

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GERMINAÇÃO
DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA
(*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**

KELINE SOUSA ALBUQUERQUE

2006

KELINE SOUSA ALBUQUERQUE

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos
da Biblioteca Central da UFLA**

Albuquerque, Keline Sousa

Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) / Keline Sousa Albuquerque. – Lavras : UFLA, 2006.
90 p. : il.

Orientador: Renato Mendes Guimarães
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.

1. *Bowdichia virgilioides*. 2. Curva de embebição. 3. Isoenzima. 4. Eletroforese. 5. Dormência. 6. Germinação. 7. Temperatura. 8. Luz. 9. Raio X. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.97332

KELINE SOUSA ALBUQUERQUE

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 22 de fevereiro de 2006

Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho UFLA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira EPAMIG

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
UFLA
(ORIENTADOR)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2006

Aos meus pais Heraldo e Francinete, pelos ensinamentos,
dedicação e apoio em todos os momentos da minha vida.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que ilumina meu caminho e me dar forças para superar as dificuldades e seguir em frente.

A Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

Ao Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães, pelos ensinamentos, orientação e amizade.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho e pesquisador Dr. Antônio Rodrigues Vieira.

Aos professores do Setor de Sementes, Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho e Prof. Dr. João Almir de Oliveira, pelos conhecimentos transmitidos e auxílio na dissertação.

Ao Prof. Dr. Sebastião Medeiros Filho, pela minha iniciação na área de sementes e também por toda ajuda e incentivo para a realização do curso.

À Companhia Energética de Minas Gerais e ao pesquisador da Embrapa Dr. Oscar José Smiderle, pelo fornecimento das sementes.

Às funcionárias do Laboratório de Sementes (DAG), Elenir, Elza, Dalva e Andréia, por toda ajuda e amizade.

Aos amigos da minha querida república: Helena, Jean, Cleilson, Niná, Tessiê, Lívia e César, pelos maravilhosos momentos compartilhados e pela valiosa amizade.

Às amigas e bolsistas Ísis e Aline, pela grandiosa colaboração durante a execução dos trabalhos.

À amiga Marcela Nery, pelas sugestões e amizade.

Aos amigos do curso de pós-graduação, Mariney, Márcia, Carlos Eduardo, Paulo e Lucrécio pela amizade e convivência.

Enfim, a todos aqueles que estiveram presentes nessa fase da minha vida e que contribuíram, de uma forma ou de outra, para a realização desse trabalho.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO GERAL	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Importância e caracterização da espécie	3
2.2 Fisiologia da germinação	5
2.3 Dormência das sementes	8
2.4 Teste de raios X em sementes	10
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
CAPÍTULO 2 CURVA DE EMBEBIÇÃO E COMPORTAMENTO ENZIMÁTICO E PROTÉICO DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth.)	15
1 RESUMO	16
2 ABSTRACT	17
3 INTRODUÇÃO	18
4 MATERIAL E METODOS	20
4.1 Obtenção das sementes	20
4.2 Determinação do grau de umidade	20
4.3 Composição química	20
4.3.1 Determinação do extrato etéreo	21
4.3.2 Determinação do resíduo mineral fixo	21
4.3.3 Determinação da proteína bruta	21
4.3.4 Determinação da fibra bruta	22
4.4 Curva de embebição	22
4.5 Extração de isoenzimas	23
4.6 Extração de proteínas resistentes ao calor	23
4.7 Análise dos dados	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6 CONCLUSÕES	36
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPÍTULO 3 AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (<i>Bowdichia</i> <i>virgilioides</i> Kunth.)	40
1 RESUMO	41
2 ABSTRACT	42

3 INTRODUÇÃO	43
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 Obtenção das sementes	45
4.2 Determinação do grau de umidade.....	45
4.3 Tratamentos pré-germinativos	45
4.4 Teste de germinação.....	46
4.5 Análise dos dados.....	46
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6 CONCLUSÕES	53
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

CAPÍTULO 4 COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS E CONDIÇÕES DE LUZ.....

1 RESUMO	57
2 ABSTRACT.....	58
3 INTRODUÇÃO	59
4 MATERIAL E MÉTODOS	60
4.1 Obtenção das sementes	62
4.2 Determinação do grau de umidade.....	62
4.3 Teste de germinação.....	62
4.4 Análise dos dados.....	62
4.5 Análise dos dados.....	63
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
6 CONCLUSÃO	69
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70

CAPÍTULO 5 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) PELO TESTE DE RAIOS X.....

1 RESUMO	73
2 ABSTRACT.....	74
3 INTRODUÇÃO	75
4 MATERIAL E MÉTODOS	76
4.1 Obtenção das sementes	78
4.2 Determinação do grau de umidade.....	78
4.3 Teste de raios X.....	78
4.4 Teste de germinação.....	78
4.5 Teste de germinação.....	79
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
6 CONCLUSÃO	85
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
ANEXOS	88

RESUMO

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**. 2006. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Bowdichia virgilioides é uma espécie arbórea com ampla dispersão pelo Brasil, sendo bastante utilizada em programas de reflorestamento e na recuperação de áreas degradadas. A espécie vem sofrendo redução no número de indivíduos em seu ambiente natural, devido à exploração comercial desordenada. Além disso, a formação de mudas pode ser limitada, em função das condições de germinação. Objetivou-se com esta pesquisa, estudar a fisiologia da germinação de sementes de sucupira-preta, pelo comportamento das sementes durante a embebição e os fatores condicionantes da sua germinação como dormência, temperatura, luz e danos nas sementes. Foram utilizados lotes de sementes oriundos do estado do Ceará colhido em 2001 e de Roraima e Minas Gerais, ambos colhidos em 2003. O processo de embebição das sementes foi avaliado a cada 6 horas, observando aspectos morfológicos e bioquímicos. Para a superação da dormência, os tratamentos incluíram ácido sulfúrico, lixa e água quente. No teste de germinação foram testados os efeitos da luz e temperatura. O teste de raios X foi utilizado para a avaliação da qualidade das sementes. As sementes de sucupira-preta seguem um modelo trifásico de embebição e a protrusão radicular ocorre em torno de 114 horas, havendo algumas modificações em enzimas e proteínas resistentes ao calor durante os períodos de embebição. As sementes dessa espécie possuem dormência tegumentar, superada com ácido sulfúrico por 8 e 12 minutos. Para a condução do teste de germinação a temperatura constante de 25°C ou alternada de 20-30°C permitem uma maior porcentagem e velocidade de germinação; já a ausência de luz aumenta a velocidade de germinação. No teste de raios X, a radiação de 30 Kv por 45 segundos permite melhor visualização dos danos internos das sementes e que esses danos afetam a germinação.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Orientador); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profª. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

ABSTRACT

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. **Physiological aspects of black sucupira seed germination (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**. 2006. 90 p. Dissertation (Master degree in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

Bowdichia virgilioides is tree specie with broad dispersion in Brazil, being highly used in reforesting prgrams and recovery of the degraded areas. This specie is suffering a reduction in number in its native habitat, due the desordered commercial exploration. Inaddition to this fact, the seedling formation could be limited based in the germination conditions. This research aimed to study the seed physilogy germination of black sucupira, the seed alterations during the embebiton and the factors conditing its germination as dormancy, temperature, light and damage in the seeds. There were used lots of seeds from Ceará, harvested in 2001; Roraima and Minas Gerais, both harvested in 2003. The seed embebiton process was evaluated for each 6 hours, observing the morphological and biochemical aspects. For the dormancy overcoming, the treatments were sulfuric acid, sandpaper and hot water. In the germination test was tested the light and temperature effect in black sucupira seeds. The X ray test was used for seed quality evaluation. The seeds of black sucupira has a thiphasic model of embebiton and the root protrusion happen around 114 hours, ocurring some modifications in enzymes and proteins resistant to heat during the embebiton periods. The seeds of black sucupira have a tegumentar dorrmancy, overcoming with sulfuric acid by 8 and 12 minutes. For the germination test, the constant temperature of 25°C and alternate 20-30°C, allowing a higher percentage and germination speed and absence of light increase the germination speed. In the X ray test the radiation of 30 Kv for 45 seconds allow the best visualization of seeds internal damage and these damages affect the germination.

* Guidance Committee: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Adviser); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

As florestas tropicais possuem uma grande biodiversidade, com diversos potenciais de utilização. Entretanto seu equilíbrio tem sido afetado nos últimos anos, devido à exploração predatória e à expansão da fronteira agrícola, causando um desequilíbrio desse ecossistema.

Atualmente várias pesquisas têm voltado sua atenção para a preservação dos recursos naturais, ressaltando-se a necessidade de recuperação de áreas degradadas e recomposição da paisagem. Diversos programas de reflorestamento têm sido implantados, contudo, para que esses programas tenham sucesso, é necessário o conhecimento das bases fisiológicas da germinação das espécies a serem utilizadas para o reflorestamento, fornecendo subsídios para a compreensão da regeneração natural e a tecnologia de produção de mudas.

Estudos dessa natureza se fazem necessários para a obtenção de informações básicas sobre germinação, cultivo e potencialidades das espécies estudadas, sejam com finalidade econômica ou preservacionista, visando à sua exploração de forma racional.

Diversas espécies com potenciais para serem implantadas em ambientes degradados foram identificadas, entre elas, a *Bowdichia virgilioides*, popularmente conhecida como sucupira-preta. Entretanto, estudos relacionados ao comportamento fisiológico dessa espécie ainda são escassos.

Nesta pesquisa foi estudada a fisiologia da germinação de sementes de sucupira-preta, observando-se o comportamento dessas sementes durante a embebição e os fatores condicionantes da sua germinação, como dormência, temperatura, luz e danos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância e caracterização da espécie

Bowdichia virgilioides, conhecida vulgarmente como sucupira-preta, sucupira-do-cerrado, sucupira-açu, sucupira-do-campo, paricarana, é uma espécie arbórea pertencente à família *Fabaceae* com ampla dispersão pelo Brasil, com maior ocorrência nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. Apesar de ter uma distribuição uniforme, ocorre com baixa densidade populacional (Lorenzi, 1992; Almeida et al., 1998).

