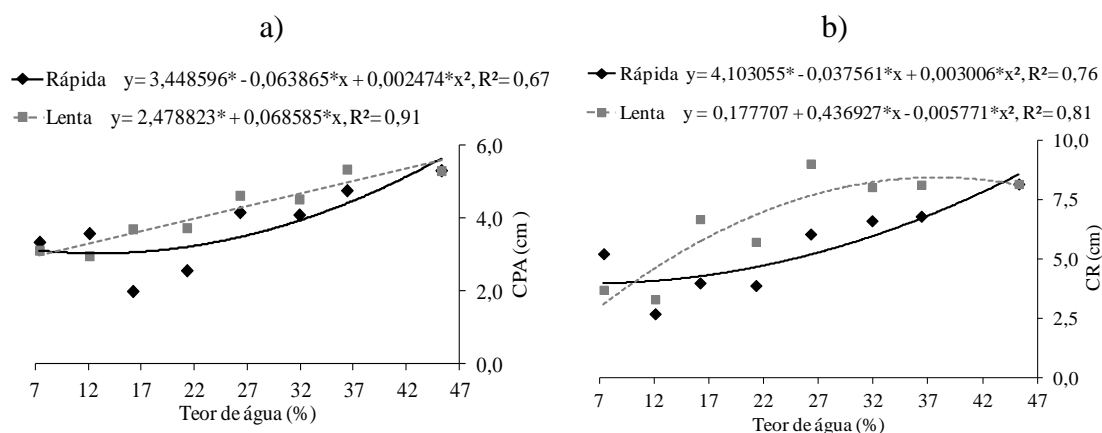


FIGURA 3. Comprimento da parte aérea (CPA) (cm) (a) e comprimento da raiz primária (CR) (cm) (b) de plântulas de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013.

O comprimento da raiz primária foi afetado pela desidratação das sementes, em ambos os métodos de secagem (Figura 3b). Para a secagem rápida foi observado o valor mínimo de 3,98 cm, no teor de água de 6,2% e na secagem lenta o valor máximo obtido foi no teor de água de 37,8% (8,47 cm). Esses resultados sugerem que a dessecação das sementes prejudicou o crescimento da raiz primária, e consequentemente pode afetar a fixação no solo e absorção de água e de íons orgânicos em condições de campo.

Scalon et al. (2012), avaliando a sensibilidade à dessecação de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (uvaia), também observaram que o comprimento de raiz primária foi influenciado negativamente pela dessecação das sementes. O mesmo comportamento foi relatado por Martins et al. (1999) em *Euterpe oleracea* (Mart.) (açáí), de modo que a redução do teor de água de 41 para 31,6% provocou decréscimo significativo no comprimento da radícula das plântulas. Para sementes de *Hancornia speciosa* Gomes (mangaba), Santos et al., (2010), verificaram que a redução no teor de água das sementes impossibilitou o desenvolvimento adequado das raízes primárias das plântulas resultantes, uma vez que, sementes com teor de água em torno de 56% originaram raízes com comprimento médio de 8,5 cm e quando reduziu para 12% o comprimento foi de aproximadamente 4 cm. De acordo

com Buitink (2003), a raiz primária é a primeira estrutura a manifestar a sensibilidade à dessecação.

A dessecação das sementes comprometeu o crescimento total das plântulas e o acúmulo de massa seca total. Para o comprimento total, as sementes submetidas à secagem rápida apresentaram valor mínimo de 7,08 cm plântula⁻¹, no teor de água de 9,25% e para a secagem lenta o valor máximo de crescimento foi observado no teor de água de 42,1% (13,65 cm) (Figura 4a).

Para a massa seca total, os maiores valores foram observados nos teores de água de 33,5% (0,0330 g) e 40,1% (0,0285 g), para a secagem rápida e lenta, respectivamente (Figura 4b). Entretanto, na secagem rápida observou-se redução drástica do acúmulo de massa seca das plântulas nos menores níveis de hidratação das sementes, ou seja, nos teores de água de 11,7% (0,0102 g) e 7,9% (0,0023 g). Possivelmente, a redução do teor de água das sementes afetou a capacidade de translocação de reservas das plântulas.

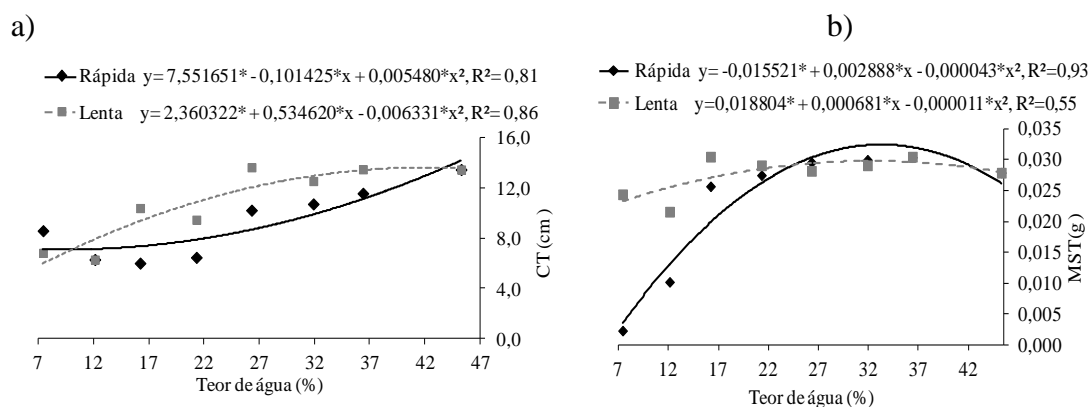


FIGURA 4. Comprimento total (CT) (cm) (a) e massa seca total (MST) (g) (b) de plântulas de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013.

Resultados semelhantes foram observados por Silva et al. (2012), avaliando a qualidade fisiológica das sementes de *Cinnamomum zeylanicum* Blume (canela) submetidas a diferentes níveis de secagem, verificaram que a desidratação crescente afetou negativamente o comprimento e a massa seca de plântulas no teor de água de 37,9%. As mesmas consequências fisiológicas da dessecação foram observadas por Nascimento et al. (2007), avaliando sementes de *Euterpe oleracea* Mart. (açai.), em que constataram que a partir do teor de água de 30,3%, houve reduções do comprimento e da massa seca de plântulas.

Os efeitos negativos da secagem das sementes foram evidenciados pelos resultados de condutividade elétrica massal, sendo que os valores mínimos foram observados nos teores de água de 37,7% ($6,22 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) e 35,8% ($5,92 \mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$), para a secagem rápida e lenta, respectivamente (Figura 5). Porém, os maiores valores de condutividade elétrica foram observados com a diminuição do nível de hidratação das sementes, nos teores de água de 11,7% ($12,92 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$) e 7,5% ($12,02 \mu\text{S cm}^{-1}\text{g}^{-1}$), para a secagem rápida e lenta, respectivamente. Esses resultados evidenciam que os métodos de secagem podem ter danificados a integridade do sistema de membranas celulares, devido ao aumento de exsudados lixiviados das sementes aliada a redução do potencial fisiológico. Segundo Vieira (1994), a redução na qualidade fisiológica das sementes é, em geral, acompanhada pelo aumento na liberação de eletrólitos e açúcares pelas sementes embebidas em água, relacionado à perda de permeabilidade seletiva das membranas celulares.

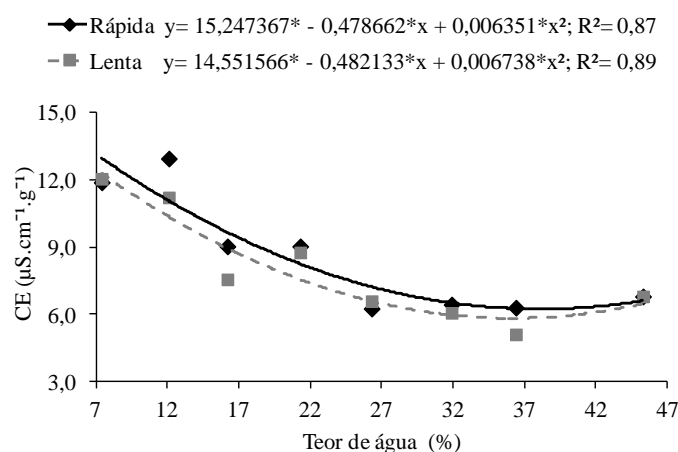


FIGURA 5. Condutividade elétrica massal de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. Dourados/MS, UFGD, 2013.

A dessecação causa vários danos na estrutura da célula, dentre eles a cristalização de solutos, desnaturação de proteínas e danos às membranas (BLACK e PRITCHARD, 2002). Assim, a integridade das membranas é de importância crucial para a manutenção da viabilidade, de modo que qualquer ruptura indevida, gerada durante a secagem, pode causar consequências imediatas às sementes durante a reidratação (KERMODE e FINCH-SAVAGE, 2002).

Em sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. (ipê-roxo), foram observados resultados semelhantes aos observados para *C. adamantium*, nas quais a condutividade elétrica para o material não dessecado esteve em torno de

80 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ e com a secagem (sala climatizada a 20°C e umidade relativa do ar 40% - secagem lenta e em estufa com circulação de ar regulada a 38°C - secagem rápida) os valores de condutividade aumentaram para 114,98 $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ (GEMAQUE et al., 2005). Além disso, os resultados de condutividade elétrica indicam que esse teste tem potencial para ser utilizado em avaliações rápidas da qualidade das sementes de *C. adamantium*, como demonstrado para sementes de espécies frutíferas nativas, entre elas o *Inga uruguensis* Hook. e Arn. (Ingá) (BARBEDO e CICERO, 1998) e a *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixameira) (KOHAMA et al., 2006).

O perfil eletroforético do DNA genômico extraído das sementes de *C. adamantium* pode ser observado na Figura 6, que sugere a manutenção da integridade do DNA, após a secagem das sementes nos dois métodos de secagem e pode ser relacionados aos resultados de porcentagem de plântulas normais, onde foi observado que, embora tenha havido diminuição do número de plântulas normais com a secagem gradativa das sementes, a redução do teor de água para 4,5% na secagem rápida e 5,4% na secagem lenta não provocaram a completa mortalidade das sementes, indicado pela presença de 20 e 28% de protrusão da raiz primária, respectivamente.

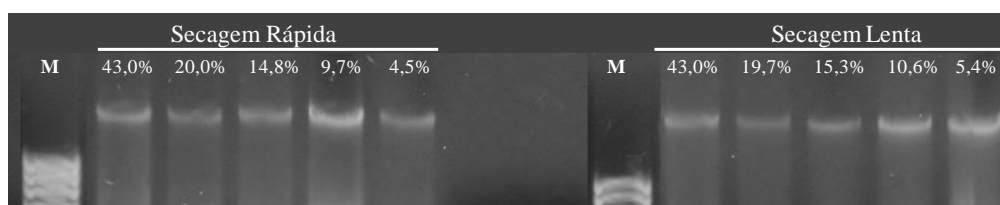


FIGURA 6. Gel de agarose 1% com DNA extraído de sementes de *Campomanesia adamantium* em função da secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. M: Marcador 100 pb (peso molecular). Dourados/MS, UFGD, 2013.

Entretanto, a análise do RNA posteriormente à secagens lenta e rápida, indicou a degradação do ácido nucleico das sementes com 4,5 e 5,4% de teor de água, caracterizada pela perda de integridade das bandas 28S e 18S (Figura 7). Nesse sentido, a degradação do rRNA ocorreu sem a fragmentação do DNA (SAMALI et al., 1997). Assim como destacado por Kranner et al. (2011), é importante ressaltar que os resultados verificados nas Figuras 6 e 7 são provenientes de populações de sementes que podem não refletir o status do ácido nucleico de uma única semente.

Assim, em uma população com 20% de mortalidade e 80% de viabilidade, a degradação parcial do rRNA após a secagem pode ser representada pelas sementes mortas que perderam completamente a integridade do rRNA. Entretanto, assim como sugerido por Kranner et al. (2011), essas mudanças poderiam ser utilizadas como marcador da degradação precoce em lotes de sementes submetidos à secagem.

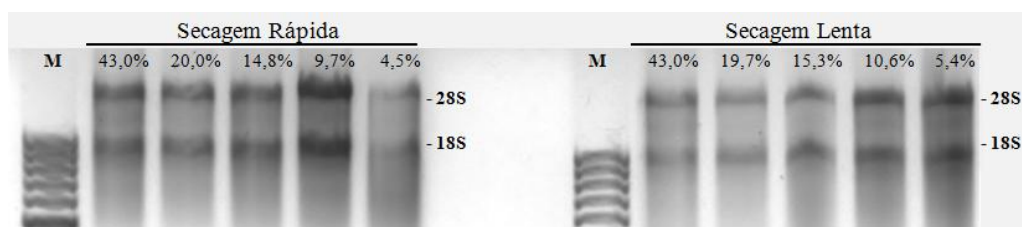


FIGURA 7. Gel de agarose 1% com RNA extraído de sementes de *Campomanesia adamantium* submetidas à secagem rápida e lenta em diferentes teores de água. M: Marcador 100 pb (peso molecular). Dourados/MS, UFGD, 2013.

Apesar de não ter sido observado o padrão de degradação do DNA característico de morte programada e passiva de células, a secagem causou a perda da integridade do RNA (Figuras 6 e 7). Há evidências de que a degradação do RNA é causada por RNAses e o aumento da atividade das enzimas tem sido associada com a morte programada de células (PANAVAS et al., 1998; XU e HANSON, 2000). Possivelmente, a degradação parcial do rRNA permitiu que as cópias remanescentes de RNA tenham sido suficientes para as transcrições necessárias à germinação das sementes.

De maneira geral, este estudo indicou que sementes de *C. adamantium* apresentaram comportamento recalcitrante quanto à tolerância à dessecação, verificado pela redução da porcentagem de plântulas normais provenientes de sementes submetidas à secagem rápida no teor de água abaixo de 21,1% e à lenta de 17,2%, sendo observado o mesmo comportamento para as demais características do potencial fisiológico das sementes. De acordo com Marcos Filho (2005), as sementes recalcitrantes perdem a viabilidade com a secagem até atingir o nível de hidratação 3 (20 a 33% de teor de água), quando estão metabolicamente ativas e com as membranas hidratadas e, provavelmente, nesse nível, ocorre desordem no metabolismo, e os mecanismos de reparo tornam-se menos eficientes.

4 CONCLUSÕES

As sementes de *Campomanesia adamantium* são sensíveis à dessecação e a redução do teor de água a partir de 21,1% na secagem em sílica gel (rápida) e 17,2% para secagem em ambiente (lenta) prejudica o potencial fisiológico das sementes.

A integridade do DNA não foi afetada após a secagem das sementes nos dois métodos. Porém, a secagem em sílica gel (rápida) no teor de água de 4,5% e no ambiente (lenta) com o teor de água de 5,4% provocou a perda da integridade do RNA das sementes.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. **Frutos dos Cerrados** – Preservação gera muitos frutos. 2003. Disponível em: <http://www.biotecnologia.com.br/revista/bio15/frutos.pdf>. Acesso em: abril de 2013.

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 55, n. 2, p. 249-259, 1998.

BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 145-164, 1998.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, London, v. 101, n. 2, p. 213-228, 2008.

BERJAK, P., FARRANT, J. M., PAMMENTER, N. W. Seed desiccation tolerance mechanisms. In: Jenks M, ed., **Plant desiccation tolerance**. Ames, IO: Blackwell Publishing, in press. 2007.

BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W. The basis of recalcitrant seed behaviour: cell biology of the homoiohydrous seed condition. In: TAYLORSON, R.B. (Ed.). **Recent Advances in the development and germination seeds**. New York : Plenum Press, 1989. p. 89-108.

BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. **Desiccation and survival in plants**. 1. ed. New York: CABI Publishing, 2002. 422 p.

BOUBRIAK, I.; KARGIOLAK, H.; LYNE, L.; OSBORNE, D. J. The requirement for DNA repair in desiccation tolerance of germinating embryos. **Seed Science Research**, Wallington, v. 7, n. 1, p. 97-105, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Regras para análises de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 399 pp. 2009.

BUITINK, J.; VU, B. L.; SATOUR, P.; LEPRINCE, O. The re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Medicago truncatula* Gaertn. seeds. **Seed Science Research**, v. 13, p. 273–286, 2003.

CARVALHO, J. E. U.; LEÃO, N. V. M.; MULLER, C. H. Sensibilidade de sementes de gabioba (*Campomanesia lineatifolia* Ruiz et Pav. Myrtaceae) ao dessecamento e à baixa temperatura. In: **X Congresso Brasileiro de Sementes, Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes**. Foz de Iguaçu, Brasil. Abrates. 1997. p. 252.

DONADIO, L. C.; MORO, F. V. Potential of brazilian *Eugenia* Myrtaceae - as ornamental and as a fruit crop. **Acta Horticulturae**, The Hague, v. 632, p. 65-68, 2004.

DOS SANTOS, P. C. G.; ALVES, E. U.; GUEDES, R. S.; SILVA, K. B.; DE ALMEIDA CARDOSO, E.; DE LIMA, C. R. Qualidade de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes em função do tempo de secagem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 343-352, 2010.

DOUSSEAUL, S.; ALVARENGA, A. A.; GUIMARÃES, R. M.; LARA, T. S.; CUSTÓDIO, T. N.; CHAVES, I. S. Ecofisiologia da germinação de sementes de *Campomanesia pubescens*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p. 1362-1368, 2011.

DRESCH, D. M.; SCALON, S. P. Q.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. C. Germinação de sementes de *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg em diferentes temperaturas e umidades do substrato. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 40, v. 94, p. 223-229, 2012.

FARIA, J. M. R.; BUITINK, J.; LAMMEREN, A. A. M.; HILHORST, H. W. M. Changes in DNA and microtubules during loss and re-establishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 418, p. 2119–2130, 2005

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Campinas, v. 6, p. 36-41, 2008.

GEMAQUE, R. C. R.; DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A.; FARIA, J. M. R. Efeito das secagens lenta e rápida em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.), **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 4, p. 329-335, 2005.

KERMODE, A. R.; FINCH-SAVAGE, B. E. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Londres: CABI Publishing, 2002. p. 149-184.

KOHOMA, 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**, Pelotas. v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.

KRANNER, B. S.; ANDERSON, K. M.; PRITCHARD, H. W. Glutathione halfcell reduction potential: A universal stress marker and modulator of programmed cell death? **Free Radical Biology & Medicine**, p. 1-11, 2006.

KRANNER, I.; CHEN, H.; PRITCHARD, H. W.; PEARCE, S. R.; BIRTIC, S. Inter-nucleosomal DNA fragmentation and loss of RNA integrity during seed ageing. **Plant Growth Regulation**, v. 63, p. 63-72, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras - manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v. 1, 5.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 384 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A.; STANGUERLIM, H. Teores crítico e letal de água para sementes de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 21, n. 1, p. 125-132, 1999.

MASETTO, T. E.; FARIA, J. M. R.; DAVIDE, A. C.; SILVA, E. A. A. Desiccation tolerance and DNA integrity in *Eugenia pleurantha* O. Berg. (Myrtaceae) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v. 30, n.1, p. 51-56, 2008.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* Camb. - Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 141-150, 2006.

NASCIMENTO, W. M. O.; NOVENBRE, A. L. C.; CICERO, S. M. Conseqüências fisiológicas da dessecação em sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 38-43, 2007.

NEDEVA, D.; NIKOLOVA, A. Desiccation tolerance in developing seeds. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 3/4, p. 100-113, 1997.

OKUHISA, D.; SEDIYAMA, C. A. Z.; HILST, P. C.; DIAS, D. C. F. S. Teste de condutividade de elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v. 31, n. 2, p. 137-145, 2009.

PANAVAS, T.; WALKER, E. L.; RUBINSTEIN, B. Possible involvement of abscisic acid in senescence of daylily petals. **Journal of Experimental Botany**, v. 49, p. 1987-1997, 1998.

SACANDÉ, M.; JOKER, D.; DULLOO, M.; THOMSEN, K. A. (Ed.) **Comparative storage biology of tropical tree seeds**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. 363p.

SAMALI, A.; GILJE, B.; DOESKELAND, S. O.; COTTER, T. G.; HOUGE, G. The ability to cleave 28S ribosomal RNA during apoptosis is a cell-type dependent trait unrelated to DNA fragmentation. **Cell death and differentiation**, v. 4, n. 4, p. 289, 1997.

SANTOS, P. C. G.; ALVES, E. U.; GUEDES, R. S.; SILVA, K. B.; DE ALMEIDA CARDOSO, E.; DE LIMA, C. R. Qualidade de sementes de *Hancornia speciosa* Gomes em função do tempo de secagem. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 343-352, 2010.

SCALON, S. P. Q.; NEVES, E. M. S.; MASETO, T. E.; PEREIRA, Z. V. Sensibilidade à dessecação e ao armazenamento em sementes de *Eugenia pyriformes* Cambess. (uvaia). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 269-276, 2012.

SILVA, K. B.; ALVES, E. U.; BRUNO, R. L. A.; SANTOS, S. S.; BARROSO, L. M. Tolerância à dessecação de sementes de *Cinnamomum zeylanicum* Ness. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 587-594, 2012.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; STEIN, V. C.; SANTANA, J. R. F. **Marolo: uma frutífera nativa do Cerrado**. Editora UFLA, Lavras, MG. Boletim Técnico, n. 82, p. 1-17, 2009.

VALLILO, M. I.; AGUIAR, O. T.; FIUMARELLI, J.; MARTINS JUNIOR, H.A.; SASSINE, A.; BUSTILLOS, O. V. Identificação de terpenos no óleo dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessèdes) O. Berg. Landrum-Myrtaceae. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, (supl.), p. 1-749, 2004.

VALLILO, M. I.; BUSTILLOS, O. V.; AGUIAR, O. T. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessèdes) O. Berg-Myrtaceae. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 18, p. 15-22, 2006.

VIANNELO, A.; ZANCANI, M.; PERESSON, C.; PETRUSSA, E.; CASOLO, V.; KRAJNAKOVA, J.; PATUI, S.; BRAIDOT, E.; MACRI, F. Plant mitochondrial pathway leading to programmed cell death. **Physiologia Plant**, n. 129, p. 242–252, 2007.

VIEIRA, R. D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. (Coord.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132.

XU, Y.; HANSON, M. R. Programmed cell death during pollination induced petal senescence in petunia. **Plant Physiology**, Rockville, v. 122, p. 1323–1333, 2000.

XU, C.; CHEN, K.; FERGUSON, I. B. Programmed cell death features in apple suspension cells under low oxygen culture. **Journal of Zhejiang University Science**, Zhejiaiang, v. 5, n. 2, p. 137-1432, 2004.

WESLEY-SMITH, J.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; WALTERS, C. The effect of two rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant

Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) seeds. **Annals of Botany**, Oxford, v. 88, n. 4, p. 653-664, 2001.

CAPÍTULO III

ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O. BERG: INFLUÊNCIA DE TEORES DE ÁGUA E AMBIENTES

RESUMO – (Armazenamento de sementes de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg: influência de teores de água e ambientes). Objetivou-se neste trabalho avaliar a conservação de sementes de *Campomanesia adamantium* em diferentes condições. Os frutos utilizados foram coletados em matrizes localizadas em de Ponta-Porã-MS. Após o processamento, as sementes foram submetidas à secagem em condições de ambiente em diferentes teores de água e posteriormente submetidas ao armazenamento nas condições de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 35% UR), câmara fria e seca ($16 \pm 1^\circ\text{C}$, 40% UR), geladeira ($8 \pm 1^\circ\text{C}$, 35% UR) e freezer ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$, 42% UR) durante zero (recém-processadas), 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias. Para avaliação do potencial fisiológico das sementes foram realizados os testes de protrusão da raiz primária, porcentagem de plântulas normais, comprimento de plântulas, massa seca total de plântulas, taxa de sobrevivência da parte aérea e raiz primária, testes histoquímicos e estudos anatômicos. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com parcela sub-subdividida (5 teores de água x 4 condições de ambiente x 7 períodos de armazenamento). As sementes de *C. adamantium* apresentam comportamento recalcitrante, não suportando a dessecação a níveis inferiores a 15,3% e ao armazenamento em condições de ambiente de laboratório, câmara fria e seca, geladeira e freezer durante 30 dias. A dessecação e o armazenamento das sementes prejudicam a formação das plântulas, impedindo o desenvolvimento normal das estruturas de raiz e parte aérea. Os efeitos deletérios da secagem associados com o armazenamento provocam o aparecimento de compostos fenólicos e frutanos em plântulas anormais de *C. adamantium*.

Palavras-chaves: Myrtaceae, teor de água, secagem, conservação, xilopódio.

ABSTRACT - (Storage of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg seeds: influence of water content and environmental temperature). The present work evaluated the conservation of *Campomanesia adamantium* seeds under different conditions. The fruits used in the study were collected from matrices located in the city of Ponta Porã-MS, Brazil. After processing, the seeds were slowly dried to different water content levels and subsequently exposed to various environmental conditions: room temperature in the laboratory ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 35% RH), a cold/dry chamber ($16 \pm 1^\circ\text{C}$, 40% RH), refrigeration ($8 \pm 1^\circ\text{C}$, 35% RH), and freezing ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$, 42% RH). Each treatment was conducted for 0 (recently processed seeds, with superficial drying of 40 minutes), 30, 60, 90, 120, 150, and 180 days. Seed potential was physiologically evaluated based on radicle protrusion, percentage of normal seedlings, seedling length, total dry mass of the seedlings, and survival rates of the aerial portion and the primary radical, histochemical tests, and anatomical studies. The experimental design was a completely randomized factorial scheme with split-split plots (4 environment conditions x 5 water content levels x 7 storage periods). *C. adamantium* seeds were found to be recalcitrant and did not tolerate desiccation levels less than 15,3% and subsequent storage under room-temperature laboratory conditions, in a cold/dry chamber, under refrigeration, or freezing conditions for 30 days. Desiccation and storage affected seedling formation by impeding normal root and shoot structure development. The deleterious effects associated with storage and drying resulted in the appearance of phenolic compounds and fructans in abnormal *C. adamantium* seedlings.

Keywords: Myrtaceae, water content, drying, conservation, xilopodium.

1 INTRODUÇÃO

O armazenamento de sementes constitui uma forma segura e econômica de conservação da diversidade genética de espécies vegetais nativas, além de representar uma estratégia para suprir a demanda contínua de mudas para fins comerciais, reflorestamentos e recuperação de áreas degradadas (COSTA, 2009). Todavia, o sucesso do armazenamento de sementes depende do conhecimento sobre o comportamento destas durante este processo, o que possibilita a utilização de condições adequadas para a manutenção da viabilidade (HONG e ELLIS, 1996).

Segundo Roberts (1973), as sementes são classificadas em duas categorias com relação ao comportamento no armazenamento: ortodoxa ou recalcitrante. As sementes ortodoxas se mantêm viáveis após dessecação até grau de umidade em torno de 5% e podem ser armazenadas sob baixas temperaturas por um longo período. As sementes recalcitrantes são sementes sensíveis à dessecação, que não sobrevivem com baixos níveis de umidade, o que impede o seu armazenamento por longo prazo. Mais recentemente, uma terceira categoria foi identificada, na qual as sementes apresentam um comportamento de armazenamento intermediário ao ortodoxo e ao recalcitrante (ELLIS et al., 1990). De acordo com Hong e Ellis (1996) as sementes que apresentam comportamento intermediário toleram a desidratação até 7,0% a 10% de umidade e não toleram baixas temperaturas durante período de tempo prolongado.

As sementes recalcitrantes apresentam baixa viabilidade no armazenamento, o que causa sérios problemas para a conservação do germoplasma dessas espécies, inviabilizando a conservação *ex situ*, ou seja, fora de seu habitat (CASTRO et al., 2004) e dificultando sua inclusão em programas de restauração vegetal (BILIA et al., 2003). Desse modo, a conservação de sementes recalcitrantes poderia ser favorecida por métodos que propiciassem a paralização ou a limitação, ao máximo possível, do crescimento do eixo embrionário, mantendo-se a semente com fornecimento de água suficiente para evitar sua desidratação abaixo do teor de água crítico (BARBEDO e MARCOS FILHO, 1998).

A capacidade de armazenamento é ampliada para muitas espécies, quando a redução do teor de água das sementes está associada à diminuição de temperatura do ambiente (WALTERS et al., 1998). Porém, algumas espécies não toleram redução acentuada da temperatura como o congelamento, devido aos danos causados por temperaturas negativas com a formação de cristais de gelo nos tecidos,

e assim, provocando a perda da viabilidade (CHIN et al., 1989; FONSECA e FREIRE, 2003).

Grande número de espécies frutíferas e florestais apresentam sementes sensíveis à dessecação (VILLELA e PERES, 2004), porém são ainda contraditórios os trabalhos com informações sobre o armazenamento de sementes do gênero *Campomanesia*. A *C. adamantium* (Cambess.) O. Berg (Myrtaceae) é uma frutífera nativa e não cultivada, porém abundante em área do Cerrado de Mato Grosso do Sul (LORENZI et al., 2006). Os frutos coletados em diferentes estádios de amadurecimento apresentam potencial para serem utilizados "in natura", na indústria de alimentos e como flavorizantes na indústria de bebidas, devido à elevada acidez e teores de ácido ascórbico (vitamina C), minerais, fibras alimentares e hidrocarbonetos monoterpênicos, presentes em maior quantidade no óleo volátil dos frutos, e que lhes conferem o aroma cítrico (VALLILO et al., 2006).

Diante disso, a necessidade de informações precisas sobre as condições adequadas para a conservação da viabilidade de sementes de *C. adamantium* são imprescindíveis para o armazenamento das sementes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de variações dos teores de água, condições ambientais e períodos de armazenamento na conservação de sementes *C. adamantium*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Campomanesia adamantium* foram coletados no final do mês de dezembro de 2011, a partir de 30 matrizes localizadas em área de Cerrado (*stricto sensu*), em Ponta Porã-MS. Após a coleta, os frutos foram levados ao Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas, da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados-MS, onde foram lavados em água corrente, descartando-se os frutos danificados. Posteriormente, os frutos foram processados manualmente e sobre peneiras para a separação das sementes. Em seguida, as sementes foram lavadas em água corrente e acondicionadas sobre papel Germitest[®] durante 40 minutos em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 32% UR) para retirada do excesso de umidade.

Após a secagem superficial das sementes, as mesmas foram submetidas à secagem em condições de laboratório sobre bandejas plásticas e a cada hora as sementes foram pesadas até que atingissem os teores de água pré-estabelecidos (30, 20, 15, 10 e 5%), conforme a fórmula de Sacandé et. al. (2004).

À medida que o teor de água encontrava-se próximo do desejado, uma amostra foi retirada, homogeneizada, dividida em frações e acondicionadas em sacos plásticos transparentes com espessura de 0,20 mm, e submetidas às seguintes condições de armazenamento: laboratório (LAB) ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 35% UR), câmara fria e seca (CF) ($16 \pm 1^\circ\text{C}$, 40% UR), geladeira (GE) ($8 \pm 1^\circ\text{C}$, 35% UR) e freezer (FZ) ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$, 42% UR). Após 0 (recém-processadas), 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias de armazenamento, as sementes foram pré-umidificadas em 100% UR e a 25°C sob luz branca constante por 24 horas, para que fossem evitados danos por embebição, e posteriormente, foram determinadas as seguintes características para avaliação do potencial fisiológico:

Teor de água: foi determinado a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h, pelo método da estufa (BRASIL, 2009), com três repetições de 5g de sementes cada e os resultados foram expressos em base úmida.