É considerada uma planta pioneira e adaptada a terrenos secos e pobres, com diversos potenciais de utilização, podendo ser empregada no paisagismo em geral e na produção apícola (Brandão & Ferreira, 1991; Lorenzi, 1992). Sua madeira, por ser de alta densidade e longa durabilidade natural, é empregada na construção civil e na fabricação de móveis. É bastante utilizada em programas de reflorestamento e na recuperação de áreas degradadas de preservação permanente (Lorenzi, 1992). Além disso, é utilizada na medicina popular para combater diabetes, reumatismos e inflamações em geral.

A árvore atinge até 20 metros de altura, possui folhas compostas, pinadas com folíolos pubescentes. É uma planta decídua, heliófita e xerófita, característica em regiões de cerrado e na sua transição para floresta semidecídua. Ocorre tanto em formações primárias como secundárias, sempre em terrenos altos e de rápida drenagem. Sua floração ocorre entre os meses de agosto e setembro, com a planta quase totalmente despida da folhagem. Os frutos são legumes, indeiscentes, achatados, contendo pequenas sementes com 3 a 5 mm de comprimento, de coloração avermelhada (Lorenzi, 1992; Rizzini, 1990).

Na Figura 1 observa-se o aspecto geral da planta, bem como suas principais estruturas.

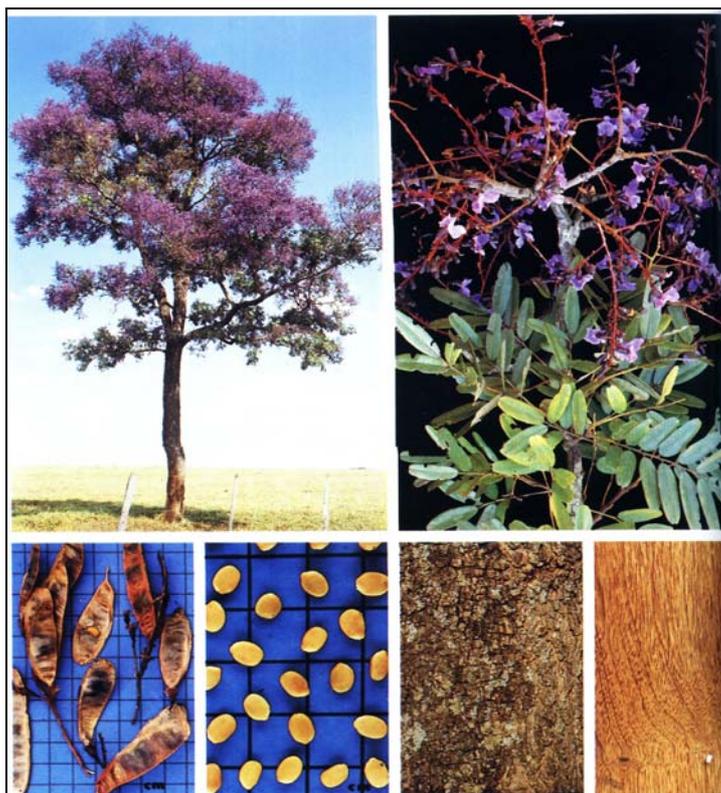


FIGURA 1. Aspecto geral de *Bowdichia virgilioides* Kunth. e seus principais órgãos componentes (Lorenzi, 1992).

Apesar da sua importância econômica a sucupira-preta vem sofrendo redução no número de indivíduos em seu ambiente natural, devido à exploração comercial desordenada. Além disso, a formação de mudas pode ser limitada em função das condições de germinação (Tao, 1992).

O estudo a respeito das condições necessárias de germinação e os processos envolvidos poderia contribuir substancialmente para otimizar a produção de mudas e traçar estratégias para a preservação da espécie.

2.2 Fisiologia da germinação

A germinação pode ser entendida como uma complexa seqüência de eventos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos, composta das seguintes etapas: embebição, atividade enzimática e respiratória, translocação, assimilação e crescimento. No desenvolvimento vegetal, a germinação é considerada uma fase crítica e está associada a fatores ambientais (natureza extrínseca) e da própria semente (natureza intrínseca) (Bewley & Black 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Vários autores afirmam que a embebição representa o passo inicial da germinação e que este processo é caracterizado pela entrada de água na semente através do tegumento, promovendo a turgescência das células, aumentando a permeabilidade ao O₂ favorecendo o rompimento do tegumento e, conseqüentemente, facilitando a emergência das estruturas internas das sementes. A absorção de água pela semente é influenciada, dentre outros fatores, pela composição química da semente (as proteínas apresentam maior avidez por água que o amido; já os lipídios são hidrófobos) e pela permeabilidade do tegumento à água (Carvalho & Nakagawa, 2000; Bewley & Black, 1994 e Marcos Filho, 2005).

De acordo com Bewley & Black (1994), a embebição é composta por três fases distintas. A fase I é caracterizada pela rápida absorção da água, ocorrendo tanto em sementes viáveis como inviáveis, em conseqüência da diferença do potencial hídrico existente entre a semente e o substrato. Nesta fase, são observados os primeiros sinais da reativação do metabolismo, ocorrendo o aumento da atividade respiratória, a ativação de enzimas e a síntese de proteínas

a partir do RNA-m armazenado ao final do processo de maturação (Marcos Filho, 2005). A fase II é a mais longa do processo, na qual a semente praticamente não absorve água. Nesta fase, ocorre a preparação para germinação por meio da degradação das substâncias de reserva, gerando energia para a retomada do crescimento do embrião. Já a fase III é caracterizada pela protrusão radicular e crescimento da plântula.

A ativação dos sistemas enzimáticos em decorrência da hidratação é extremamente importante para o desenvolvimento e germinação das sementes. As enzimas estão envolvidas diretamente no processo respiratório e na digestão de reservas, produzindo energia para a biossíntese de novos tecidos (Bewley & Black, 1994).

A respiração envolve o ciclo da glicólise, de Krebs e a fosforilação oxidativa, com a contribuição de enzimas na regulação de cada rota. A enzima malato desidrogenase é importante dentro do ciclo de Krebs, por catalisar a conversão de malato a oxalacetato, participando, ainda, do movimento de malato por meio da membrana mitocondrial e da fixação de CO₂ nas plantas (Taiz & Zeiger, 2004). Outra enzima importante envolvida na respiração é a álcool desidrogenase, que atua na via anaeróbica da respiração reduzindo o acetaldeído a etanol, evitando, dessa forma, que a semente fique exposta ao efeito deletério dessa substância (Faria et al., 2003).

Dentre as enzimas que atuam na hidrólise de reservas, a α -amilase está envolvida diretamente na degradação de amido das sementes e é sintetizada de novo na camada de aleurona durante a germinação. Em cereais, a atividade da α -amilase é fundamental para fornecer energia e esqueleto carbônico para o desenvolvimento do embrião (Faria et al., 2003).

Há ainda algumas enzimas que atuam como mecanismo antioxidante, protegendo as células contra a ação de diversas formas de oxigênios ativados. As enzimas capazes de realizar a desintoxicação de O₂⁻ e H₂O₂ são: a superóxido

dismutase e a catalase. As superóxidos dismutase são um grupo de enzimas encontradas no citoplasma celular e na matriz mitocondrial. Catalizam a reação de dismutação de radicais superóxidos livres (O_2^-) produzidos em diferentes locais na célula, para oxigênio molecular (O_2) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de oxigênio formado é decomposto, principalmente, pela catalase, cujas subunidades são formadas no citoplasma, sendo a síntese completada no peroxissomo (McDonald, 1999).

É importante destacar também o papel de algumas proteínas, tais como as LEA proteínas, as quais são produzidas durante a maturação e que confere às sementes capacidade de germinarem após secagem e subsequente reidratação (Faria et al, 2003; Bewley & Black, 1994; Guimarães, 2000).

Além dos fatores bioquímicos, aspectos fisiológicos como a temperatura e a sensibilidade à luz, dentre outros, exercem papel fundamental na germinação.

O efeito da temperatura na germinação está relacionado com a atividade das enzimas que participam em vários processos metabólicos durante a germinação, com grande influência na velocidade e porcentagem de germinação (Carvalho & Nakagawa, 2000). O intervalo de temperatura para germinação varia em função da espécie e, dentro dessa faixa, pode ser considerada como temperatura ótima aquela na qual a maior porcentagem de germinação é obtida em menor espaço de tempo. Para grande parte das espécies adaptadas ao clima tropical, a temperatura ótima gira em torno de 20°C a 30°C (Marcos Filho, 2005). Segundo esse mesmo autor, há espécies nas quais a temperatura alternada tem efeitos mais significativos do que uma temperatura específica. Isso ocorre também em ambiente natural, onde é detectada diferença entre temperatura diurna e noturna. Esse comportamento, associado às espécies que possuem sementes dormentes, pode favorecer a germinação. Para Arnold et al. (1990), é essencial a quantificação do efeito da temperatura alternada em

populações de sementes com diferentes níveis de dormência, para se conhecer a época de interrupção da mesma no campo.

A luz representa outro fator ambiental com efeito sobre o processo germinativo, podendo estimulá-lo ou inibi-lo. As sementes podem ser classificadas com relação à sua resposta à condição de luz, sendo consideradas fotobláticas positivas, quando as sementes dependem da luz para promover a germinação, fotobláticas negativas, quando a germinação é reduzida ou inibida na presença de luz e fotobláticas independentes, quando germinam indiferentes à condição de luz (Marcos Filho, 2005).

A ativação das sementes pela luz está relacionada a um pigmento denominado fitocromo, o qual, ao absorver luz num determinado comprimento de onda, muda de estrutura bioquímica, permitindo ou não a resposta fotomorfo genética (Borges & Reno, 1993). Aparentemente, o fitocromo está sempre associado ao funcionamento das membranas biológicas, regulando, provavelmente, sua permeabilidade e controlando, dessa maneira, o fluxo de inúmeras substâncias dentro das células e entre elas (Taiz & Zeiger, 2004).

A germinação é uma característica de difícil avaliação, uma vez que o fenômeno da dormência pode interferir acentuadamente nos resultados dos testes de germinação (Nery, 2005).

2.3 Dormência das sementes

A dormência é considerada como a condição na qual a semente não germina mesmo com os fatores ambientais favoráveis a tal evento, podendo o bloqueio à germinação estar situado na própria semente (Egley, 1995; Carvalho & Nakagawa, 2000).

Esse fenômeno representa atributo dos mais eficientes para garantir a sobrevivência e a continuidade da espécie, já que evita a germinação quando as condições são desfavoráveis ao estabelecimento das plântulas. Além disso, a

dormência permite a distribuição da germinação ao longo do tempo (Fowler & Bianchtti, 2000). Esse processo é controlado por fatores genéticos, mas, sua indução ocorre devido à influência do ambiente durante a maturação, reagindo, principalmente, às temperaturas elevadas e ao estresse hídrico (Marcos Filho, 2005).

Há diversas classificações para a dormência de sementes. Bewley & Black (1994) reconhecem três tipos: dormência fisiológica, causada pela presença de substâncias inibidoras dos processos metabólicos; dormência embrionária, quando o embrião encontra-se subdesenvolvido ou subdiferenciado e a dormência imposta pelo tegumento impermeável.

A impermeabilidade do tegumento à água é considerada uma das formas mais comuns de dormência em sementes de espécies tropicais, principalmente na família *Fabaceae*, com cerca de 85% das espécies dotadas de tegumento duro (Cardoso, 1994; Rolston, 1978). Esse tipo de dormência é a única com princípio muito bem definido, sendo a mesma caracterizada pela dificuldade na absorção de água, impedindo, dessa forma, a hidratação da semente e, conseqüentemente, restringindo os processos físicos e as reações metabólicas básicas da geminação (Hilhorst 1995; Borges et al. 2004).

Marcos Filho (2005) relata várias causas que, isoladas ou combinadas, podem ocasionar a dureza do tegumento, tais como a presença de camada cerosa e de grande quantidade de suberina e cutina nas camadas superficiais do tegumento, deposição de lignina na base das células, presença de ácidos graxos nos espaços intercelulares da camada paliçádica, oxidação de compostos fenólicos presentes em células pigmentadas do tegumento, dentre outros.

Apesar do seu papel ecológico como mecanismo de perpetuação da espécie, a dormência é considerada, do ponto de vista econômico, como um fator limitante da produção, pois a germinação ocorre de forma lenta e

desuniforme. Logo, se faz necessária a utilização de métodos para remoção dessa barreira à germinação.

Para a escolha de métodos para quebra da dormência, é necessário identificar, tanto quanto possível, as causas da dormência, além disso, é necessário considerar a existência de ciclos de sensibilidade das sementes aos processos de quebra de dormência, o que pode provocar maior ou menor sucesso da aplicação dos métodos. Para cada tipo de dormência e para cada condição na qual as sementes estão inseridas haverá um ou mais métodos mais adequados e eficientes (Egley, 1995; Zaidan & Barbedo, 2004).

Pode haver dificuldade na avaliação de sementes de espécies florestais por meio do teste de germinação, pois a germinação das sementes dessas espécies é geralmente muito lenta e com problemas de dormência, daí a necessidade de métodos de avaliação rápidos, mais simples e que podem ser correlacionados com a germinação. Dentre eles, o teste de raios X é um dos mais promissores para o estudo da qualidade de sementes florestais.

2.4 Teste de raios X em sementes

O teste de raios X foi desenvolvido por Simak & Gustafsson (1953), com a finalidade de avaliar a qualidade de espécies florestais, sendo atualmente utilizado com diversas finalidades no âmbito da tecnologia de sementes, seja para a visualização de danos ocasionados por insetos e injúrias mecânicas, ou na detecção de anormalidades em embriões e na determinação do estágio de desenvolvimento das sementes (Battisti et al., 2000; Machado & Cícero, 2002).

É considerado um teste simples e facilmente reproduzível, devido ao fato de não ser influenciado pelo ambiente. Além disso, é um método não destrutivo, permitindo, dessa forma, o uso das sementes para comparação com o teste de germinação (Simak, et al., 1989).

O princípio do teste de raios X baseia-se na obtenção de imagens por meio de ondas eletromagnéticas. Ao atravessar as sementes, os feixes de raios X permitem a formação de uma imagem permanente sobre um filme, podendo a mesma ser mais clara nas regiões que os raios não atravessam e mais escuras nas regiões menos densas. O grau de absorção da radiação pelas sementes varia conforme a espessura, a densidade, a composição das sementes e o comprimento de onda da radiação ionizante (Simak, 1980; ISTA, 1993).

Apesar de os raios X serem bastante nocivos para a maioria das sementes, a baixa quantidade que é absorvida durante o teste não causa danos genéticos. Bino, Aartse & Burg (1993), estudando sementes de *Arabidopsis thaliana*, não observaram nenhum efeito negativo sobre a germinação da semente após as mesmas serem submetidas aos raios X.

A qualidade da imagem obtida está relacionada com o tempo de exposição e a intensidade de radiação. Dessa forma, é necessária a determinação prévia das condições de exposição das sementes aos raios X. Diferentes interações entre voltagem e tempo de exposição têm sido utilizadas, variando em função da espécie, do aparelho de raios X e da sensibilidade do filme radiográfico utilizado (Simak, 1980; ISTA, 1993). Para a espécie *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert, Oliveira (2000) indicou o tempo de 60 segundos por 25 Kv. Já Masetto (2005), estudando sementes de *Eugenia handroana* D. Legrand, obteve melhor visualização das estruturas internas da semente utilizando 50 Kv por 60 segundos.

Segundo Oliveira (2000), pesquisas utilizando os raios X podem trazer grandes contribuições tecnológicas se visarem as sementes de espécies florestais nativas do Brasil, nas quais é muito comum a ocorrência de sementes danificadas.

3 REEFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464 p.

ARNOLD, R. L. B.; GHERSA, C. M.; SCHANCHEZ, R. A.; INSAUSTI, P. Temperature effects on dormancy release and germination rate in *Sorghum haelpense*(L.) Pers. Seeds: a quantitative analysis. **Weed Research**, Oxford, v. 30, n. 1, p. 81-89, Feb. 1990.

BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECCI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.

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

BINO, R. J.; AARTSE, J. W.; BURG, W. J. van der. Non-destructive X-ray analysis of arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 167-170, June 1993.

BORGES, E. F. L.; RENO, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p. 83-135.

BORGES, E. E. de L.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; REZENDE, S. T. de.; PEREZ, S. C. J. G. A. Alterações fisiológicas em sementes de *Tachigalia multijuga* (Benth.) relacionadas aos métodos para a superação da dormência. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 317-325, maio/jun. 2004.

BRANDÃO M.; FERREIRA, P. B. D. Flora apícola do cerrado. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 15, n. 168, p. 4-8, 1991.

CARDOSO, V. J. M.; BELTRTI, C. M.; PAOLI, A. A. S. Estudos comparativos de sementes aéreas e subterrâneas de *Commelina virginica* (Commelinaceae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 3, p. 403-412, ago. 1994.

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

EGLEY, G. H. Seed germination in soil: dormancy cycles. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 529-543.

FARIA, M. A. V. de R.; VON PINHO, R. G.; VON PINHO, E. V. de R.; GUIMARÃES, R. M. **Marcadores moleculares da qualidade fisiológica de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 2003. 51 p.

FOWLER, J. A. P.; STURION, J. A. **Aspectos da formação do fruto e da sementes na germinação da erva-mate**. Brasília: EMBRAPA, 2000. p. 1-5. (EMBRAPA. Comunicado Técnico, n. 45).

GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)** 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

HILHORST, H. W. M. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. **Seed Science Research**, Wallingford, v,5, n. 2, p. 61-73, June 1995.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 21, p. 363, 1993. Supplement.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas no Brasil**. Nova Odessa: Editora plantarum, 1992. 368 p.

MACHADO, C. F.; CÍCERO, M. S. Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.). **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 12, n. 123, p. 28-34, dez. 2002.

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

MASETTO, T.E. **Estudo da sensibilidade à dessecação em sementes de *Eugenia handroana* D. Legrand (Myrtaceae)**. 2005. 60p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- Universidade Federal de Lavras, lavras, MG.

McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

NERY, M. C. **Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich.** 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, L. M. de. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-x.** 2000. 111 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil.** 2 ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1990. 296 p.

ROLSTON, M. P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical review**, Bronx, v. 44, n. 3, p. 365-396, 1978.

SIMAK, M. **X-radiography in research and testing of forest tree seeds.** 1980. p. 1-34. (Report SUAS Department of Silviculture, n. 3)

SIMAK, M.; BERGSTEN, U.; HENRIKSSON, G. Evaluation of ungerminated seeds at the end germination test by radiography. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 17, n. 2, p. 361-369, 1989.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-Ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Landskrona, v. 39, n. 3, p. 458-468, 1953.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAO, K. L. genetic alteration and germoplasm conservation. In: FU, J.; KHAN, A. A. (Ed.) **Advanced in the science and technology of seeds.** Beijing: Science Press, 1992. p. 137-149.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 135-146.

CAPÍTULO 2

CURVA DE EMBEBIÇÃO E COMPORTAMENTO ENZIMÁTICO E PROTÉICO DURANTE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.).