Protrusão da raiz primária: foi realizada em rolos de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25°C , sob luz branca constante. As avaliações ocorreram diariamente, considerando-se a protrusão da raiz quando atingiram comprimento mínimo de 5 mm. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Porcentagem de plântulas normais: foi realizada em rolo de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25°C , sob luz branca constante. As avaliações foram realizadas aos quarenta e dois dias após a semeadura, computando-se as porcentagens de plântulas normais utilizando-se como critério a emissão de parte aérea e sistema radicular desenvolvido (DRESCH et al., 2012). Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Comprimento de plântulas: obtido por meio das medidas do comprimento da raiz primária, parte aérea e total das plântulas, com auxílio de régua milimetrada. Os resultados foram expressos em centímetros (cm).

Massa seca total: obtida a partir das plântulas secas em estufa regulada a 60°C por 48 horas, determinada em balança analítica de precisão (0,0001g) com os resultados expressos em gramas (g).

Taxa de sobrevivência da parte aérea e raiz primária: foi realizado conjuntamente com o teste de porcentagem de plântulas normais, computando-se as

percentagens de sobrevivência da parte aérea e raiz primária das plântulas normais e anormais e os resultados foram expressos porcentagem (%).

Estudos morfoanatômicos

As observações anatômicas foram realizadas na região mediana do xilopódio, das plântulas de *C. adamantium*. As secções transversais obtidas à mão livre foram clarificadas com hipoclorito de sódio a 20% e, após serem lavadas em água acética 2% e água destilada, foram submetidas à dupla coloração com azul de astra e safranina (BUKATSCH, 1972) e montadas em gelatina glicerizada (DOP e GAUTIÉ, 1928).

Testes histoquímicos

Os testes histoquímicos foram realizados utilizando-se amostras fixadas e não fixadas do xilopódio de plântulas normais e anormais de *C. adamantium*. A presença de substâncias lipofílicas foi visualizada pelo emprego de Sudan III (SASS, 1958), lugol para amido (KRAUS e ARDUIN, 1997) e compostos fenólicos com cloreto férrico (JOHANSEN, 1940). As lâminas foram montadas em água destilada e posteriormente observadas. Para a análise dos frutanos amostras dos xilopódios foram seccionadas à mão livre e submetidas ao ácido sulfúrico e posteriormente, visualizadas em luz polarizada (JOHANSEN, 1940).

Os resultados morfoanatômicos foram obtidos por meio de equipamento fotográfico Sony Cyber-Shot em microscópio Nikon Eclipse E 200. Em todos os casos, foram acrescentadas escalas nas condições ópticas utilizadas.

O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com parcela subdividida (4 temperatura/ambiente x 5 teores de água x 7 períodos de armazenamento). Havendo significância na análise de variância, os dados de temperaturas foram comparados pelo teste de Tukey e os dados de teores de água e períodos de armazenamento foram ajustados por equações de regressão à 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2008). Os dados da curva de secagem, teor de água e taxa de sobrevivência de parte aérea e raízes primárias foram apresentados com os resultados médios e desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A secagem lenta (ambiente) durou 18 horas para que o teor de água inicial das sementes de 42,1 % (recém-processadas) reduzisse para 5,5% (Figura 1).

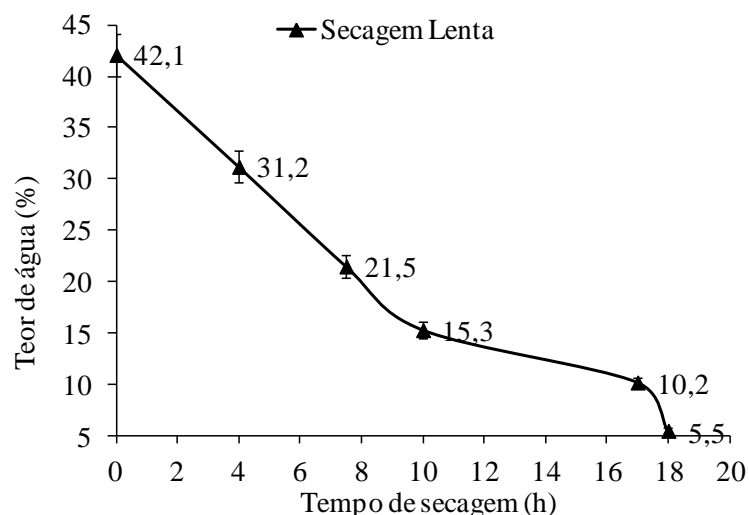


FIGURA 1. Curva de secagem lenta de sementes de *Campomanesia adamantium*. Dourados/MS, UFGD, 2013.

As sementes acondicionadas na câmara fria e seca, geladeira e freezer apresentaram pequenas variações dos teores de água durante o armazenamento (Figura 2), indicando que a temperatura baixa e controlada é eficiente para manter o teor de água das sementes mesmo em embalagem semi-permeável como o saco plástico. O mesmo comportamento foi observado por Kohama et al. (2006) em sementes de *Eugenia brasiliensis* LAM. (grumixameira), de modo que o armazenamento em sacos plásticos perfurados, mantidos em câmara fria, permitiu que as sementes apresentassem pequenas variações no teor de água de 23,6 % (1,8 pontos percentuais) e no teor de água 35,1% (3,5 pontos percentuais) que atingidos após a secagem.

Entretanto, as sementes acondicionadas em temperatura ambiente apresentaram reduções nos teores de água logo após o armazenamento por 30 dias, que foram mais acentuadas em sementes com teor de água inicial de 31,2% e que atingiram 17,2% aos 30 dias e ao final de 180 dias apresentaram 8,0% de teor de água. Apesar das embalagens serem semipermeáveis, elas permitiram a troca de vapor d' água entre a semente com elevado teor de água e o ambiente externo, reduzindo assim o nível de hidratação das sementes. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), mudanças na temperatura e umidade relativa do ar provocam constantes ajustes no teor de água das sementes ao longo do armazenamento.

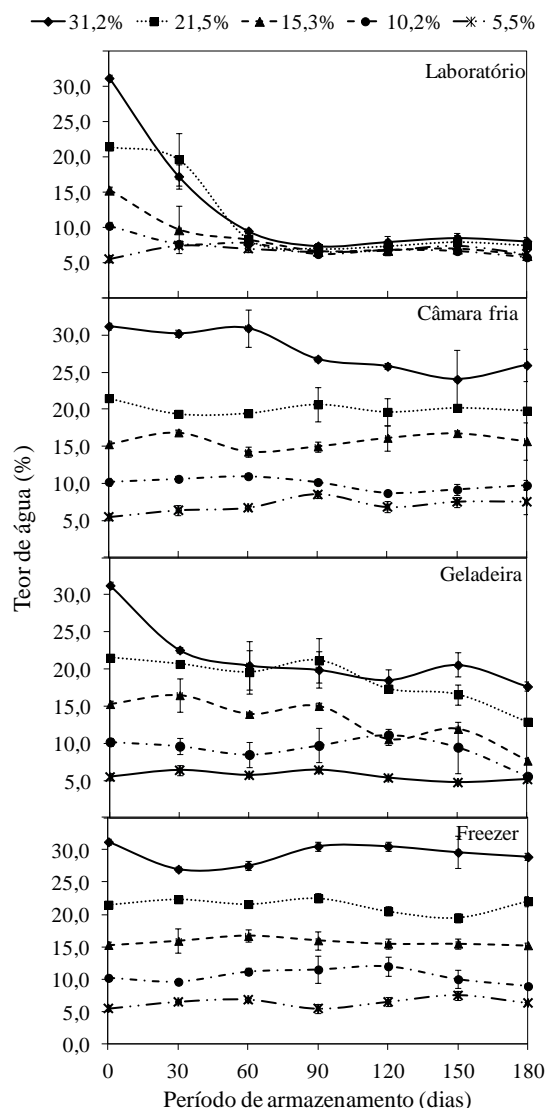


FIGURA 2. Teor de água (%) de sementes de *Campomanesia adamantium* acondicionadas com diferentes teores de água (%), temperaturas de ambientes e armazenadas por diferentes períodos. Dourados/MS, UFGD, 2013.

Para a protrusão da raiz primária, as sementes com teor de água de 21,8% apresentaram média máxima de 53,8% após armazenamento em câmara fria e seca (Figura 3a). Ressalta-se que durante o armazenamento nas condições de ambiente de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR/35%), algumas sementes com o teor de água de 31,2% apresentaram a protrusão da raiz primária ainda dentro da embalagem plástica, indicando que o teor de água elevado inviabilizou o armazenamento das sementes. A germinação das sementes dentro da embalagem de armazenamento já havia sido verificada em trabalhos realizados com sementes de *Euterpe edulis* Mart. (palmito-juçara) (ANDRADE, 2001) quando armazenou sementes a 15°C com 44% de água e para sementes de *Euterpe oleracea* Mart. (açai) (NASCIMENTO et al., 2010).

durante o armazenamento em ambiente a 20°C as nos teores de água de 43,4 e 37,4%.

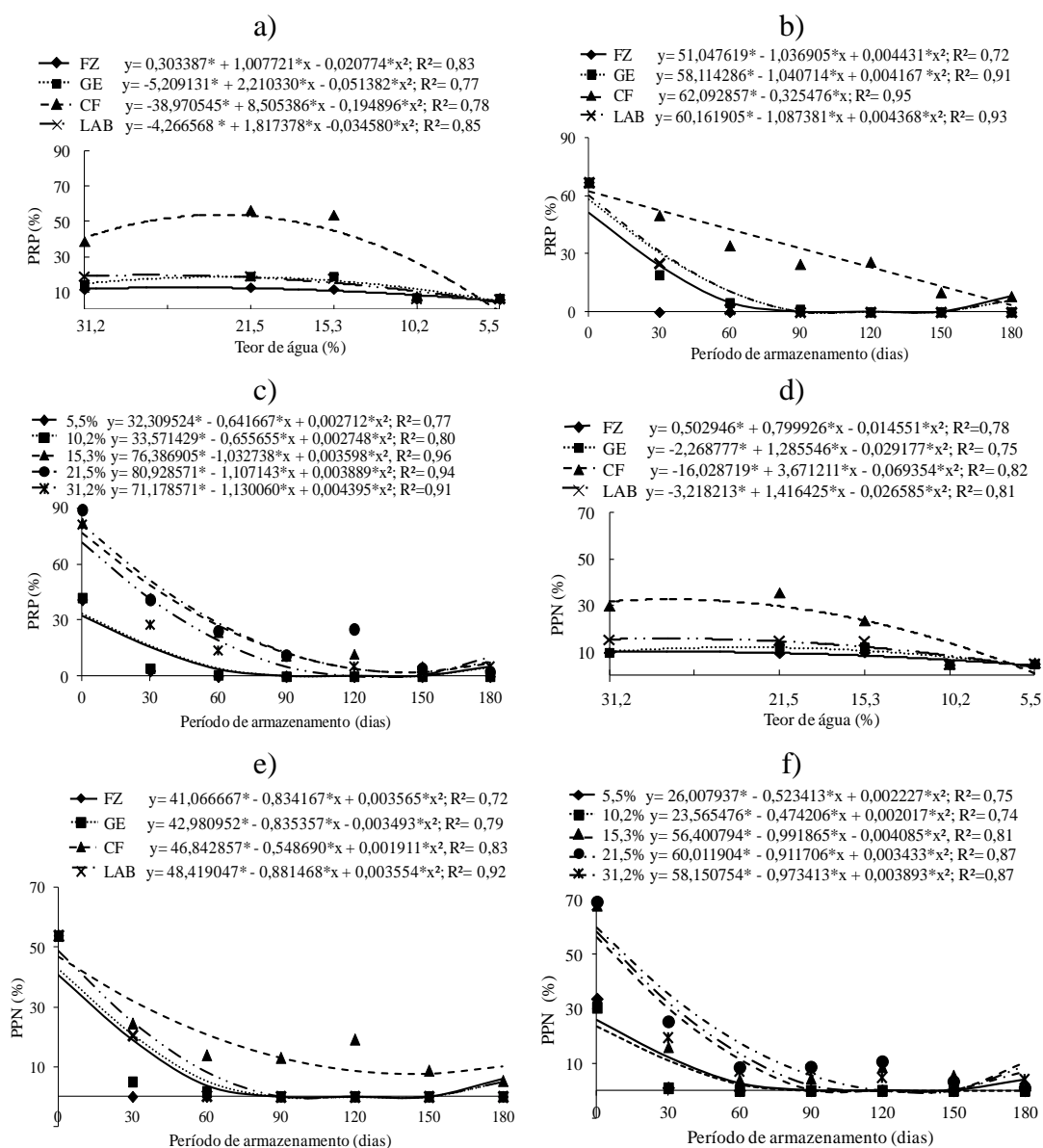


FIGURA 3. Protrusão da raiz primária (PRP) (%) (a, b, c) e porcentagem de plântulas normais (PPN) (%) (d, e, f) de sementes de *Campomanesia adamantium* em função das interações teores de água x condições de ambiente (a, d), períodos de armazenamento x condições de ambiente (b, e) e períodos de armazenamento x teores de água (c, f). Dourados/MS, UFGD, 2013.

O elevado teor de água das sementes associada à temperatura elevada de armazenamento propiciou a protrusão da raiz e o desenvolvimento de fungos de armazenamento, dentre eles, *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. A incidência de microrganismos e seus efeitos na deterioração, com as mudanças no teor de água das

sementes exigem observações rigorosas, pois a microflora constitui importante variável no desempenho das sementes recalcitrantes, sob várias condições do ambiente (MARCOS FILHO, 2005).

As sementes apresentaram protrusão da raiz primária acima de 50% apenas na condição de ambiente de câmara fria e seca aos 30 dias armazenamento (52,3%) e no teor de água de 21,5% (51,2%), sendo que as demais condições proporcionaram valores inferiores a 50% (Figura 3b, c). A desidratação das sementes nas diferentes condições de armazenamento intensificou o processo de deterioração ao longo do tempo, levando resultados de protrusão da raiz primária inferiores a 50% (Figura 3). A perda de água estrutural durante o processo de secagem de sementes recalcitrantes pode causar severas alterações nos sistemas metabólicos e de membranas, dando início ao processo de deterioração dessas sementes (FARRANT et al., 1988).

Para a interação teores de água x condições de ambiente, a máxima porcentagem de plântulas normais foi observada em sementes armazenadas em câmara fria e seca no teor de água de 21,5% (32,5%) (Figura 3d). Após 30 dias de armazenamento, todos os ambientes, períodos de armazenamento e teores de água, apresentaram redução gradativa e significativa da sobrevivência de plântulas normais (inferior a 50%), indicando que as sementes não toleraram a dessecação e o armazenamento (Figura 3e, f).

Resultados semelhantes foram observados por Silva et al. (2007) em sementes de *Artocarpus integrifolia* L. (jaqueira), de modo que após 30 dias de armazenamento em condições controladas (10°C e 40% UR), a germinação das sementes com grau de umidade de 56% diminuiu de 51% para 27% e foi nula aos 60 dias. Apesar de a temperatura mínima tolerada no armazenamento variar entre as espécies, segundo Pammenter e Berjak (1999), as sementes recalcitrantes não podem ser armazenadas a temperaturas abaixo de 15°C, como *Bactris gasipaes* Kunth (pupunha) (VILLALOBOS et al., 1992), *Mangifera indica* L. (manga) (FU et al., 1990), *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (camu-camu) (FERREIRA e GENTIL, 2003) e *Artocarpus integrifolia* L. (jaqueira) (SILVA et al., 2007).