1 RESUMO

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Curva de embebição e comportamento enzimático e protéico durante a germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). In: _____. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**. 2006. p.15-39. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

A água é fundamental para o metabolismo celular durante a germinação, favorecendo a atividade enzimática e a degradação das substâncias de reserva, gerando energia para a retomada do crescimento do embrião. Nessa pesquisa foi avaliado o comportamento das sementes de sucupira-preta durante a embebição, bem como as modificações em algumas enzimas e proteínas durante esse processo. Foram utilizados dois lotes de sementes, um dos lotes oriundos do Ceará, colhido em 2001 e outro de Roraima, colhido em 2003. As sementes foram embebidas em rolo de papel umedecido, a 30°C e pesadas a cada 6 horas até a protrusão radicular de 50% das sementes, após o que as sementes foram submetidas a análises protéicas pela técnica da eletroforese. Os géis foram revelados para os sistemas álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), α -amilase (α -AM) e proteínas resistentes ao calor (LEA proteína). As proteínas foram as principais substâncias de reserva encontradas nas sementes de sucupira-preta. A curva de embebição dessa espécie segue um modelo trifásico, com a protrusão radicular ocorrendo após 114 horas de embebição para as sementes do lote de 2001 e 120 horas para as sementes do lote de 2003. Na avaliação dos sistemas enzimáticos, foi observado um comportamento constante para as enzimas superóxido dismutase e malato desidrogenase. Para a enzima álcool desidrogenase houve uma atividade mais intensa apenas no início da embebição para as sementes do lote de 2003, decrescendo à medida que a germinação avançava. Para a catalase, a intensidade das bandas variou em função do lote utilizado. Já para α -amilase, foi observada alta atividade apenas para as sementes do lote de 2003. Analisando-se os padrões eletroforéticos para as proteínas resistentes ao calor, foi observada a presença de bandas durante toda a germinação, com alterações na intensidade no decorrer do processo.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Orientador); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Imbibition curve and enzymatic and proteic alterations during germination of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seeds. In: _____. **Physiological aspects of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seed germination.** 2006. p.15-39. Dissertation (Master degree in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Water is essential for cellular metabolism during the germination, favoring the enzymatic activity and the degradation of the reserve substance, generating energy for retaking of the embryo growth. This research aimed to evaluate the alterations black sucupira seeds during imbibition and the modifications in some enzymes and proteins during this process. There were used two lots of seeds, one from Ceará, harvested in 2001 and the other of Roraima, harvested in 2003. The seeds were imbibed in wet paper roll at 30°C and weighted for 6 hours until the root protrusion of 50% of the seeds, after the seeds were submitted to the protein analysis by electrophoresis technique. The gels were revealed for alcohol dehydrogenase (ADH), malate dehydrogenase (MDH), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), α -amylase (α -AM) and proteins resistant to heat (LEA protein). The proteins were the main reservation substance found in black sucupira seeds. The imbibition curve of the black sucupira has a triphasic model, with the root protrusion occurring after 114 hours of imbibition for the seeds from 2001 and 120 hours for the seeds of 2003. In the evaluation of enzymatic systems were observed the same pattern for the enzymes superoxide dismutase and malate dehydrogenase. For the enzyme alcohol dehydrogenase it was observed an activity more intense only in the beginning of imbibition for the seeds lot from 2003, decreasing along germination process. For the catalase the band intensity varied according to the seeds lot used. For the α -amylase it was observed a high activity only for the seeds from 2003. Analyzing the electrophoretic pattern for the protein resistant to heat, it was observed the presence of bands during every the germination, with alterations in intensity during the process.

* Guidance Committee: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Adviser); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A germinação consiste na reativação do crescimento do embrião por meio de uma seqüência ordenada de eventos metabólicos, resultando na ruptura do tegumento pela radícula. O início desse processo se dá pela absorção de água pelas sementes (embebição) e termina com o alongamento do eixo embrionário (Bewley & Black, 1994).

A embebição é fundamental para a germinação porque permite a retomada da atividade metabólica, contribuindo para os processos de mobilização e assimilação de reservas e crescimento subsequente (Marcos Filho, 2005). A velocidade de embebição é característica própria de cada espécie, dependendo, dentre outros fatores, da composição química e da permeabilidade do tegumento. A composição química das sementes é definida geneticamente, podendo ser influenciada, até certo ponto, pelas condições ambientais (Mayer & Poljakoff-Mayer, 1989; Bewley & Black, 1994).

A atividade de certas enzimas tem sido avaliada no intuito de detectar as diversas reações metabólicas que envolvem a síntese e a degradação de moléculas durante o processo de germinação. O uso de isoenzimas como marcadores moleculares pode auxiliar na elucidação dos eventos bioquímicos. A enzima α -amilase tem se mostrado eficiente para monitorar a intensidade de dormência de sementes de arroz ao longo do armazenamento; já a atividade da malato desidrogenase e da álcool desidrogenase permite a avaliação da atividade respiratória. Ainda tem sido considerado o estudo da atividade de enzimas removedoras de radicais livres, como catalase e superóxido dismutase, dentre outras, constituindo eficientes mecanismos de desintoxicação durante a embebição (Mcdonald, 1999).

A atividade dessas enzimas tem sido determinada por meio da técnica de eletroforese, a qual constitui-se numa ferramenta eficiente para o acompanhamento das mudanças ocorridas durante a germinação (Carraro, 1990).

Pouco se conhece a respeito dos processos envolvidos na germinação de sementes de sucupira-preta. Dessa forma, no presente trabalho, foi estudada a curva de embebição, bem como o comportamento de algumas enzimas e proteínas durante o processo de germinação das sementes de sucupira preta.

4 MATERIAL E METODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise e de Técnicas Moleculares em Sementes do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Produtos Vegetais do Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

4.1 Obtenção das sementes

Foram utilizados dois lotes de sementes de sucupira-preta de diferentes procedências: o lote A foi coletado no município de Crato,CE, no ano de 2001 e o lote B coletado na cidade de Boa Vista,RR, em 2003. As sementes de cada lote foram armazenadas em sacos plásticos, tendo o lote A sido mantido em temperatura ambiente com 3 anos de armazenamento. Já as sementes do lote B foram armazenadas em câmara com controle de temperatura e umidade por 1 ano.

4.2 Determinação do grau de umidade

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$, por 24 horas (Brasil, 1992). Foram utilizadas duas repetições, contendo um grama de sementes para cada lote e os resultados foram expressos em porcentagem.

4.3 Composição química

Para a determinação da composição química de sementes de sucupira-preta, utilizaram-se 100g de sementes, as quais foram moídas em moinho da marca Tecnal modelo TE613/1, refrigerado a 4°C , sendo analisadas as seguintes variáveis: extrato etéreo, resíduo mineral fixo, proteína bruta e fibra bruta.

4.3.1 Determinação do extrato etéreo

Na determinação do extrato etéreo, pesaram-se 2g da amostra, a qual foi transferida quantitativamente para o cartucho de Soxhlet. Foi realizada a extração direta da amostra com éter etílico em extrator contínuo de Soxhlet, utilizando reboiler previamente dessecado e tarado. Após a extração, o reboiler com o resíduo foi levado para a estufa a 65°C, por 24 horas (AOAC, 1990).

4.3.2 Determinação do resíduo mineral fixo

Para a determinação de resíduo mineral fixo (cinzas total), pesaram-se aproximadamente 2g de material desengordurado em cadinho de porcelana, o qual foi previamente incinerado, esfriado e tarado. O material foi carbonizado em fogão doméstico e posterior calcinação em mufla a 550°C, por 4 horas. A diferença entre o peso do conjunto e o peso do cadinho vazio expressa a quantidade de cinzas na amostra (AOAC, 1990).

4.3.3 Determinação da proteína bruta

Na determinação da proteína bruta, pesou-se 0,1g de material desengordurado que foi transferido para tubo de digestão; adicionaram-se 1,5g de sulfato de potássio e 0,3g de sulfato de cobre. Posteriormente acrescentaram-se 3,0mL de ácido sulfúrico concentrado. Os tubos foram levados para o bloco digestor a 50°C, aumentando a temperatura lentamente até 370°C. A mistura foi deixada no bloco digestor até a solução apresentar cor verde-clara. Depois de esfriada, adicionaram-se 30mL de água destilada, agitando até dissolver o resíduo, estando o material pronto para a determinação do nitrogênio total.

Na determinação do teor de nitrogênio total, seguiu-se o método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1990), usando o fator 6,25 para o cálculo do teor de proteína bruta.

4.3.4 Determinação da fibra bruta

Na determinação da fibra bruta, pesou-se 0,5g de material desengordurado, adicionaram-se 17,5mL de ácido acético 70%, 0,5g de ácido tricloracético e 1,2mL de ácido nítrico. Essa solução foi mantida em repouso por 30 minutos a partir da ebulição (110°C). Após este tempo, os cadinhos foram levados para estufa a 105°C, por 24 horas e, logo depois, foram pesados (AOAC, 1990).

4.4 Curva de embebição

Para a determinação da curva de embebição, foram utilizadas duas repetições de 50 sementes para cada tempo de embebição. Antes de iniciar a embebição, as sementes foram pesadas em balança analítica digital com precisão de 0,1mg. Em seguida, os tegumentos foram escarificados com ácido sulfúrico concentrado durante 8 minutos e neutralizados com carbonato de cálcio a 2% por 3 minutos. A embebição foi realizada em rolos de papel germitest umedecido com água destilada e mantidos em câmara de germinação a 30°C. As sementes foram pesadas a cada 6 horas até protrusão radicular de 50% das sementes. O ganho de peso das sementes foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ Ganho de peso} = \left[\frac{\text{Pf} - \text{Pi}}{\text{Pi}} \right] \times 100$$

Em que: Pf: peso final (ganho de umidade a cada período de embebição).

Pi: peso inicial das sementes antes da embebição.

Após cada tempo de embebição, as sementes foram maceradas sob gelo seco, contendo cerca de 0,05g do antioxidante PVP (polivinilpirrolidone), sendo em seguida armazenadas em deep-freezer a -84°C, até o momento das análises isoenzimáticas e de proteínas resistentes ao calor.

4.5 Extração de isoenzimas

Para a extração das isoenzimas de sementes de sucupira-preta seguiu-se a metodologia utilizada por Menezes (2005) para sementes de soja, com algumas modificações. Cada período de embebição das sementes foi considerado um tratamento.