A condição de câmara fria e seca apresentou valor mínimo de porcentagem de plântulas normais aos 143 dias de armazenamento (4,7%). Para as condições de ambiente de laboratório, geladeira e nos teores de água de 10,2 e 5,5%,

o armazenamento a partir de 90 dias inviabilizou totalmente a conservação das sementes (Figura 3e, f).

As sementes armazenadas em freezer ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 42% UR) não germinaram a partir dos 30 dias de armazenamento, sugerindo que não toleram temperaturas sub-zero e/ou congelamento. A principal conseqüência da formação de cristais de gelo é a ruptura mecânica, tanto da estrutura citoplasmática quanto da membrana celular, pela expansão da água congelada, resultando na desagregação celular (TAIZ e ZEIGER, 2008).

Resultados semelhantes foram observados em sementes de *Eugenia pyriformis* Cambess. (uvaia), em que o armazenamento por 30 dias na condição de freezer ($-18 \pm 1^{\circ}\text{C}$) inviabilizou a germinação das sementes (teor de água de 25%) (SCALON et al., 2012). Bonjovani e Barbedo (2008) observaram que os embriões de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) T. D. Penn. (ingá) apresentaram sensibilidade aos níveis de desidratação a -18°C .

A redução do nível de hidratação das sementes em 10,2 e 5,5% em sementes recém-processadas e o armazenamento a partir dos 30 dias nos diferentes teores de água e condições de ambiente e temperaturas intensificaram o processo de deterioração das sementes, como verificado nos resultados da protrusão da raiz primária e sobrevivência de plântulas normais, confirmando assim o comportamento recalcitrante da espécie. De acordo com Hong e Ellis, (1996) essa categoria de sementes não tolera o armazenamento sob baixas temperaturas além de serem sensíveis à dessecação, o que dificulta sua conservação por períodos prolongados. As sementes intolerantes à dessecação, muitas vezes denominadas “recalcitrantes”, são freqüentemente consideradas também intolerantes a temperaturas inferiores a 15°C (CHIN e ROBERTS, 1980; ELLIS, 1991).

Melchior et al. (2006) também observaram que o comportamento das sementes de *C. adamantium* (Cambess.) O. Berg (guavira) pode ser classificada como recalcitrante, por não suportarem armazenamento a baixa temperatura (8°C) e ser intolerante à dessecação (teor de água de 28%). Do mesmo modo, Dresch et al. (2012) observaram que a redução do teor de água das sementes de 57% para 27% seguido de armazenamento em condição de ambiente de laboratório afetou negativamente a germinação, evidenciando a sensibilidade à dessecação de sementes de *C. adamantium*.

Além da porcentagem de protrusão da raiz primária e da sobrevivência de plântulas normais, outras características mostraram-se eficientes na detecção da redução do vigor das sementes devido aos danos causados pela deterioração durante a dessecação das sementes e armazenamento, tais como o comprimento de plântulas e massa seca total (Figura 4 e 5).

O comprimento da parte aérea foi influenciado negativamente pela desidratação a níveis baixos durante as diferentes condições e períodos de armazenamento das sementes (Figura 4a, b, c). Com relação à interação teores de água e condições do ambiente, os maiores resultados de comprimento da parte aérea foram observados em câmara fria no teor de água de 25,1% e na geladeira no teor de água de 18,9% (4,36 e 1,86 cm, respectivamente) (Figura 4a).

O armazenamento nas condições de geladeira e ambiente de laboratório inviabilizou o crescimento da parte aérea a partir dos 60 dias. Para a condição de câmara fria e seca, o comprimento da parte aérea foi decrescente ao longo dos 180 dias, sendo o valor mínimo observado aos 162 dias (2,01 cm) (Figura 4b). O comprimento da parte aérea, após 30 dias de armazenamento decresceu em todos os teores de água, inclusive não havendo crescimento a partir dos 60 dias para os teores de água de 5,5 e 10, 2% (Figura 4c). Entretanto para os demais teores de água, foram observados valores mínimos nos níveis de 31,2% aos 137 dias, de 21,5% aos 155 dias e no teor de água de 15,3% aos 136 dias (0,56; 0,75 e 0,68 cm, respectivamente) (Figura 4c).

O armazenamento das sementes em diferentes ambientes e teores de água intensificou o processo de deterioração, afetando mais a emissão e crescimento da raiz primária (Figura 4d, e, f). A condição de câmara fria e seca foi menos prejudicial ao comprimento da raiz primária em sementes com o teor de água de 30,5% (4,18 cm), porém seu menor crescimento foi observado aos 130 dias de armazenamento (1,73 cm) (Figura 4d, e).

As sementes com os teores de água de 15,3 e 21,5% apresentaram resultados mínimos de comprimento de raiz primária aos 135 dias (0,38 cm) e aos 125 dias (0,63 cm) de armazenamento, respectivamente (Figura 4f). A redução nos valores de comprimento de raiz também foi detectada por Souza et al. (2005) para sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich (ipê-amarelo) armazenadas em saco de polietileno e ambiente de laboratório ($27 \pm 3^\circ\text{C}$ e $62 \pm 2\%$ UR).

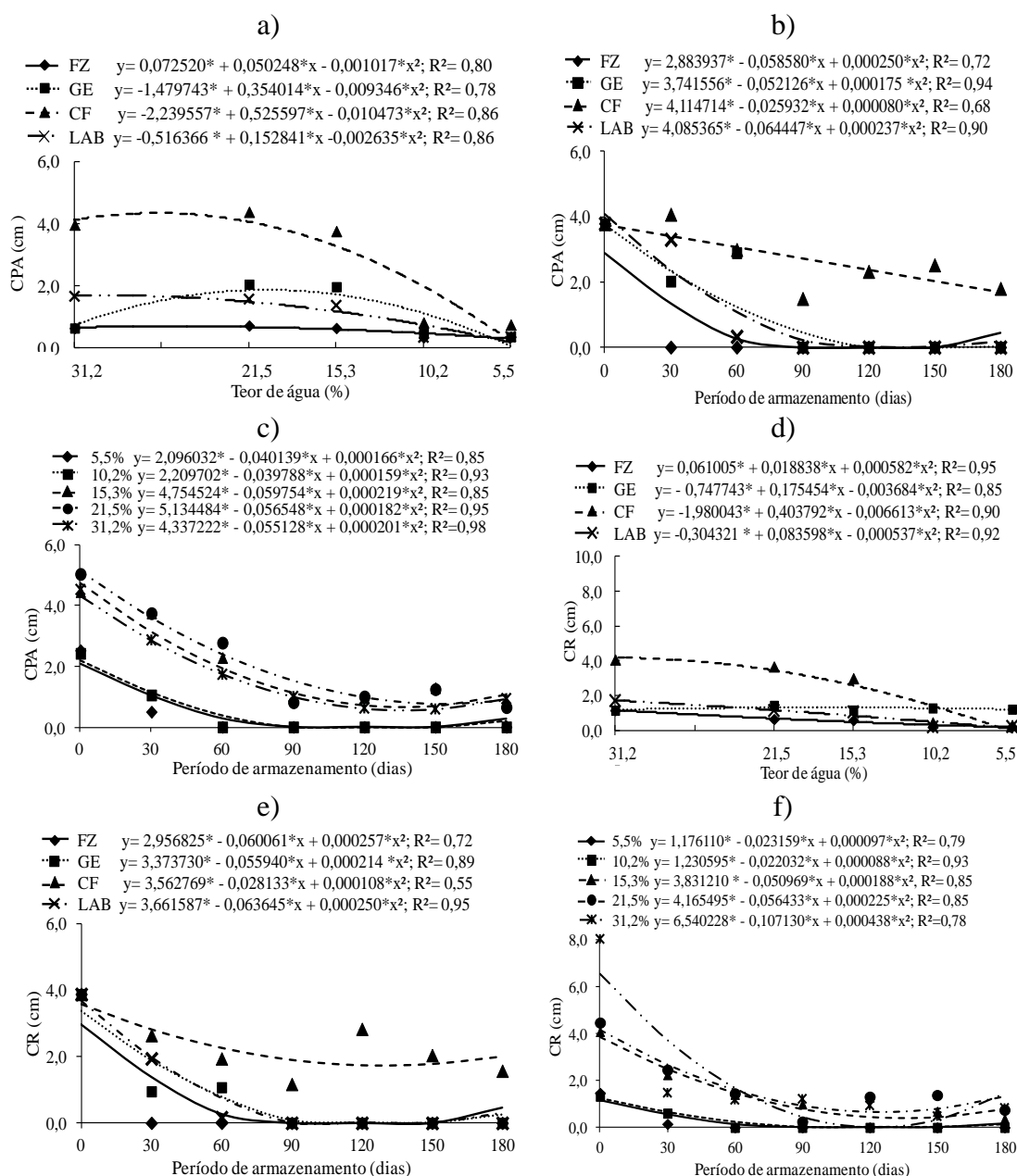


FIGURA 4. Comprimento da parte aérea (CPA) (cm) (a, b, c) e comprimento da raiz primária (CR) (cm) (d, e, f) de plântulas de *Campomanesia adamantium* em função das interações teores de água x condições de ambiente (a, d), períodos de armazenamento x condições de ambiente (b, e) e períodos de armazenamento x teores de água (c, f). Dourados/MS, UFGD, 2013.

Resultados semelhantes foram observados por Martins et al., (2000) em sementes de *Euterpe espirotosantensis* Fernandes (palmito-vermelho), de modo que o armazenamento durante 60 dias nas temperaturas de 10°C, 15°C e 20-30°C, com e sem a polpa, foi prejudicial ao comprimento da parte aérea e de raiz primária. Kissmann et al. (2009), observaram que as sementes de *Albizia hassleri* (Chod.) Burkart. (farinha-seca) armazenadas em condição de temperatura ambiente (23,6°C e

72,7% UR) como em câmara fria (17°C e 69% UR) apresentaram um decréscimo gradativo nos valores de comprimento médio da parte aérea e raiz, indicando a perda de viabilidade das sementes ao longo do tempo de armazenamento (270 dias).

Entretanto, Scalon et al. (2013) observaram que o armazenamento de sementes de *C. adamantium* em embalagens de vidro, papel alumínio, plástico e no interior do fruto nas temperaturas de 5, 10 e 15°C durante, sete, quatorze e 21 dias e sem armazenamento não prejudicou o comprimento da parte aérea e de raízes, indicando o curto período de armazenamento para a manutenção da viabilidade das sementes.

O armazenamento das sementes com diferentes teores de água, condições de ambiente e períodos de armazenamento influenciou negativamente no crescimento total das plântulas (Figura 5a, b, c). Os maiores crescimento de plântulas foram observados em plântulas provenientes de sementes armazenadas em câmara fria no teor de água de 27,9% (8,38 cm) e na geladeira com o teor de 20,3% (3,15 cm) (Figura 5a).

A condição de câmara fria e seca possibilitou o crescimento das plântulas ao longo dos 180 dias de armazenamento, porém o menor valor foi observado aos 140 dias (3,78 cm) (Figura 5b). Os teores de água de 15,3 e 21,5% proporcionaram os menores valores de comprimento total, aos 134 dias (1,03 cm) e aos 139 dias (1,46 cm), respectivamente (Figura 5c).

A redução no crescimento total das plântulas com a dessecação das sementes e o armazenamento também foi acompanhada pela diminuição de acúmulo de massa seca total (Figura 6d, e, f). As sementes armazenadas nas condições de geladeira com o teor de água de 20,8% (0,0061 g) e na câmara fria com o teor de água de 30,9% (0,0280 g) quando comparados aos demais ambientes possibilitaram os maiores acúmulos de massa seca total (Figura 6d). Sendo que as sementes acondicionadas na câmara fria e seca possibilitaram o acúmulo de massa ao longo dos 180 dias, com o menor valor observado aos 113 dias (0,0054 g) (Figura 6e). Os teores de água de 15,3 e 21,5% apresentaram o menor acúmulo aos 126 dias (0,0014 g) e aos 108 dias (0,0053 g) (Figura 6f). Ferreira e Gentil (2003) também observaram redução na massa seca de plântulas *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh (camu-camu) armazenadas em condição de câmara a 10°C.

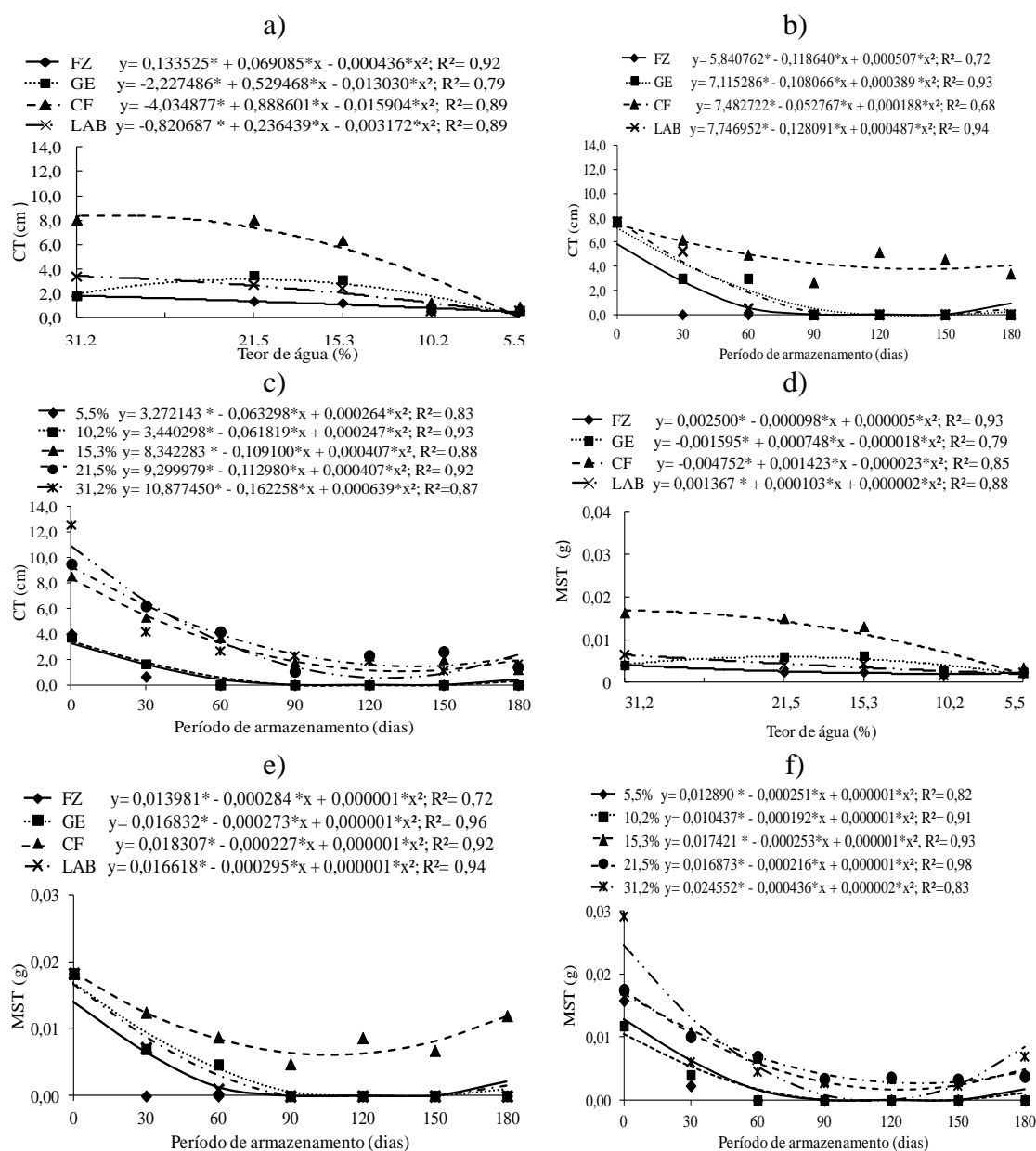


FIGURA 5. Comprimento total (CT) (cm) (a, b, c) e massa seca total (MST) (g) (d, e, f) de plântulas de *Campomanesia adamantium* em função das interações teores de água x condições de ambiente (a, d), períodos de armazenamento x condições de ambiente (b, e) e períodos de armazenamento x teores de água (c, f). Dourados/MS, UFGD, 2013.