Para cada isoenzima analisada, utilizaram-se 100mg do material macerado. Para a extração das isoenzimas, foram utilizados dois tampões: uma parte de tampão 0,2 M de borato de lítio (0,2M de hidróxido de lítio pH 8,3, titulado com 2M de ácido bórico) para nove partes de tampão 0,2M de Tris citrato pH 6,5 (0,2M de Tris base pH 6,5, titulado com 0,4M de ácido cítrico) e 0,15% de β -mercaptanol.

Em cada amostra de sementes, correspondente a cada tempo de embebição, foram aplicados 500 μ L do tampão de extração; logo depois, foram agitadas em vortex e deixados em microtubos a 4°C *overnight*. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 16.000xg por 30 minutos a 4°C e, logo após, retiraram-se 80 μ L do sobrenadante de cada amostra e aplicou-se no gel de poliacrilamida 7,5% (gel separador) e 4,5% (gel concentrador). Para a enzima α -amilase, utilizou-se gel de poliacrilamida contendo 0,5% de amido. O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi o Tris-glicina pH 8,9 e a corrida eletroforética foi realizada por 4 horas, a uma voltagem constante de 150 V. Após a eletroforese, os géis foram revelados para os sistemas álcool desidrogenase (ADH), malato desidrogenase (MDH), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e α -amilase (α -AM) (Alfenas,1991).

4.6 Extração de proteínas resistentes ao calor

Para a extração das proteínas resistentes ao calor, foi seguido o protocolo utilizado por Nery (2005), com algumas modificações. Pesaram-se 100mg do material macerado, provenientes de sementes submetidas aos

diferentes tempos de embebição, em microtubos de 2mL com 1.800µL de tampão de extração (50 mM Tris-HCl pH 7,5; 0,5 M NaCl, 0,005 M MgCL₂, 0,001 M PMSF) e agitados em vortex. Em seguida, o material foi centrifugado a 14.000xg por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante incubado em banho-maria a 80°C por 10 minutos e novamente centrifugado. Aos 100µL do sobrenadante foram adicionados 50µL de solução tampão da amostra (2,5mL de glicerol, 0,46g de SDS e 20mg de azul bromofenol) e colocados em banho-maria com água fervente por 5 minutos. A corrida eletroforética foi realizada por 4 horas a uma voltagem de 150V. Após a corrida, os géis foram corados em *coomassie blue* a 0,05%, durante 15 horas e descolorados em solução de ácido acético 10%, de acordo com Alfenas (1991).

4.7 Análise dos dados

A avaliação dos padrões protéicos foi feita de acordo com a intensidade das bandas, utilizando-se a superfície de um diafanoscópio.

Os dados correspondentes à composição química das sementes e os sistemas isoenzimáticos não foram analisados estatisticamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade das sementes de sucupira-preta no momento da realização dos experimentos encontrava-se próximo aos 9%.

Pela avaliação da composição química das sementes, foi observado que as proteínas representaram 20% da matéria seca, seguida dos lipídios, com 15%, fibra bruta, com 12,4% e 2,6% de cinzas.

Na Figura 1 está representada a evolução do processo germinativo das sementes de sucupira-preta. As primeiras manifestações da germinação ocorreram algumas horas após a instalação do teste, caracterizada pelo intumescimento das sementes, observando-se aumento significativo no tamanho dessas, com mudança da sua coloração. Com 114 horas, ocorreu a protrusão da radícula das sementes do lote A; para as sementes do lote B essa protrusão ocorreu após 120 horas, desenvolvendo-se rapidamente. Com o decorrer da germinação, percebeu-se a diferenciação da radícula e do hipocótilo, ocorrendo também a liberação dos cotilédones do tegumento, expandindo-se por volta do 10º dia. A partir daí, começaram a surgir as primeiras raízes secundárias e os folíolos, o que ocorreu a partir do 15º dia, caracterizando a plântula normal. A germinação das sementes de sucupira-preta é caracterizada como epígea.

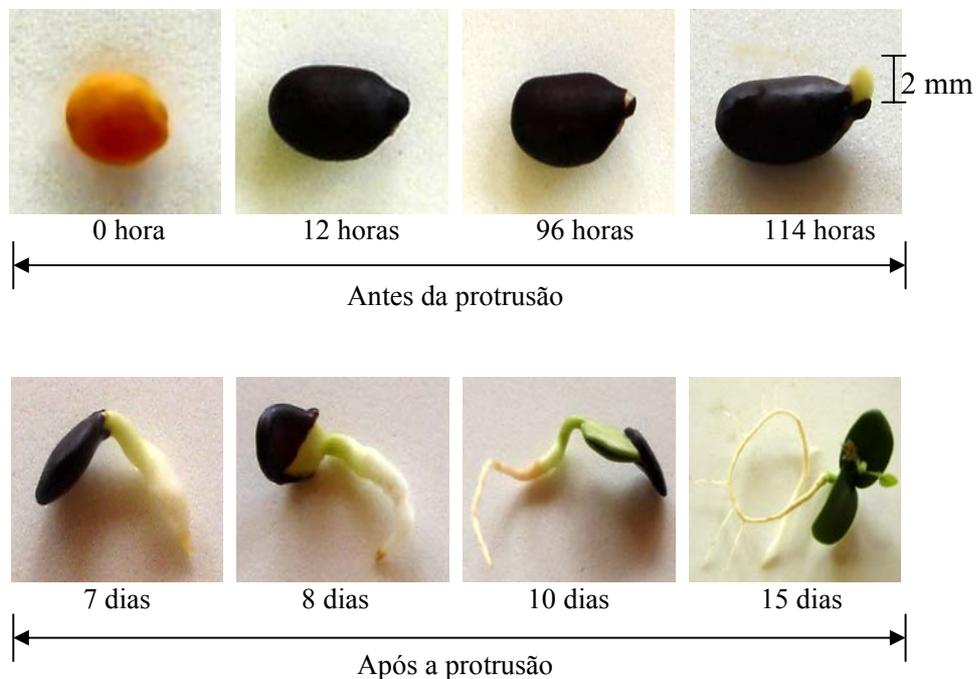


FIGURA 1. Evolução do processo germinativo de sementes de sucupira-preta (lote A), até a formação da plântula. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Na Figura 2 encontra-se a curva de embebição para as sementes de sucupira-preta. Foi observado que a espécie estudada necessita em torno de 114 horas para que a germinação seja completada com a protrusão da radícula das sementes do lote A. Já para as sementes do lote B, foi observada a protrusão da radícula em torno de 120 horas.

Observa-se, ainda, que a evolução da embebição da semente ocorre formando uma curva trifásica, sendo a fase I caracterizada por um ganho de umidade bastante significativo nas primeiras 12 horas de embebição para as sementes do lote A, em torno dos 100%; já no lote B, a fase I ocorreu nas primeiras 24 horas de embebição e o ganho de umidade foi 20% inferior ao ganho das sementes do lote A. Essa diferença, provavelmente, ocorreu em

função da idade das sementes, uma vez que foi observada a presença de sementes dormentes no lote B.

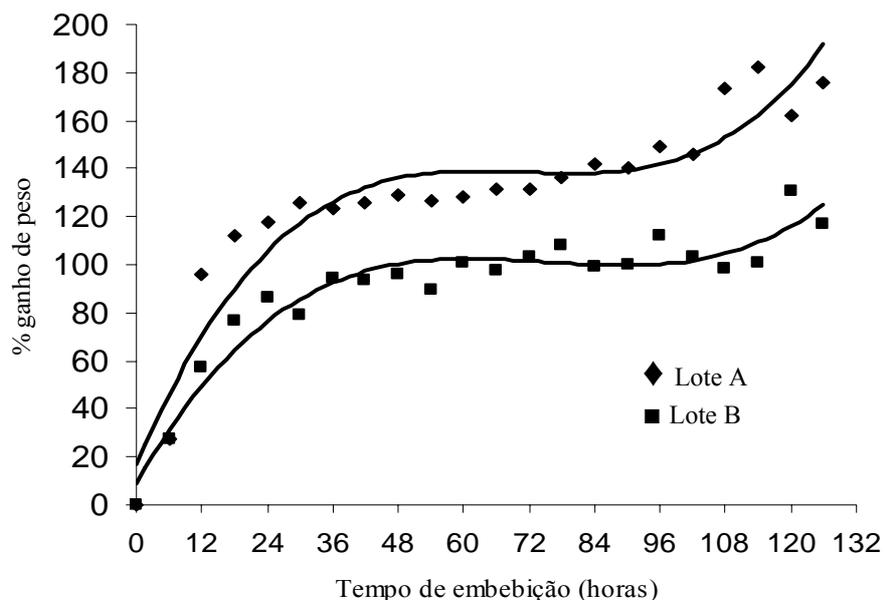


FIGURA 2. Curva de embebição de sementes de sucupira-preta. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Resultados semelhantes foram relatados por Garcia & Diniz (2003) que observaram uma rápida absorção de água nas primeiras 24 horas de embebição em sementes das espécies *Vellozia gigantea* N.L. Menezes e *Vellozia variabilis* Mart. Ex Schult., e por Franco & Ferreira (2002) para *Didymopanax morototonis* (Aubl.) Dcne. Et Planch. que detectaram a fase I com duração de 8 horas. Essa fase é caracterizada por ser um processo puramente físico, pois independe da atividade metabólica das sementes, podendo ocorrer em sementes viáveis ou não (Bewley & Black, 1994). Segundo Seiffert (2003), este rápido ganho de umidade observado na fase I em relação às outras se deve, provavelmente, à presença de matrizes hidrofílicas, como proteínas. Marcos

Filho (2005) descreve que, nessa fase surgem os primeiros sinais da reativação do metabolismo, com aumento acentuado da atividade respiratória, liberação de energia para a germinação e ativação de enzimas e proteínas.