A taxa de sobrevivência da parte aérea e da raiz primária foi influenciada pela dessecação, condições de ambiente e períodos de armazenamento das sementes (Figura 6). As plântulas provenientes das sementes que não foram armazenadas apresentaram as taxas de sobrevivência da parte aérea e da raiz primária semelhante não havendo diferenças expressivas entre elas. Entretanto, as sementes com os teores de água de 21,5, 15,3 e 10,2%, quando submetidas ao armazenamento nas condições

de ambiente de câmara fria e seca e geladeira apresentaram baixa taxa de sobrevivência das raízes primárias (Figura 6).

A dessecação das sementes associada ao armazenamento provocou a deterioração, que tem como principal causa a peroxidação dos lipídeos (McDONALD, 1999). Dessa forma, a peroxidação de lipídeos, ocorrendo nas mitocôndrias das células da extremidade da radícula, permitiu a redução no crescimento de plântulas provenientes de sementes mais deterioradas (MARCOS FILHO, 2005). A ocorrência de anormalidades nas plântulas verificada nas fases finais da deterioração é determinada pela morte de tecidos importantes, em diferentes regiões das sementes que acarretam severos prejuízos ao metabolismo celular, e conseqüentemente distúrbios no crescimento das plântulas (MATTHEWS, 1985; MARCOS FILHO, 2005).

As plântulas caracterizadas como anormais apresentaram acúmulo de compostos fenólicos e frutanos na região do xilopódio, sendo que o mesmo não ocorre em plântulas normais (Figuras 7, 8 e Quadro 1). Segundo Marcos Filho (2005), os compostos fenólicos são produtos da peroxidação de lipídeos decorrentes da deterioração das sementes. Possivelmente, os danos ocasionados pela deterioração contribuíram para o acúmulo de compostos fenólicos que desencadearam a má formação e crescimento das raízes primárias das plântulas. Entretanto, o acúmulo de frutanos pode estar associado com a perda da integridade da membrana durante o processo de dessecação das sementes e armazenamento. Os frutanos desempenham papel importante na regulação osmótica e na prevenção de danos à membrana, mantendo a integridade e o funcionamento celular; permitindo não só a sobrevivência, mas até mesmo o crescimento em condições de baixa disponibilidade hídrica, que pode ocorrer tanto por temperatura baixa, como por falta de água no ambiente (BROCKLEBANK e HENDRY, 1989; DEMEL et al., 1998; VEREYKEN et al. 2001).

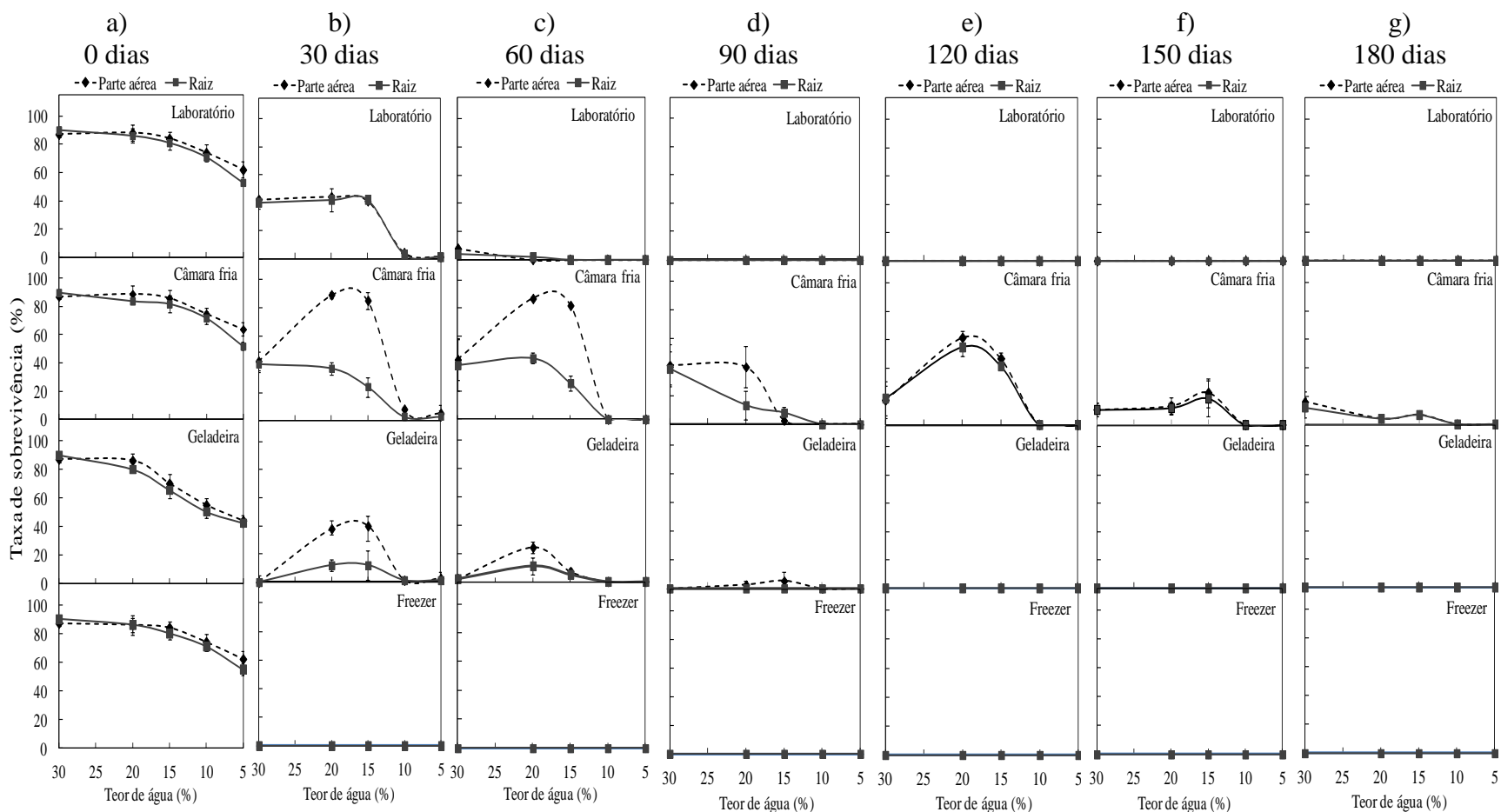


FIGURA 6. Taxa de sobrevivência da parte aérea e da raiz primária de plântulas de *Campomanesia adamantium* acondicionadas em diferentes teores de água (%), condições de ambiente e períodos de armazenamento. Dourados/MS, UFGD, 2013.

Na Figura 7 são ilustradas as plântulas de *C. adamantium* caracterizadas como normais (cotilédones expandidos, hipocótilo, xilopódio e raiz primária bem definida) e anormais (cotilédones expandidos, hipocótilo, xilopódio e raiz primária inexistente ou atrofiada), provenientes de sementes com teores de água de 21,5; 15,3 e 10,2%.

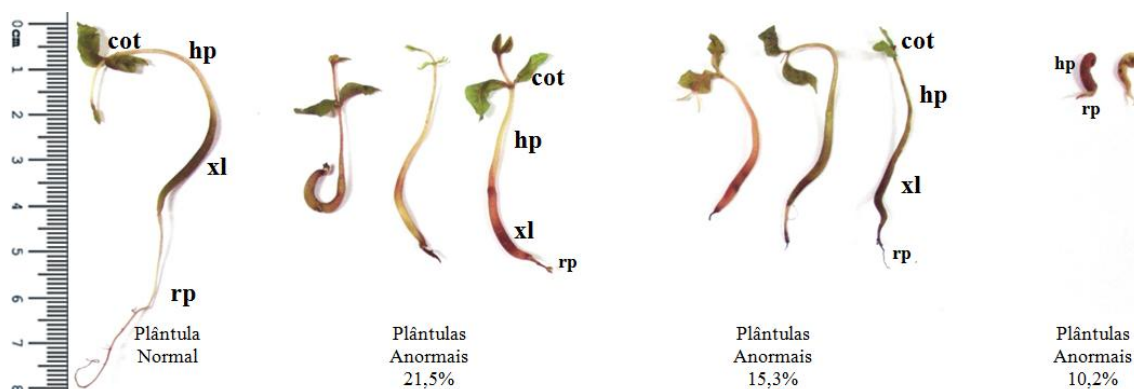


FIGURA 7. Visão geral de plântulas normais e anormais de *Campomanesia adamantium* (provenientes de sementes com teores de água de 21,5, 15,3 e 10,2%). (cot: cotilédones expandido, hp: hipocótilo, xl: xilopódio, rp: raiz primária). Dourados/MS, UFGD, 2013.

Além disso, os frutanos têm como função serem fontes de energia ou de carbono de reserva e assim, como os compostos fenólicos, estão relacionados com a tolerância de algumas espécies sujeitas aos estresses ambientais durante o seu crescimento e desenvolvimento, principalmente no Cerrado, local de ocorrência natural de *C. adamantium*, onde pode haver secas prolongadas e queimadas (MELO-DE-PINNA e MENEZES, 2003; DETMANN et al., 2008). Vários trabalhos sugerem que os frutanos conferem às plantas resistência à seca e/ou tolerância ao frio (LIVINGSTON e HENSON, 1998; PILON-SMITS et al., 1999; VAN DEN ENDE et al., 2000).

A caracterização anatômica dos xilopódios das plântulas normais e anormais apresenta padrão normal na fase inicial de desenvolvimento com regiões bem delimitadas como a epiderme, região cortical e medular. A camada mais interna do córtex é formada por células lignificadas. Os xilopódios de plântulas normais e anormais apresentam lipídeos na região do córtex e da medula (Figura 8a, b). Porém, os compostos fenólicos neste estágio de desenvolvimento foram detectados apenas nas plântulas anormais na região do córtex e da medula.

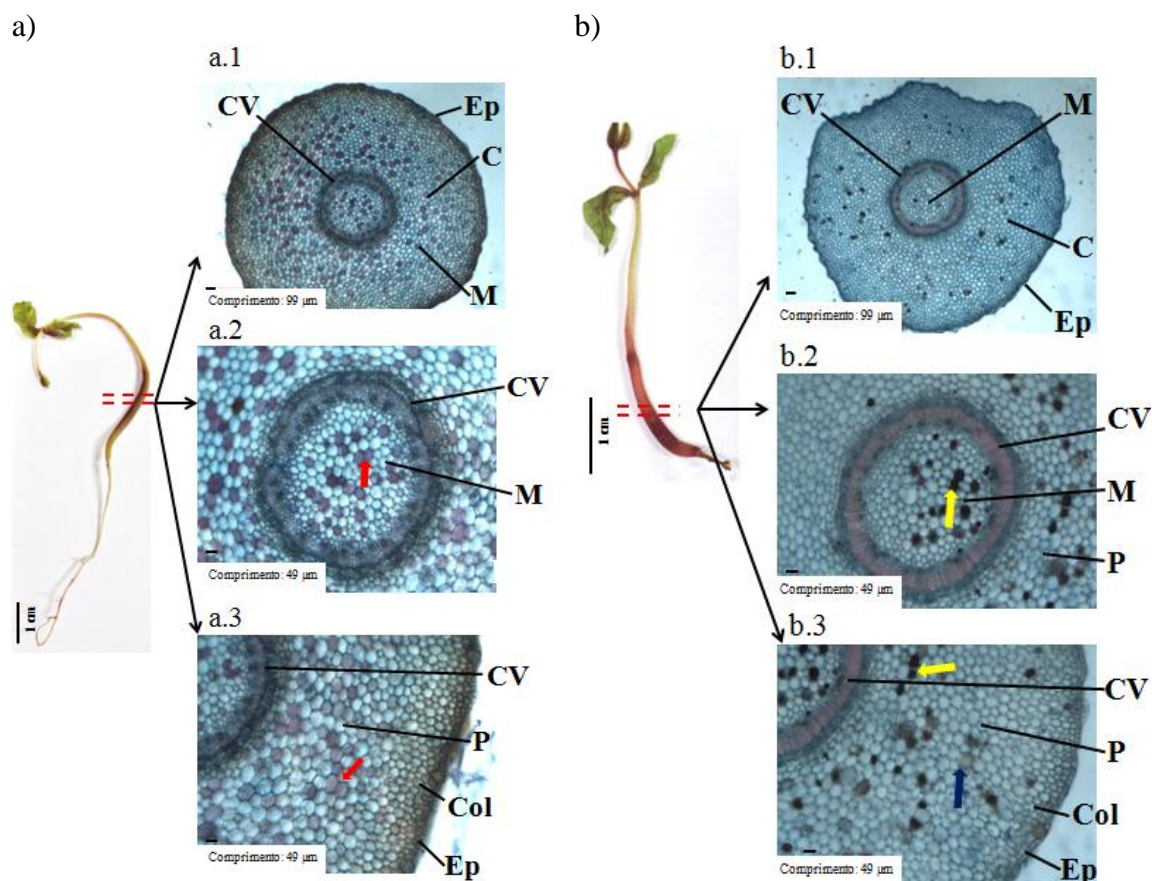


FIGURA 8. Secção transversal do xilopódio em estágio primário de crescimento de plântula normal (a) e anormal (b) (M = medula, C= córtex, P= parênquima, Col= colênquima, CV= cilindro vascular, Ep= epiderme, seta vermelha = lipídeos detectados com Sudan III e seta amarela= compostos fenólicos detectados com cloreto férrico). Dourados/MS, UFGD, 2013.

Os resultados dos testes histoquímicos estão resumidos no Quadro 1. O lugol utilizado para identificação de grãos de amido e o Sudan III para lipídios em geral, mostraram reações positivas nos xilopódios de plântulas normais e anormais. O cloreto férrico, empregado para identificação de compostos fenólicos e os frutanos mostraram reação fortemente positiva, especialmente nas células parenquimáticas do xilopódio de plântulas anormais e negativa para plântulas normais.

A presença de frutanos e compostos fenólicos evidenciam o mecanismo adaptativo da espécie em resposta à dessecação das sementes e a temperatura de armazenamento. Em levantamentos realizados no Cerrado, tem se verificado que diversas espécies possuem órgãos subterrâneos de reserva que acumulam grandes quantidades de frutanos (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986; TERTULIANO e FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993).

QUADRO 1. Testes microquímicos dos xilopódios de plântulas de *Campomanesia adamantium*.

Plântulas	Classes de compostos			
	Lugol	Cloreto férrico	Ácido Sulfúrico	Sudan III
Normal	+	-	-	+
Anormal 20%	+	+	+	+
Anormal 15%	+	+	+	+
Anormal 10%	+	+	+	+

(+) Positivo e (-) Negativo.

4 CONCLUSÕES

As sementes de *Campomanesia adamantium* apresentam comportamento recalcitrante, não suportando à dessecação a níveis inferiores a 15,3% e ao armazenamento em condições de ambiente de laboratório, câmara fria e seca, geladeira e freezer durante 30 dias.

A dessecação e o armazenamento das sementes prejudicam a formação das plântulas, impedindo o desenvolvimento normal das estruturas de raiz e parte aérea.

Os efeitos deletérios da secagem associado ao armazenamento provocam o aparecimento de compostos fenólicos e frutanos em plântulas anormais de *C. adamantium*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. C. S. The effect of moisture content and temperature on the longevity of heart of palm seeds (*Euterpe edulis*). **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 29, n. 1, p. 171-182, 2001.

BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 12, p. 145-164, 1998.

BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J.; CÍCERO, S. M.; MARCOS-FILHO, J. Ingá: uma espécie importante para recomposição vegetal em florestas ripárias, com sementes interessantes para a ciência. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 1, n. 13, p. 26-30, 2003.

BILIA, D. A. C.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. L. C. Conservação da qualidade fisiológica de sementes de *Inga uruguensis*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 48-54, 1998.

BONJOVANI, M. R.; BARBEDO, C. J. Sementes recalcitrantes: intolerantes a baixas temperaturas? Embriões recalcitrantes de *Inga vera* Willd. subsp. *Affinis* (DC.) T. D. Penn. toleram temperatura sub-zero. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 345-356, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Regras para análises de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 399 pp. 2009.

BROCKLEBANK, K. J.; HENDRY, G. A. F. Characteristics of plant species which store different types of reserve carbohydrates. **New Phytologist**, n. 112, p. 255-260, 1989.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau - Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, n. 8, p. 225, 1972.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590 p.

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento das sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**, (Orgs.). Artmed, Porto Alegre, 2004. p. 51-67.

CHIN, H. F.; KRISHNAPILLAY, B.; STANWOOD, P. C. Seed moisture: recalcitrant vs. orthodox seeds. In: STANWOOD, P. C.; McDONALD, M. B. (ed.). **Seed moisture**. Madison: Crop Science Society of America, 1989. p.15-22.

CHIN, H. F.; ROBERTS, E. H. **Recalcitrant crop seeds**. Kuala Lumpur: Tropical Press SND, DHDI, 1980.

COSTA, C. J. **Armazenamento e conservação de sementes de espécies do Cerrado**. Embrapa Cerrados (Documentos/Embrapa Cerrados), Planaltina, DF, 2009. 30 p.

DEMEL, R. A.; DORREPALL, E.; EBSKAMP, M. J. M.; SMEEKENS, J. C. M.; DE KRUIJFF, B. Fructans interact strongly with model membranes. **Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes**, n. 1375, p. 36-42, 1998.

DETMANN, K. D. S. C.; DELGADO, M. N.; REBELLO, V. P. A.; LEITE, T. D. S.; AZEVEDO, A. A.; KASUYA, M. C. M.; ALMEIDA, A. M. D. (2008). Comparação de métodos para a observação de fungos micorrízicos arbusculares e endofíticos do tipo dark septate em espécies nativas de Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 1883-1890, 2008.

DOP, P.; GAUTIÉ, A. **Manuel de technique botanique**. 2.ed. Paris: J. Lamare, 1928. 594p.

DRESCH, D. M.; SCALON, S. P. Q.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. C. Germinação de sementes de *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg em diferentes temperaturas e umidades do substrato. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 40, v. 94, p. 223-229, 2012.

- ELLIS, R. H. The longevity of seeds. **Hortscience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1119-1125, 1991.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.
- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Recalcitrance – a current assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 16, n. 1, p. 155-166, 1988.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Campinas, v. 6, p. 36-41, 2008.
- FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dúbia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 440-442, 2003.
- FIGUEIREDO-RIBEIRO R. C. L., DIETRICH, S. M. S., CHU, E. P., MACHADO DE CARVALHO, M. A., VIEIRA, C. C. J. & GRAZIANO, T. T. Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n. 9, p. 159-166, 1986.
- FONSECA, S. C. L.; FREIRE, H. B. Sementes recalcitrantes: problemas na pós-colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 297-303, 2003.
- FU, J. R.; ZHANG, B. Z.; WANG, X. P.; QIAO, Y. Z.; HUANG, X. L. Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 18, p. 743-754, 1990.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behavior**. In: ENGELS, J.M.M; TOLL, J. Rome: IPGRI, 1996. 62p. (IPGRI Technical Bulletin n.1)
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. McGraw-Hill Book Company, New York. 1940. 790 p.
- KISSMANN, C.; SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M; ROBAINA, A. D. Germinação e armazenamento de sementes de *Albizia hassleri*. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 104-115. 2009.
- KOHOMA, 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**, Pelotas, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

LIVINGSTON, D. P.; HENSON, C. A. Apoplastic sugars, fructans, fructan exohidrolase, and invertase in winter oat: responses to second-phase cold hardening. **Plant Physiology**, n. 116, p. 403-408, 1998.

LORENZI, H.; CACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo *in natura*)**. São Paulo, Instituto Plantarum. 2006. 640 p.

MATTHEWS, S. Physiology of seed ageing. **Outlook of Agriculture**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 89-94, 1985.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MARTINS, C. C.; BOVI, M. L. A.; NAKAGAWA, J.; GODOYJÚNIOR, G. Despolpamento e temperatura no armazenamento de sementes de palmito-vermelho (*Euterpe espirosantensis* Fernandes). **Revista Brasileira de Sementes**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 169-176, 2000.

McDONALD, M. D. Seed deterioration, physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 22, n. 3, p. 531-539, 1999.

MELO-DE-PINNA, G. F. A.; MENEZES, N. L. Meristematic endodermis and secretory structures in adventitious roots of *Richtera* Kuntze (Mutisieae-Asteraceae), **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, p. 1-10, 2003.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium* Camb. - Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 141-150, 2006.

NASCIMENTO, W. M. O. DO; CICERO, S. M.; NOVENBRE, A. D. L. C. Conservação de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, 2010.

PAMMENTER, N. W; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Zürich, v. 9, p. 13-37, 1999.

PILON-SMITS, E. A. H.; EBSKAMP, M. J. M.; PAUL, M. J.; JEUKEN, M.J.W.; WEISBEEK, P. J.; SMEEKENS, S. C. M. Improved performance of transgenic fructan-accumulating tobacco under drought stress. **Plant Physiology**, n. 107, p. 125-130, 1995.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 4, p. 499-514, 1973.

SACANDÉ, M.; JOKER, D.; DULLOO, M.; THOMSEN, K. A. (Ed.) **Comparative storage biology of tropical tree seeds**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. 363p.

- SASS, J. E. **Botanical microtechnique**. Iowa State University, Ames. 1958. 228 pp.
- SCALON, S. P. Q.; NEVES, E. M. S.; MASETO, T. E.; PEREIRA, Z. V. Sensibilidade à dessecação e ao armazenamento em sementes de *Eugenia pyriformes* Cambess. (uvaia). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 269-276, 2012.
- SCALON, S. P. Q.; OSHIRO, A. M.; MASETO, T. E.; DRESCH, D. M. Conservation of *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg seeds in different packaging and at varied temperatures. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 1, p. 262-269, 2013.
- SILVA, T. A.; SOUZA, L. A.; OLIVEIRA, L. M. Temperatura de germinação, sensibilidade à dessecação e armazenamento de sementes de jaqueira. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 4, p. 436-439, 2007.
- SOUZA, V. C. DE; BRUNO, R. DE L. A.; ANDRADE, L. A. Vigor de sementes armazenadas de ipê-amarelo *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 29, n. 6, p. 833-841, 2005.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.819.
- TERTULIANO, M. F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. **New Phytologist**, v. 123, p. 741-749, 1993.
- VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E. de; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 805-810, 2006.
- VAN DEN ENDE, W.; MICHIELS, A.; DE ROOVER, J.; VERHAERT, P.; VAN LAERE, A. Cloning and functional analysis of chicory root fructan 1-exohydrolase I (1-FEH I): a vacuolar enzyme derived from a cell-wall invertase ancestor? Mass fingerprint of the 1-FEH I enzyme. **Plant Journal**, n. 24, p. 447-456, 2000.
- VEREYKEN, I. J.; CHUPIN, V.; DEMEL, R. A.; SMEEKENS, S. C. M.; DE KRUIJFF, B. Fructans insert between the headgroups of phospholipids. **Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes**, n. 1510, p. 307-320, 2001.
- VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, secagem e beneficiamento de sementes. In. FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, R. (Ogs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 265-281 p.
- VILLALOBOS, R.; HERRERA, J.; MORA-URPI, J. Germinacion de la semilla de pejibaye. III. Efecto del contenido de agua y de las condiciones de almacenamiento. **Agronomica Costarricense**, San José, v. 16, n. 1, p. 69-76, 1992.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, Zürich, n. 8, p. 223-244, 1998.

CAPÍTULO IV

REDUÇÃO DA SENSIBILIDADE À DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O. BERG

RESUMO – (Redução da sensibilidade à dessecação em sementes de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg). Objetivou-se neste trabalho reduzir a sensibilidade à dessecação em sementes de *Campomanesia adamantium* utilizando polietileno glicol e ácido abscísico (ABA). As sementes foram submetidas, por 120 horas, ao condicionamento com polietileno glicol (PEG) nos potenciais de -1,48 e -2,04 MPa, associada ou não com ABA (100µM). As sementes que não foram submetidas aos tratamentos constituíram o controle. As sementes foram desidratadas por meio da secagem em sílica gel (rápida) e ambiente de laboratório (lenta) atingindo os teores de água de 20, 15 e 10%, posteriormente as sementes foram pré-umidificadas e avaliadas quanto ao potencial fisiológico por meio dos testes de protrusão da raiz primária, porcentagem de plântulas normais, índice de velocidade de germinação, comprimento de plântulas (parte aérea, raiz primária e total) e massa seca total. O delineamento foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância com comparação de médias pelo teste de Scott-Knott. O tratamento com polietileno glicol -1,48 MPa sem ácido abscísico e posterior secagem em sílica gel (rápida) no teor de água de 15% foi eficiente para induzir a redução da sensibilidade à dessecação nas sementes de *C. adamantium*. O osmocondicionamento associado ou não ao ácido abscísico não induz a redução da sensibilidade à dessecação das sementes nos teores de água de 20, 15 e 10% quando submetidas a secagem em ambiente de laboratório (lenta).

Palavras-chaves: Guavira, secagem, condicionamento osmótico, ácido abscísico.

ABSTRACT - (Reduction of desiccation sensitivity in *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg seeds). The objective of this work was the reduction of desiccation sensitivity in *Campomanesia adamantium* by priming with polyethylene glycol and abscisic acid (ABA). The seeds were submitted to osmotic treatments with polyethylene glycol (PEG) at concentrations of -1.48 and -2.04 MPa associated, or not, with ABA (100 µM), for 120 hours. Seeds not subjected to these treatments constituted the controls. The seeds were then dehydrated over activated silica gel (fast drying) or under room-temperature conditions (slow drying) to water content reductions of 20, 15 and 10%. The seeds were subsequently pre-humidified and evaluated for their physiological potentials based on primary radicle protrusion, percentage of normal seedlings, their germination speed index, seedling length (shoot, primary root, and total), and total dry mass. The experimental design was randomized and the data submitted to analysis of variance for comparison of means using the Scott-Knott test. Treatment with polyethylene glycol (-1.48 MPa) without abscisic acid and subsequent drying over silica gel (fast) to a water content of 15% was efficient in reducing sensitivity to desiccation in *C. adamantium* seeds. Osmoprimering associated, or not, with abscisic acid did not induce sensitivity to desiccation in seeds with water contents of 20, 15 and 10% when subjected to slow drying.

Keywords: Guavira, drying, osmotic conditioning, abscisic acid (ABA).

1 INTRODUÇÃO

A *Campomanesia adamantium*, popularmente conhecida como guavira ou gabioba, é uma frutífera nativa e não cultivada, porém abundante na região de Campos e Cerrado de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul até Santa Catarina, ocorrendo também no Uruguai, Argentina e Paraguai (LORENZI, 2008). Floresce

nos meses de setembro a novembro. Os frutos amadurecem de novembro a dezembro, apresentando formato redondo, de coloração que varia do verde-escuro ao verde-claro e amarelo e apresentam potencial para serem utilizados "*in natura*", na indústria de alimentos e como flavorizantes na indústria de bebidas. Suas folhas e frutos possuem propriedades medicinais como antiinflamatória, antidiarréica e antisséptica das vias urinárias (PIVA, 2002; VALLILO et al., 2006a; VALLILO et al., 2006b). A propagação dessa espécie é realizada por sementes, porém não suportam o armazenamento em temperaturas em baixas e apresentam intolerância à dessecação (MELCHIOR et al., 2006; LORENZI, 2008).

A tolerância à dessecação é referida como a capacidade de um organismo sobreviver a um extremo de desidratação, em que o conteúdo de água do protoplasma seja igual ou inferior a 0,1g por g de massa seca (g.g^{-1}) (VERTUCCI e FARRANT, 1995; WALTERS et al., 2005; BERJAK, 2006). De acordo com Walters (2000) há gradientes de tolerância à dessecação entre as sementes, oscilando das mais intolerantes (altamente recalcitrantes) até as mais tolerantes (ortodoxas clássicas). As sementes sensíveis à dessecação (recalcitrantes) não suportam a secagem e, se armazenadas com conteúdo de água elevado, o crescimento do embrião não é interrompido (PRITCHARD et al., 2004).

O primeiro conjunto de mecanismos responsáveis pela aquisição de tolerância à dessecação envolve alterações das características físicas intracelulares, incluindo a diminuição de vacúolos, proteção à integridade do DNA e o desmantelamento ordenado dos elementos do citoesqueleto; enquanto que o segundo conjunto de mecanismos relaciona-se à desdiferenciação e drástica redução do metabolismo intracelular (BERJAK e PAMMENTER, 2008).

O condicionamento osmótico é uma técnica utilizada para aumentar a capacidade de germinação das sementes e sua tolerância a diversos ambientes, bem como reduzir o tempo entre a semeadura e a emergência das plântulas (BRACCINI et al., 1996). Essa técnica consiste na hidratação controlada de sementes até um determinado nível, de modo a permitir a ocorrência das etapas iniciais do processo de germinação, sem, contudo, ocorrer a protrusão da radícula (CARVALHO et al., 2000). Dentre as substâncias utilizadas no osmocondicionamento, predomina o uso do polietileno glicol (PEG), um agente osmótico macromolecular, atóxico para as sementes por não penetrar no tegumento devido ao elevado peso molecular (VILLELA et al., 1991). Para o condicionamento da maioria das espécies, o

potencial osmótico da solução deve variar de -0,5 a -2,0 MPa e a temperatura estar entre 10 e 25°C, sendo, geralmente indicada a temperatura para a germinação das sementes (BEWLEY e BLACK, 1994; NASCIMENTO, 1998).

O ABA (ácido abscísico) está relacionado, direta ou indiretamente, à tolerância à dessecação, sendo que sua síntese está ligada ao estágio de maturação da semente, bem como ao estímulo da síntese de carboidratos e expressão de genes relacionados à tolerância à dessecação (BARBEDO e BILIA, 1998; BARBEDO e MARCOS FILHO, 1998; BARTELS, 2005). A aplicação exógena de ABA em sementes recalcitrantes, além de estimular o acúmulo de proteínas de reserva, resulta em inibição mais evidente da germinação do que a causada pelos níveis internos de ABA das sementes (FONSECA e FREIRE, 2003).