A fase II foi mais longa, durando em torno de 100 horas e com ganho de umidade mais lento. As sementes do lote A tiveram um crescente incremento no grau de umidade, enquanto que, no ganho de umidade das sementes do lote B, observaram-se várias oscilações ao longo dessa fase. Este fato pode ter ocorrido devido à presença, no lote B, de algumas sementes que não tiveram sua dormência quebrada, por serem mais novas, enquanto que no lote A todas as sementes mostraram-se embebidas. A redução drástica da velocidade de embebição e a intensidade de respiração são características dessa fase, cuja ocorrência e duração são variáveis de acordo com a espécie considerada. De acordo com Bewley & Black (1994), é necessária uma diminuição da absorção de água para a mobilização das substâncias que foram desdobradas na fase I da região de reserva para os tecidos meristemáticos.

Após esse período de reduzida embebição, as sementes voltaram a ganhar umidade, culminando com a protrusão radicular, caracterizando a fase III que, para as sementes do lote A, ocorreu após 114 horas de embebição. Já para o lote B, foi um pouco mais demorada, ocorrendo em torno de 120 horas. Isso se deve, provavelmente, a um estado de dormência menos intensa nas sementes do lote A, já que a dormência tende a diminuir com a idade do lote, facilitando assim a absorção de água. Essa retomada da embebição ocorreu devido à necessidade de água pelas novas células em processo de formação.

Os sistemas isoenzimáticos das sementes de sucupira-preta submetidas aos períodos de 0 a 126 horas de embebição durante a germinação, revelados para álcool desidrogenase (ADH), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), malato desidrogenase (MDH) e α -amilase (α -AM) estão apresentados nas Figuras 3, 4 e 5.

Não foi observada atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH) nas sementes do lote A nas primeiras horas de embebição. Entretanto, após 72 horas, observou-se intensa atividade, decrescendo daí em diante (Figura 3). No lote B, uma alta atividade da enzima foi detectada em sementes no início da absorção de água, com uma tendência de diminuição da atividade nas fases finais de embebição. A ADH é uma enzima que atua no processo respiratório, removendo substâncias tóxicas às sementes, como acetaldeído e etanol, que são produzidas quando as células passam a respirar anaerobicamente. A maior atividade da enzima observada no início da embebição de sementes do lote B, pode ser atribuída à maior impermeabilidade do tegumento do que as do lote A, o que pode ter dificultado a entrada de oxigênio na semente, favorecendo, então, a rota de respiração anaeróbica, evitando, dessa forma, que as sementes ficassem expostas à ação deletéria do acetaldeído. À medida que a semente era exposta a maiores tempos de embebição, o tegumento tornava-se mais permeável, permitindo, dessa forma, o suprimento de oxigênio, justificando a diminuição da intensidade das bandas com o passar do tempo.

As enzimas superóxido dismutase e catalase constituem eficientes mecanismos de desintoxicação, atuando na remoção de radicais livres (McDonald, 1999). Analisando-se a atividade dessas enzimas, observou-se que não houve alteração do perfil enzimático da superóxido dismutase com o aumento do tempo de embebição, em ambos os lotes (Figura 3). Já o comportamento da catalase foi diferente entre os lotes e os períodos de embebição. Foi observada, nas primeiras horas de embebição, maior atividade da enzima nas sementes do lote B, sendo a mesma reduzida à medida que as sementes avançavam no processo de germinação (Figura 4). Nas sementes do lote A, a enzima comportou-se de forma inversa, sugerindo-se uma recuperação da sua atividade ao longo da germinação. De acordo com Jeng & Sung (1994), quando a semente é envelhecida, ocorre uma maior peroxidação dos lipídios e

uma redução na atividade das enzimas removedoras de peróxidos, sugerindo que a diferença observada entre os lotes está relacionada com a idade dos mesmos.

Resultados semelhantes foram obtidos por Basavarajappa et al. (1991), ao estudarem os efeitos do envelhecimento em sementes de milho, em que a intensidade das bandas da catalase diminuía com aumento do período de envelhecimento. Já Bailly et al. (1997) relataram que a enzima exerce papel relevante na germinação de sementes de girassol envelhecidas e que sua atividade tem sido fortemente correlacionada à recuperação da germinação por meio de tratamento de condicionamento.

Com relação à α -amilase, foi observada intensa atividade dessa enzima apenas nas sementes do lote B, ativada somente após 72 horas de embebição (Figura 4). O aparecimento dessa enzima depois de iniciado o processo de embebição deve-se ao fato dessa enzima ser sintetizada de novo durante a germinação, requerendo um determinado período para que essa nova síntese ocorra. Foi observada a presença muito pequena dessa enzima nas sementes do lote A, apenas no final da germinação. Esse comportamento pode estar relacionado com a idade das sementes do lote, o que é comprovado por diversos autores que observaram uma relação entre o envelhecimento dessas e o declínio na atividade da α -amilase (Ganguli & Semandi, 1993; Fessel, 2005).

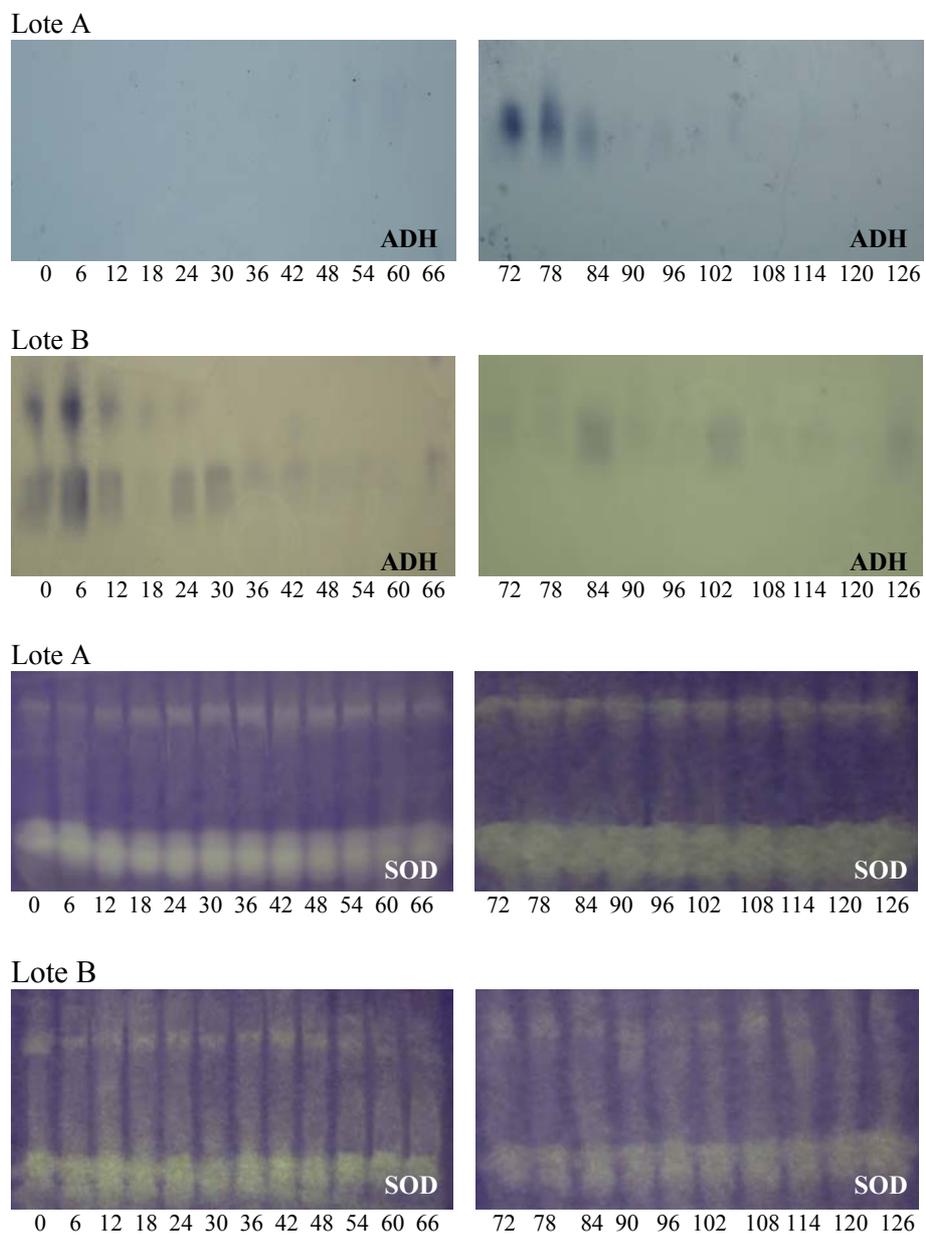


FIGURA 3. Perfis enzimáticos da álcool desidrogenase (ADH) e superóxido dismutase (SOD) de dois lotes de sementes de sucupira-preta durante a germinação. UFLA, Lavras, MG, 2006.