Os efeitos da secagem das sementes pós-condicionamento depende de cada espécie, pois respondem diferencialmente à desidratação, porém o sucesso da semente condicionada, usualmente, requer secagem e esse conteúdo de água dependerá da espécie e das condições de armazenamento (SANTOS et al., 2008). Na secagem lenta, as sementes permanecem expostas por um período de hidratação que permite a ocorrência de reações deletérias, inclusive as causadas por radicais livres e a secagem rápida promove estagnação tanto da atividade bioquímica como das reações degradativas que normalmente resultam na perda da viabilidade quando as sementes apresentam teores elevados de água (BERJAK et al., 1993; MARCOS FILHO, 2005).

Estudos realizados por Andréo et al. (2006) com embriões de sementes recalcitrantes de *Inga vera* Will. subsp. *affinis* (DC.) T. D. Pennington (ingá), mostraram que o controle da mobilização de água entre a semente e o meio, proporcionaram embriões com germinação superior a 80% após 90 dias de armazenamento a 10°C, quando condicionados em soluções de PEG a -2,4 MPa. Entretanto, Bonjovani e Barbedo (2008) utilizando embriões de *I. vera* em diferentes estádios de maturação, observaram que, embora nenhum tratamento tenha proporcionado tolerância à temperatura de -18°C, a secagem dos embriões maduros a -4 MPa proporcionou maior tolerância à redução de temperatura até níveis de congelamento da água (-2°C). Barbedo e Cicero (2000) relatam que sementes de *Inga uruguensis* Hook. & Arn. (ingá) armazenadas hidratadas e embebidas em solução de ácido abscísico 100 µM, a 10°C, podem apresentar germinação superior a 80% após 40 dias. Apesar de numerosos estudos sobre a aquisição de tolerância a dessecação

em embriões e sementes, são escassos os trabalhos que visem a redução da sensibilidade à dessecação em sementes recalcitrantes, para fins de armazenamento e conservação em bancos de germoplasma.

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi reduzir a sensibilidade à dessecação em sementes de *C. adamantium* utilizando polietileno glicol e ácido abscísico (ABA).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Campomanesia adamantium* foram coletados no mês de novembro/2012, a partir de 20 matrizes localizadas em região de Cerrado (*stricto sensu*), na cidade de Ponta Porã-MS. Após a coleta, os frutos foram levados ao Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), em Dourados-MS, onde foram lavados em água corrente, descartando-se os frutos danificados. Posteriormente, os frutos foram processados manualmente e sobre peneiras para a separação das sementes. Em seguida, as sementes foram lavadas e acondicionadas sobre papel Germitest[®] para retirada do excesso de umidade.

Após a secagem superficial das sementes por 40 minutos em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, 32% UR), foi retirada uma amostra para caracterizar o tratamento controle (sem tratamento osmótico e ABA). Posteriormente, as sementes remanescentes foram submetidas, por 120 horas, à embebição com PEG (6000) nos potenciais de -1,48 e -2,04 MPa, associado ou não com ABA na concentração de $100\mu\text{M}$ e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25°C . Após a retirada das sementes do condicionamento osmótico procedeu-se a lavagem em água corrente por cinco minutos, para remoção da solução de condicionante e secagem superficial (por 10 minutos em temperatura ambiente $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 32% UR), em folha de papel toalha. Em seguida, as sementes foram submetidas à secagem em sílica gel ativada (8% UR) (secagem rápida) e à secagem em condições de ambiente de laboratório ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 35 UR%) (secagem lenta).

A secagem em sílica-gel foi conduzida pela disposição das sementes no interior de “gerbox” com sílica gel ao fundo, sendo feita a troca da sílica-gel assim que a camada superficial perdia a coloração azul indicativa e tornava-se rosa. Para a secagem lenta, as sementes foram acondicionadas dentro de recipientes plásticos sem tampa. Ambas as secagens ocorreram em temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 35

UR%). Posteriormente a cada hora, as sementes foram pesadas até que atingissem os pontos pré-estabelecidos (20, 15 e 10%), conforme a fórmula de Sacandé et al. (2004). Após a obtenção dos graus de umidade desejados nas duas condições de secagem, as sementes foram pré-umidificadas em 100% UR e a 25°C sob luz branca constante por 24 horas, para que fossem evitados danos por embebição, e posteriormente, foram determinadas as seguintes características para avaliação do potencial fisiológico:

Teor de água: foi determinado a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 h, pelo método da estufa (BRASIL, 2009), com três repetições de 5g de sementes cada e os resultados foram expressos em base úmida.

Curva de embebição: as sementes foram dispostas em copos plásticos com altura/diâmetro de 4cm/5cm com dupla camada de papel Germitest[®], e embebidas com 1 mL das soluções dos tratamentos: 1) água destilada, 2) -1,48 MPa de PEG (6000), 3) -1,48 MPa + ABA (100 μM), 4) -2,01 MPa, 5) -2,01MPa + ABA. Foram utilizadas duas repetições com seis sementes para cada tratamento. A embebição foi avaliada de hora em hora, durante as oito primeiras horas, e nas subsequentes horas, de 24 em 24 horas, até 144 horas. As sementes submetidas ao condicionamento foram lavadas em água corrente antes da pesagem, para remoção da solução de condicionante.

Protrusão da raiz primária: foi realizada em rolos de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25 °C (constante), sob luz branca. As avaliações ocorreram diariamente, considerando-se a protrusão da raiz quando atingissem 5 mm ou mais de comprimento. Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Porcentagem de plântulas normais: foi realizada em rolos de papel Germitest[®] com quatro repetições de 25 sementes cada e mantidas em germinadores do tipo B.O.D. na temperatura de 25°C (constante), sob luz branca. As avaliações foram realizadas aos quarenta e dois dias após a semeadura, computando-se as porcentagens de plântulas normais utilizando-se como critério a emissão de parte aérea e sistema radicular desenvolvido (DRESCH et al., 2012). Os resultados foram expressos em porcentagem (%).

Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire

(1962): $IVG = (G_1/N_1) + (G_2/N_2) + (G_3/N_3) + \dots + (G_n/N_n)$, em que: IVG = índice de velocidade de germinação, $G_1, G_2, G_3, \dots, G_n$ = número de plântulas computadas na primeira, segunda, terceira e última contagem; $N_1, N_2, N_3, \dots, N_n$ = número de dias da sementeira à primeira, segunda, terceira e última contagem.

Comprimento de plântulas: obtido por meio das medidas do comprimento da parte aérea, raiz primária e total das plântulas, com auxílio de régua graduada em milímetros. Os resultados foram expressos em centímetros (cm).

Massa seca total : obtida a partir das plântulas secas em estufa regulada a 60°C por 48 horas, até obtenção de massa seca constante, medida em balança analítica de precisão (0,0001g) e os resultados foram expressos em gramas (g).

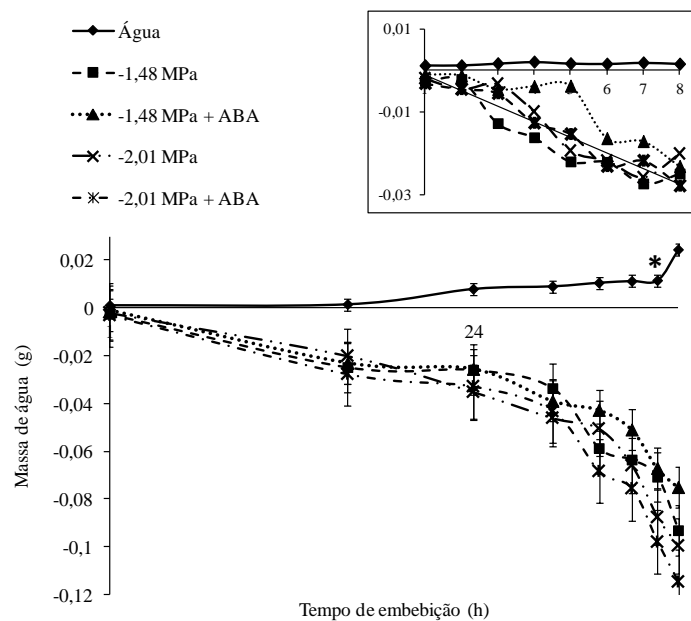
O experimento foi dividido em duas etapas: a primeira com a secagem em sílica gel ativada (rápida) e a segunda etapa com a secagem em condições de ambiente de laboratório (lenta). Para cada etapa o delineamento foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à análise de variância com comparação de médias pelo teste de Scott-Knott á 5% de probabilidade, utilizando-se o software SISVAR (FERREIRA, 2008). Os dados da curva de secagem e teores de água foram apresentados na forma de médias e desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela curva de embebição observa-se aumento gradativo dos valores de massa e de teores de água das sementes de *Campomanesia adamantium* embebidas em água destilada (Figura 1a, b) e após 120 horas de embebição, as sementes apresentaram protrusão da raiz primária.

O osmocondicionamento das sementes em soluções, com adição ou não de ABA, proporcionou a desidratação lenta ao longo das 144 horas (Figura 1b), não permitindo atingir a fase III, correspondente à protrusão da raiz primária, no padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994).

a)



b)

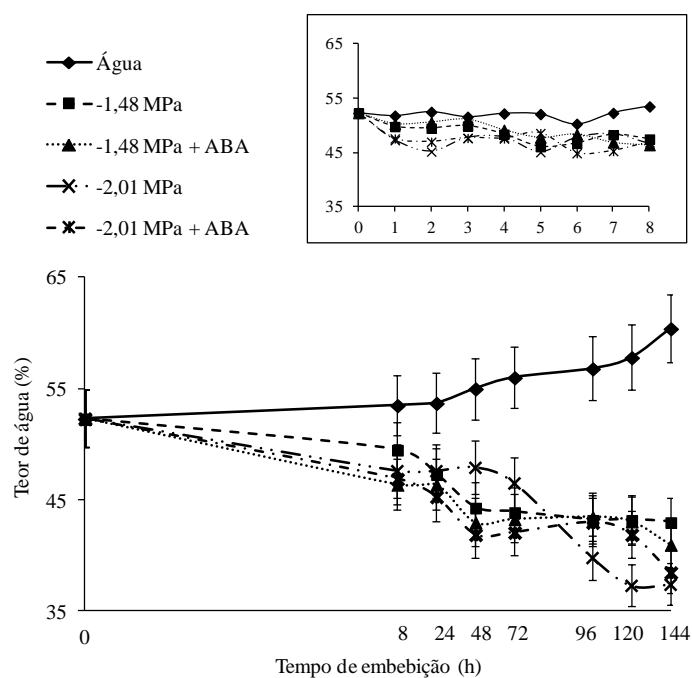


FIGURA 1. Curva de embebição (a) e teores de água (%) (b) de sementes de *Campomanesia adamantium* submetidas ao tratamento com polietileno glicol (PEG) (-1,48 e -2,01 MPa com adição ou não de ácido abscísico (ABA) e controle (água), durante a embebição. As barras indicam o desvio padrão das médias. (*) Protrusão da raiz primária. Dourados/MS, UFGD, 2013.

Secagem em sílica gel ativada (secagem rápida)

Para protrusão da raiz primária, os maiores valores foram observados nas sementes embebidas no PEG à -2,01 MPa sem ABA e PEG à -2,01 MPa com ABA, ambas posteriormente submetidas a secagem no teor de água de 20% (80 e 77%,

respectivamente) e para o tratamento PEG à -1,48 MPa sem ABA e à -2,01 MPa com ABA ambas submetidas a secagem no teor de água de 15% (85 e 82%, respectivamente). Possivelmente, esses resultados elevados da protrusão da raiz primária em comparação aos demais tratamentos, indiquem que a desidratação lenta ocasionada pela incubação em PEG estimulou os mecanismos de prevenção ao estresse, isto porque, segundo Vieira (2008), as mudanças nas respostas fisiológicas resultantes do estresse osmótico são decorrência de alterações na expressão gênica.

QUADRO 1. Protrusão da raiz primária (PROT) (%), porcentagem de plântulas normais (PN) (%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento da parte aérea (CPA) (cm), comprimento da raiz primária (CR) (cm), comprimento total (CT) (cm) e massa seca total (MST) (g) de *Campomanesia adamantium* submetidas aos tratamentos de polietileno glicol (PEG) -1,48 e -2,01 MPa associados ou não com ácido abscísico (ABA) durante a embebição e posterior secagem em sílica gel em diferentes teores de água.

Tratamentos			Variáveis						
Água	PEG	ABA	PROT	PN	IVG	CPA	CR	CT	MST
20%	0,00	SEM	66,0 b	63,0 b	1,2362 a	3,50 a	6,24 a	9,76 b	0,0311 b
		SEM	48,0 c	35,0 c	0,5809 c	2,32 d	4,58 b	6,89 d	0,0292 b
	-1,48	COM	62,0 b	21,0 d	1,1242 a	2,40 d	1,76 c	4,16 e	0,0335 b
		SEM	80,0 a	72,0 b	1,1995 a	3,79 a	7,16 a	10,95 a	0,0327 b
	-2,01	COM	77,0 a	70,0 b	1,2962 a	3,70 a	7,58 a	11,28 a	0,0326 b
		SEM	51,0 c	16,0 d	0,8518 b	2,52 d	1,98 c	4,49 e	0,0318 b
15%	0,00	SEM	85,0 a	84,0 a	1,3838 a	3,56 a	8,29 a	11,85 a	0,0300 b
		SEM	37,0 d	34,7 c	0,4705 c	2,85 d	4,14 b	6,99 d	0,0397 a
	-1,48	COM	41,0 d	34,7 c	0,5000 c	3,34 a	6,57 a	9,90 b	0,0358 a
		SEM	82,0 a	69,3 b	1,3134 a	3,40 a	5,39 b	8,78 c	0,0387 a
	-2,01	COM	50,0 c	38,0 c	0,8560 b	3,63 a	5,59 b	9,22 b	0,0273 b
		SEM	30,0 e	20,0 d	0,5323 c	1,99 c	3,05 c	5,04 e	0,0128 c
10%	0,00	SEM	23,0 e	20,0 e	0,4356 c	1,99 c	3,05 c	5,04 e	0,0039 d
		SEM	2,0 f	0,00 e	0,0275 d	0,00 d	0,00 d	0,00 f	0,0000 d
	-1,48	COM	2,0 f	0,00 e	0,0500 d	0,00 d	0,00 d	0,00 f	0,0000 d
		SEM	16,01	14,71	15,30	11,57	22,74	15,20	16,40
	-2,01	COM	2,0 f	0,00 e	0,0500 d	0,00 d	0,00 d	0,00 f	0,0000 d
		SEM	16,01	14,71	15,30	11,57	22,74	15,20	16,40
C.V.			16,01	14,71	15,30	11,57	22,74	15,20	16,40

A secagem no teor de água de 10% após condicionamento osmótico acelerou o processo de deterioração das sementes, de modo que na concentração de PEG de -2,01 MPa associada ou não com ABA proporcionou acentuada redução da protrusão da raiz primária, e conseqüentemente inviabilizou o crescimento de plântulas normais. Esses resultados indicam que o PEG e o ABA, nas concentrações avaliadas não foram eficientes para reduzir a sensibilidade à dessecação das sementes de *C.adamantium* (Quadro 1).

A embebição das sementes no potencial osmótico de -1,48 MPa sem adição de ABA e posterior secagem no teor de água de 15% proporcionaram os maiores resultados para a porcentagem de plântulas normais (84%). Possivelmente, a embebição lenta (PEG) sem a utilização de ABA na forma exógena e submetidas a secagem até o teor de água de 15%, permitiu a síntese de ABA durante a germinação e conseqüentemente, desencadeou os mecanismos de proteção à dessecação. Vários estudos têm apontado que o estresse causado pelo déficit hídrico e diminuição do volume celular durante a dessecação induzem o acúmulo de ácido abscísico (ABA) (TAYLOR et al., 2000; JIA et al., 2001).