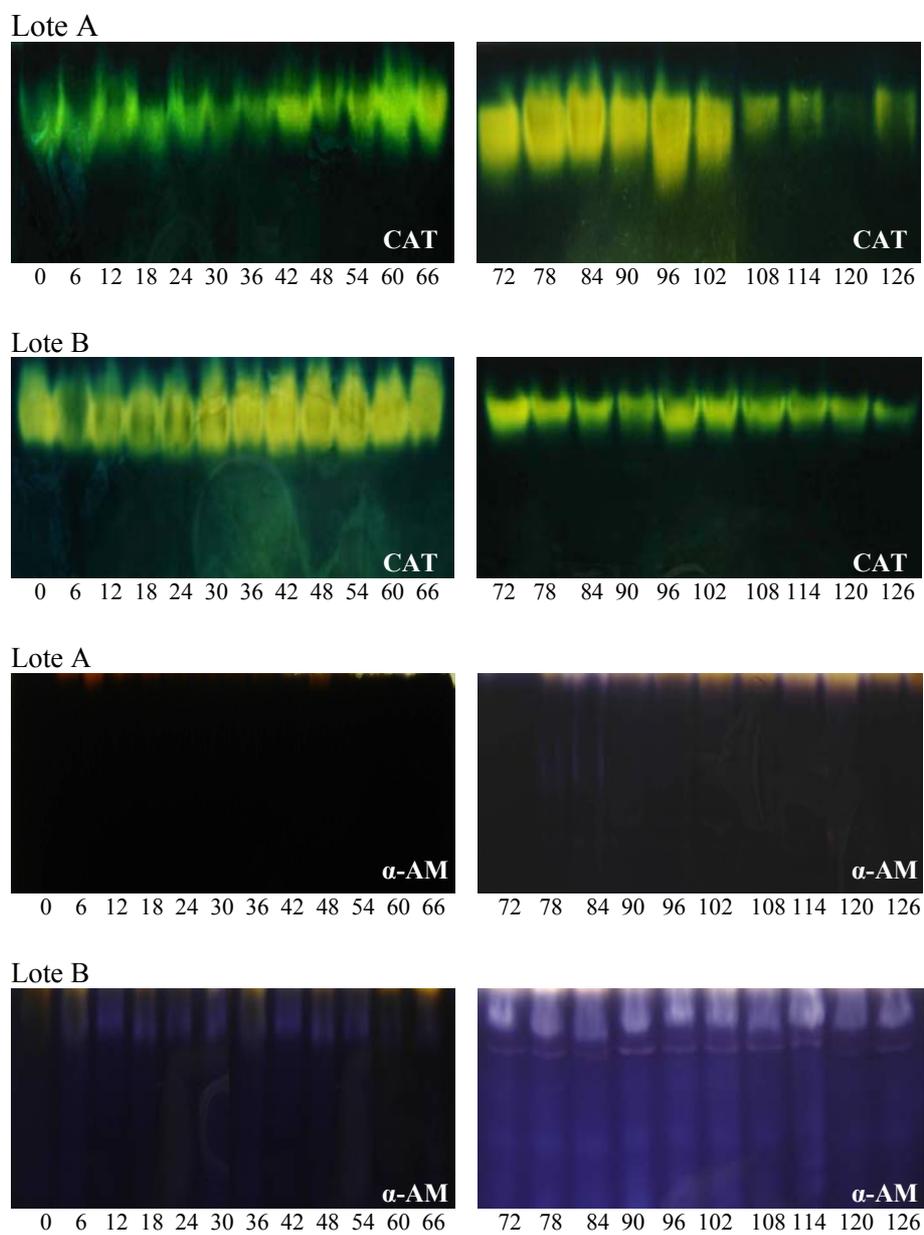


FIGURA 4. Perfis enzimáticos da catalase (CAT) e α -amilase (α -AM) de dois lotes de sementes de sucupira-preta durante a germinação. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Com relação ao padrão enzimático da malato desidrogenase (Figura 5), foi observado, nas sementes do lote A, o surgimento de novas bandas após 48 horas de embebição, enquanto que, no lote B, não foi observada alteração na atividade dessa à medida que se avançava na germinação. A MDH tem papel relevante dentro do ciclo de Krebs, catalisando a conversão de malato a oxalacetato (Taiz & Zeiger, 2004), Daí, a recuperação de mitocôndrias com a indução dos reparos durante a germinação pode ser o motivo do aumento de bandas da MDH durante o processo.

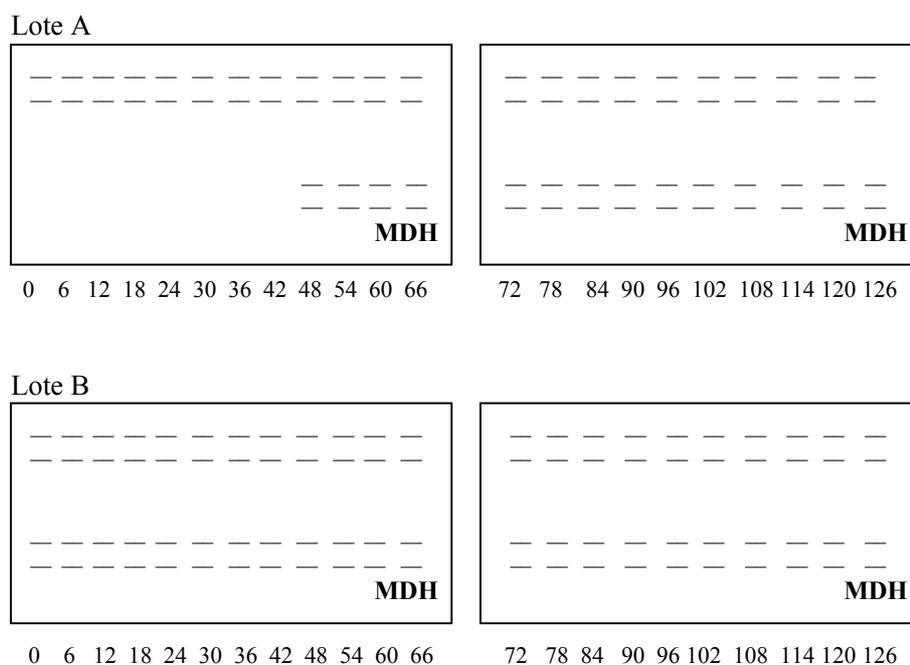


FIGURA 5. Perfil enzimático da malato desidrogenase de dois lotes de sementes de sucupira-preta durante a germinação. UFLA, Lavras, MG, 2006.

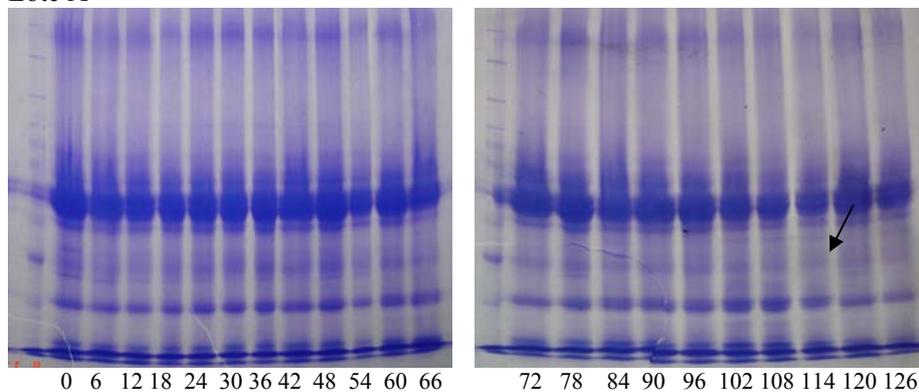
A atividade da MDH também tem sido relacionada ao processo de envelhecimento. Vieira (1996) observou aumento do número de bandas dessa enzima em sementes de algodão envelhecidas. Entretanto, Shatters et al. (1994)

observaram que o aumento no número e ou intensidade de bandas da malato desidrogenase em sementes de soja submetidas ao envelhecimento foi menor, o que pode ter acontecido devido ao aumento da respiração que ocorre em sementes em processo de deterioração avançado. Já Spinola et al. (2000) não constataram alterações na atividade da malato desidrogenase em sementes de milho submetidas ao envelhecimento acelerado.

Na Figura 6 observam-se os perfis eletroforéticos de proteínas resistentes ao calor para os dois lotes de sementes de sucupira-preta durante o processo de germinação.

Pôde ser observada a presença de proteínas resistentes ao calor durante todo o processo de germinação, as quais diminuem de intensidade à medida que se aproxima da protrusão radicular. Nas sementes do lote B, houve um maior número de bandas, principalmente as de baixo peso molecular. Nas sementes do lote A, o número de bandas foi mais estável, verificando-se uma diminuição da intensidade de algumas delas apenas no período mais avançado da germinação. Já nas sementes do lote B, a diminuição dessas bandas já ocorreu após 72 horas de embebição.

Lote A



Lote B

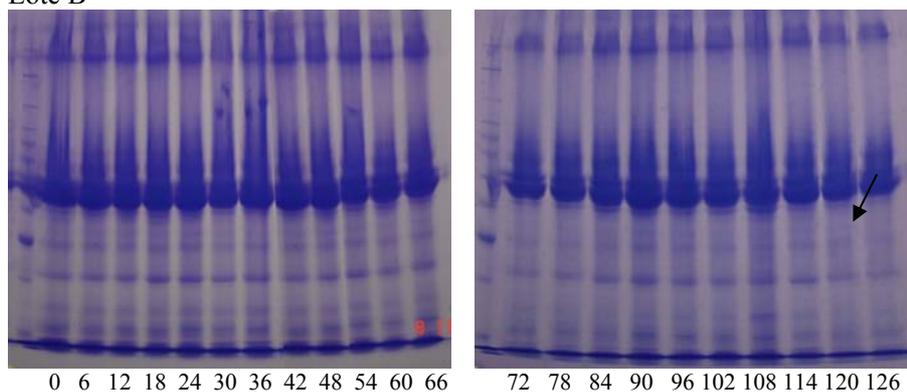


FIGURA 6. Perfil eletroforético de proteínas resistentes ao calor de sementes de sucupira-preta submetidas a diferentes tempos de embebição. Padrão *Protein Ladder* (P) de 220 a 10 KDa. UFLA, Lavras, MG, 2006.

A presença dessas proteínas pode ter sido responsáveis pela manutenção da capacidade germinativa das sementes do lote A, que foram armazenadas por um longo período. Estudos realizados por Walters et al. (1998) e Black et al. (1999) evidenciaram que diversas proteínas do tipo LEA são acumuladas no final da maturação e que suas propriedades físicas de estabilidade, hidrofobicidade e sua abundância estão relacionadas com a tolerância à dessecação.

6 CONCLUSÕES

As proteínas são as principais substâncias de reserva encontradas nas sementes de sucupira-preta.

O processo de embebição de sementes de sucupira-preta é caracterizado por uma curva trifásica, requerendo em torno de 114 a 120 horas para o início da protrusão radicular.