Bruggink et al. (1999) verificaram que a incubação das sementes de *Impatiens walleriana* Hook. F. (maria-sem-vergonha) em PEG 8000 foi eficiente para evitar a redução do potencial de armazenamento. Vieira et al. (2010) constataram que a incubação de plântulas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. (ipê-roxo) em PEG e ABA aumenta consideravelmente a capacidade de reindução à tolerância a dessecação, indicando o papel relevante do ABA nesse processo. Entretanto, para a espécie *Alliaria petiolata* (M. Bieb.) Cavara e Grande (erva-alheira), apenas a aplicação do PEG proporcionou a reindução a tolerância à dessecação em radículas de 2,5 mm de comprimento, submetidas à secagem com sílica gel (VIEIRA, 2008). De maneira semelhante, Masetto (2008) observou a eficiência da aplicação de PEG na reindução da tolerância à dessecação em sementes *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (sarazinho) com a radícula acima de 2 mm e teores de água de 20%.

No índice de velocidade de germinação (IVG), os maiores resultados foram observados nas sementes embebidas nos tratamentos osmóticos de PEG -1,48 MPa com ABA (1,1242), PEG -2,01 MPa sem e com ABA (1,1995 e 1,2962, respectivamente) e posterior secagem no teor de água de 20% e nos tratamentos osmóticos de PEG -1,48 MPa sem ABA (1,3838) e PEG -2,01 MPa com ABA (1,3184) e posterior secagem no teor de água de 15%. Embora esses resultados não tenham variado estatisticamente entre si, a desidratação ao teor de água 15% seria mais favorável que a 20% para fins de armazenamento e conservação de sementes de *C. adamantium*. A secagem pode ampliar a longevidade das sementes, reduzindo as reações metabólicas e dificultando a ação de microrganismos e insetos prejudiciais à sua conservação (VILLELA e PERES, 2004; CARVALHO e NAKAGAWA, 2012).

A velocidade de germinação e o comprimento da parte aérea e da raiz primária foram influenciados negativamente pelos tratamentos osmóticos e pela remoção da água decorrente da dessecação ao teor de água de 10%. Segundo Black e Pritchard (2002), a dessecação é prejudicial por vários motivos, entre eles os danos que incidem no citoesqueleto como resultado das mudanças que ocorrem no volume celular.

Com relação à massa seca total, os maiores acúmulos de biomassa foram observados nas plântulas provenientes de sementes embebidas no PEG -1,48 com ABA e posterior secagem nos teores de água 15% (0,0397 g) e no PEG -2,01 MPa com e sem ABA e posterior secagem no teor de água de 15% (0,0358 e 0,0387 g, respectivamente).

De acordo com os resultados, o condicionamento prévio com PEG -1,48 MPa sem ABA e posterior secagem em sílica gel ativada até o teor de água de 15% foi eficiente para reduzir a sensibilidade à dessecação em sementes de *C. adamantium*. De acordo com Pammenter et al. (1998), em sementes sensíveis a dessecação, quanto mais rápida a secagem mais baixo é o conteúdo de água que a semente pode tolerar, pelo fato de não haver tempo suficiente para o progresso de reações de efeito deletério que causariam a perda da viabilidade em materiais intolerantes à dessecação.

Secagem em condições de ambiente de laboratório (secagem lenta)

Para a protrusão da raiz primária, porcentagem de plântulas normais e índice de velocidade de germinação, os maiores resultados foram observados nas sementes que não foram submetidas ao tratamento osmótico e ao ABA e com redução do teor de água de 20% (83%, 71% e 1,5475 respectivamente) (Quadro 2).

A embebição das sementes nos tratamentos osmóticos e posterior secagem em condições de laboratório nos teores de 20, 15 e 10% influenciaram negativamente na germinação das sementes. Possivelmente, a secagem em condições de ambiente de laboratório após os tratamentos osmóticos ocasionou a aceleração no processo de deterioração das sementes, visto que, durante a incubação no PEG ocorre uma desidratação lenta e o início das atividades metabólicas, as quais são reduzidas com a secagem em condições de laboratório (lenta) que ocorre por um período prolongado, e conseqüentemente favorece a ocorrência de reações catabólicas.

As células naturalmente tolerantes à dessecação, quando mantidas com graus de umidade associados à ocorrência de atividades catabólicas, podem sofrer danos mais severos se permanecerem nessas condições durante período prolongado, quando comparadas às secadas rapidamente (VERTUCCI e FARRANT, 1995). Além disso, a secagem lenta pode promover o aumento das proteínas de maturação (termorresistentes), no entanto estas proteínas sozinhas não são capazes de promover a tolerância à dessecação e, conseqüentemente, manter a viabilidade das sementes (BLACKMAN et al., 1992).

QUADRO 2. Protrusão da raiz primária (PROT) (%), porcentagem de plântulas normais (PN) (%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de parte aérea (CPA) (cm), comprimento de raiz primária (CR) (cm), comprimento total (CT) (cm) e massa seca total (MST) (g) de *Campomanesia adamantium* submetidas aos tratamentos de polietileno glicol (PEG) -1,48 e -2,01 MPa associados ou não com ácido abscísico (ABA) durante a embebição e posterior secagem em ambiente de laboratório (lenta) em diferentes teores de água.

Tratamentos			Variáveis						
Água	PEG	ABA	PROT	PN	IVG	CPA	CR	CT	MST
20%	0,00	SEM	83,0 a	71,0 a	1,5475 a	3,69 a	7,58 a	11,27 a	0,0369 a
		SEM	58,0 b	44,0 b	0,8204 b	2,81 b	5,04 b	7,85 b	0,0361 a
	-1,48	COM	46,0 c	34,7 d	0,9095 b	2,56 b	1,95 c	4,51 d	0,0330 a
		SEM	57,0 b	12,0 e	0,7877 b	2,19 c	1,19 d	3,37 d	0,0323 a
	-2,01	COM	60,0 b	45,3 b	0,8876 b	2,82 b	4,17 b	6,99 b	0,0325 a
		SEM	61,0 b	43,0 b	0,9061 b	2,84 b	4,22 b	7,07 b	0,0308 a
15%	0,00	SEM	46,0 c	33,4 c	0,8132 b	2,52 b	2,80 c	5,32 c	0,0306 a
	-1,48	COM	26,0 e	20,0 e	0,3068 d	2,27 c	2,81 c	5,08 c	0,0210 b
		SEM	36,0 d	28,0 d	0,6189 c	2,62 b	2,62 c	5,24 c	0,0323 a
	-2,01	COM	16,0 f	0,00 f	0,2012 d	0,00 d	0,00 d	0,00 e	0,0000 c
	0,00	SEM	38,0 d	17,3 e	0,5629 c	2,37 c	1,95 d	4,33 d	0,0416 a
		SEM	24,0 e	15,0 e	0,3907 d	2,55 b	3,24 c	5,79 c	0,0332 a
10%	-1,48	COM	32,0 d	18,0 e	0,5844 c	2,45 c	1,94 c	4,38 d	0,0363 a
		SEM	33,0 d	34,0 d	0,4760 c	2,54 b	3,72 b	6,25 c	0,0239 b
	-2,01	COM	12,0 f	15,3 e	0,1593 e	2,08 c	3,79 b	5,87 c	0,0359 a
		SEM	14,94	22,37	14,00	9,66	29,06	18,67	20,52
C.V.									

O tratamento osmótico de PEG à -2,01 MPa com ABA e posterior secagem lenta no teor de água de 15% inviabilizou completamente o crescimento das plântulas (Quadro 2). Possivelmente, o tratamento osmótico combinado com o ABA não evitou os danos causados pela dessecação e não permitiu ativação dos mecanismos de reparo ao estresse osmótico e hídrico. Segundo Osborne e Boubriak (1994), quando os tecidos sensíveis à dessecação estão expostos a potenciais de água

inferiores -2 MPa, a desidratação pode levar à perda da organização da membrana, da integridade celular e degradação de macromoléculas.

Para o comprimento da parte aérea, raiz primária e total os melhores resultados foram observados nas sementes não submetidas ao tratamento osmótico e ao ABA e posterior secagem no teor de água de 20% (3,69; 7,58 e 11,27 cm; respectivamente) (Quadro 2). Esses resultados evidenciam que a utilização de tratamentos osmóticos associados ou não com ABA não contribuíram para desencadear mecanismos de proteção à desidratação em níveis inferiores a 20%, e consequentemente, reduzir a sensibilidade   desseca o das sementes.

Para a massa seca total, os tratamentos utilizados não diferiram estatisticamente entre si, exceto os tratamentos osmóticos de -1,48 MPa e -2,01 MPa ambos associados com ABA e posterior secagem no teor de água de 15% e -2,01 MPa sem ABA e posterior secagem no teor de água de 10% que proporcionaram os menores acúmulos de biomassa (0,0210; 0,0000 e 0,0239 g, respectivamente) (Quadro 2).

Diante dos resultados obtidos com a utiliza o dos tratamentos osmóticos, combinado ou não com o ABA e posterior secagem em condi es de laboratório (lenta) nos diferentes teores de água, não foi possível reduzir a sensibilidade   desseca o em sementes de *C. adamantium*.

Trabalhos futuros utilizando sementes tratadas com PEG -1,48 MPa sem ABA e posterior secagem em sílica gel (rápida) até o teor de água de 15% e investigando temperaturas e períodos de armazenamento, podem proporcionar maiores benefícios na conserva o da viabilidade de sementes de *C. adamantium*.

4 CONCLUSÕES

O tratamento com polietileno glicol -1,48 MPa sem associa o com ácido abscísico e posterior secagem em sílica gel (rápida) no teor de água de 15% foi eficiente para induzir a redu o da sensibilidade   desseca o nas sementes de *C. adamantium*.

O osmocondicionamento associado ou não ao ácido abscísico não induz a redu o da sensibilidade   desseca o em sementes de *C. adamantium* nos teores de água de 20, 15 e 10% quando submetidas a secagem em condi es de laboratório (lenta).

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRÉO, Y.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, C. J. Mobilização de água e conservação da viabilidade de embriões de sementes recalcitrantes de ingá (*Inga vera* Will. subsp. *affinis* (DC.) T. D. Pennington). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, n. 29, p. 309-318, 2006.

BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 121-125, 1998.

BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 145-164, 1998.

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Effects of initial quality, low temperature and ABA on the storage of seeds of *Ingá uruguensis*, a tropical species with recalcitrant seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, p. 793-808, 2000.

BARTELS, D. Desiccation tolerance studied in resurrection plant *Caterostigma plantagineum*. **Integrative and Comparative Biology**, McLean, v. 45, p. 696-701, 2005.

BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2006.

BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W.; WESLEY-SMITH, J. Current understanding of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds: Development, states of water and responses to dehydration and freezing. In: CÔME D, CORBINEAU F, Editors. **Proceedings of the Fourth International Workshop on Seeds: Basic and applied aspects of seed biology**. Paris: ASFIS; 1993. pp. 715-722.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicennia* to *Zizania*: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, London, v. 101, n. 2, p. 213-228, 2008.

BEWLEY, J. D, BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 455p. 1994.

BLACKMAN, S. A.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. **Plant Physiology, Washington**, v. 100, p. 225-230, 1992.

BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. New York: CAB International, 2002. 382 p.

BONJOVANI, M. R.; BARBEDO, C. J. Sementes recalcitrantes: intolerantes a baixas temperaturas? Embriões recalcitrantes de *Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.) TD Penn. toleram temperatura sub-zero. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 345-356, 2008.

BRACCINI, A. L.; DIAS, D. C. F. S.; REIS, M. S. Tratamentos pré-germinativos e sua importância nos estudos de tecnologia de sementes. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 6, n. 2/3, p. 51-56, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Regras para análises de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 399 pp. 2009.

BRUGGINK, G. T.; OOMS, J. J. J.; Van der TOORN, P. Induction of longevity in primed seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, p. 49-53, 1999.

CARVALHO, L. F.; MEDEIROS-FILHO, S.; ROSSETTI, A. G.; TEÓFILO, E. M. Condicionamento osmótico em sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 185-192, 2000.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

DRESCH, D. M.; SCALON, S. P. Q.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. C. Germinação de sementes de *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg em diferentes temperaturas e umidades do substrato. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 40, v. 94, p. 223-229, 2012.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Campinas, v. 6, p. 36-41, 2008.

FONSECA, S. C. L.; FREIRE, H. B. Sementes recalcitrantes: problemas na pós-colheita. **Bragantia**, Campinas, v. 62, n. 2, p. 297-303, 2003.

JIA, W.; LIANG, J.; ZHANG, J. Initiation and regulation of water deficit-induced abscisic acid accumulation in maize leaves and roots: cellular volume and water relations. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 355, p. 295-300, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras - manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v. 1, 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 384 p.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MASETTO, T. E. **Restabelecimento da tolerância à dessecação em sementes germinadas de *Sesbania virgata* e *Cedrela fissilis***. 2008. 82 p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MELCHIOR, S. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MARQUES, T. A.; MACHADO NETO, N. B. Colheita e armazenamento de sementes de gabioba (*Campomanesia adamantium*

Camb. - Myrtaceae) e implicações na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 141-150, 2006.

NASCIMENTO, W. M. Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças: potencialidades e implicações. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, p. 106-109, 1998.

OSBORNE, D. J, BOUBRIAK I. DNA and desiccation tolerance. **Seed Science Research**, Zurich, v. 4, p. 175–185, 1994.

PAMMENTER, N. W.; GREGGAINS, V.; KIOKO, J. I.; WESLEY-SMITH, J.; BERJAK, P.; FINCH-SAVAGE, W. E. Effects of differential drying rates on viability of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 4 p. 463-471, 1998.

PRITCHARD, H. W.; DAWS, M. I.; FLETCHER, B. J.; GAMÉNÉ, C. S.; MSANGA, H. P.; OMONDI, W. Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical african dryland trees. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 91, n. 6, p. 863-870, 2004.

PIVA, M. G. **O caminho das plantas medicinais**: estudo etnobotânico. Rio de Janeiro: Mondrian, 2002. 313 p.

SACANDÉ, M.; JOKER, D.; DULLOO, M.; THOMSEN, K. A. (Ed.) **Comparative storage biology of tropical tree seeds**. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 2004. 363p.

SANTOS, M. C. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, M. S. DE; SILVA, R. F. DA; SOUSA, P. A. de. Condicionamento osmótico de sementes. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 2, p. 1-6, 2008.

TAYLOR, I. B.; BURBIDAGE, A.; THOMPSON, A. J. Control of abscisic acid synthesis. **Journal Experimental of Botany**, Oxford, v. 51, n. 350, p. 1563-1574, 2000.

VALLILO, M. I.; BUSTILLOS, O. V.; AGUIAR, O. T. de Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg – Myrtaceae. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 18, n. único, p. 15-22, 2006a.

VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, 2006b.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: M.Dekker, 1995. p. 237-271.

VIEIRA, C. V. **Germinação e re-indução de tolerância à dessecação em sementes germinadas de *Tabebuia impetiginosa* e *Alliaria petiolata***. 2008. 98 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VIEIRA, C. V.; DA SILVA, E. A. A.; DE ALVARENGA, A. A.; DE CASTRO, E. M.; TOOROP, P. E. Stress-associated factors increase after desiccation of germinated seeds of *Tabebuia impetiginosa* Mart. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 62, n. 3, p. 257-263, 2010.

VILLELA, F. A.; DONI FILHO, L.; SIQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6000 e da temperatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 11/12, p. 1957-1968, 1991.

VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A. G.; F. BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 323.

WALTERS, C. Levels of recalcitrance in seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 12, p. 7-21, 2000.

WALTERS, C.; HILL, L. M. A.; WHEELER, L. M. Dying while dry: kinetics and mechanisms of deterioration in desiccated organisms. **Integrative and Comparative Biology**, New York, v. 45, n. 5, p. 751-758, 2005.