As análises isoenzimáticas permitem uma avaliação dos eventos bioquímicos ocorridos durante a germinação das sementes de sucupira preta, podendo a atividade das enzimas variar em função das sementes.

As proteínas resistentes ao calor são abundantes para a espécie estudada, mantendo-se presentes durante todo o processo germinativo, com alterações na intensidade das bandas com o avanço da germinação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A. C.; PETRES, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST OFFICIAL. **Methods of the association of official analytical chemists**. 15. ed. Washington, 1990. 684 p.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; CÔME, D. Changes in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds during accelerated ageing and subsequent priming. In: ELLIS, R. H.; BLACK, M.; MURDOCH, A. J.; HONG, T. D. (Ed.). **Basic and applied aspects of seed biology**. Boston: Kluwer Academic Publishing, 1997. p. 665-671.

BASAVARAJAPPA, B. S.; SHETTY, H. S.; PRAHASH, H. S. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 2, p. 297-310, 1990.

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

BLACK, M.; CORBINEAU, F.; GEE, H.; CÔME, D. Water content, raffinose and dehydrins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, n. 2, p. 463-471, June 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

CARRARO, D. M. **Variação e herança dos padrões eletroforéticos em órgãos e estágios de desenvolvimento em milho (*Zea mays* L.)**. 1990. 121 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

- FESSEL, S. A. **Testes fisiológicos e eletroforese de enzimas para monitoramento da deterioração em sementes de milho**. 2005. 139 p. Tese – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- FRANCO, E. T. H.; FERREIRA, A. G. Tratamentos pré-germinativo em sementes de *Didymopanax morototoni* (Aubl.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 1-10, jun. 2002.
- GANGLI, S.; SENMANDI, S. Effects of ageing on amylase activity and scutellar cell structure during imbibition in wheat seed **Annals of Botany**, London, v. 71, n. 5, p. 411-416, May 1993.
- GARCIA, Q. S.; DINIZ, I. S. S. Comportamento germinativo de três espécies de *Vellozia* da Serra do Cipó. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 487-494, out./dez. 2003.
- JENG, T. L.; SUNG, J. M. Hydration effect on lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes activity of artificially age penault seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 3, p. 531-539, 1994.
- MARCOS FILHO, J. Dormência de sementes. In: MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 253-289.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.
- McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.
- MENEZES, M. **Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e de proteínas resistentes ao calor**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- NERY, M. C. **Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich.** 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SEIFFERT, M. **Alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes e anatomia foliar de *Protium widgrenii* Engler**. 2003. 81 p.

Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SHATTERS JR, R. G.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S. H. Soybean seed deterioration and response to priming: changes in extracts from dry and germinated seeds. **Seed Science Research**, Wellingford, v. 4, n. 1, p. 33-41, Mar 1994.

SPINOLA, M. C. M.; CÍCERO, S. M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 263-270, abr./jun. 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Redwood City: The Benjamin/Cummings, 1991. 559 p.

VIEIRA, M. G. C. G. **Utilização de marcadores moleculares no monitoramento da qualidade sanitária e nível de deterioração de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.)**. 1996. 127 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

WALTERS, C. Understanding the mechanisms and kinetics of seed aging. **Seed Science Research**, Wellingford, v. 8, n. 2, p. 223-244, June 1998.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA A SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA EM SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)

1 RESUMO

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Avaliação de métodos para superação da dormência em sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **In:_____**. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**. 2006. p. 40-56. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Em espécies florestais é comum a ocorrência de sementes dormentes, sendo necessária a utilização de tratamentos especiais para que possam germinar. Neste estudo foram avaliados diferentes métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta. Foram utilizados três lotes de sementes, sendo um deles oriundo do estados do Ceará, colhido em 2001 e os outros dos estados de Roraima e Minas Gerais, ambos colhidos em 2003. O experimento foi realizado em esquema fatorial 3x7, correspondendo a três lotes e sete tratamentos para quebra da dormência, com 4 repetições de 25 sementes para cada tratamento. Foi utilizado ácido sulfúrico por 4, 8 e 12 minutos, água a 80°C por 5 e 10 minutos, lixa e testemunha. Após a exposição ao método de quebra da dormência, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (2% por 2 minutos). O teste de germinação foi conduzido em BOD a 30°C, sob luz constante, sendo as sementes semeadas em gerbox sobre papel mata-borrão, por 30 dias. Foi observado que a espécie possui dormência tegumentar e que todos os tratamentos utilizados permitiram a entrada de água nas sementes. Contudo, alguns métodos estudados, como a água a 80°C por 10 minutos, resultaram em um elevado número de sementes mortas. O método mais eficiente para a superação da dormência de sementes de sucupira-preta é o ácido sulfúrico, por 8 e 12 minutos, resultando em uma maior porcentagem e velocidade de germinação.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Orientador); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profª. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Evaluation of methods for dormancy overcoming of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seeds. **In:_____**. **Physiological aspects of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seed germination.** 2006. p. 40-56. Dissertation (Master degree in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

Considering forest species is common the occurrence of dormancy seeds, as being necessary the utilization of special treatment that can promote the germination. In this study it was evaluated different methods for dormancy overcoming of black sucupira seeds. There were used three lots of seeds, being one of them from Ceará, harvested in 2001, and the others from Roraima and Minas Gerais, both harvested in 2003. The experiment was conducted in factorial system 3x7, corresponding to three lots and seven treatments of dormancy break, with 4 repetitions of 25 seeds for each treatment. There were used sulfuric acid for 4, 8 e 12 minutes, water at 80°C for 5 and 10 minutes, sandpaper and the treatment control. After the exposition to the methods of dormancy break, the seeds were disinfested with sodium hypochloride (2% for 2 minutes). The germination test was conducted in BOD at 30°C under constant light, being the seeds sowed in gerbox containing paper, during 30 days. It was observed this specie has tegument dormancy and in all treatments used was observed the water inside the seeds. However in some methods studied, like the water at 80°C for 10 minutes, occurred a high numbers of dead seeds. The most efficient method for dormancy overcoming of black sucupira seeds is the sulfuric acid for 8 and 12minutes, resulting in a higher percentage and germination speed.

* Guidance Committee: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Adviser); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Em espécies florestais nativas, é muito comum a presença de sementes que, mesmo estando viáveis, não germinam, embora as condições ambientais estejam favoráveis. Estas sementes são consideradas dormentes e necessitam de tratamento especial para germinar. Para Bewley & Black (1994), a dormência é um fenômeno intrínseco da semente, funcionando como mecanismo natural de resistência aos fatores adversos do meio, podendo manifestar-se de três formas distintas: dormência imposta pelo tegumento, dormência embrionária e dormência devido ao desbalanço entre substâncias promotoras e inibidoras da germinação.

A impermeabilidade do tegumento está associada a diversas espécies botânicas, sendo mais freqüentes nas *Fabaceae* (Carvalho & Nakagawa, 2000), como a sucupira-preta. Espécies que produzem sementes duras representam um sério problema para os viveiristas, pois, o tegumento impermeável restringe a entrada de água e oxigênio e oferece alta resistência física ao crescimento do embrião, o que retarda a germinação, sendo prejudicial à produção de mudas (Moussa et al., 1998).

Esse tipo de dormência pode ser superada por meio da escarificação, termo que se refere a qualquer tratamento que resulte na ruptura ou no enfraquecimento do tegumento, permitindo a passagem de água e dando início ao processo germinativo (Mayer & Poljakoff Mayber, 1989). Entre os métodos utilizados com sucesso para a superação da dormência de espécies florestais destacam-se a escarificação química, física e a imersão em água quente. A aplicação e a eficiência desses tratamentos dependem da intensidade da dormência, que é bastante variável entre espécies, procedências e anos de coleta.

O uso do ácido sulfúrico é bastante comum para a quebra desse tipo de dormência, estando que a sua eficiência relacionada com o tempo de exposição ao ácido e a espécie. Para sementes de *Dimorphandra mollis* Benth., a dormência foi superada com a imersão no ácido sulfúrico por 45 a 90 minutos (Hermansen et al., 2000). Já para sementes de *Ochroma lagopus* Sw. a imersão no ácido sulfúrico por 1 minuto foi suficiente para proporcionar alta germinação (Barbosa et al., 2004).

A escarificação mecânica constitui-se em um método simples e de baixo custo, sendo indicada como o método mais eficiente para a promoção da germinação em sementes de várias espécies, como *Caesalpineia férrea* Mart. Ex Tul., *Cássia grandis* L., *Samanea saman* Merrill (Lopes et al., 1998), *Leucaena diversifolia* (Schlecht.) Benth. K. (Bertalot & Nakagawa, 1998) e *Cupania vernalis* camb. (Lima Junior, 2004). Entretanto, a escarificação excessiva pode causar danos ao tegumento e diminuir a germinação (McDonald & Copeland, 1997).

A água quente é outro método utilizado na quebra da dormência, sendo eficiente em sementes de *Acácia mearnsii* De Wild. (Martins Order et al., 1999), *Peltophorum dubium* (Oliveira, 2000) e *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (Teles et al., 2000).

Diante do exposto, neste trabalho foi avaliada a eficiência de diferentes métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

4.1 Obtenção das sementes

Foram utilizados três lotes de sementes de sucupira-preta de diferentes procedências: o lote A, coletado no município de Crato, CE, no ano de 2001; o lote B, oriundo da cidade de Boa Vista, RR, coletado em 2003 e o lote C coletado na região do Norte de Minas Gerais, em 2003. As sementes de cada lote foram armazenadas em sacos plásticos, sendo as do lote A mantidas em temperatura ambiente e as do lotes B e C mantidas em câmara fria com controle de temperatura e umidade.

4.2 Determinação do grau de umidade

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (Brasil, 1992). Foram utilizadas duas repetições contendo um grama de sementes para cada lote e os resultados foram expressos em porcentagem.

4.3 Tratamentos pré-germinativos

Os tratamentos pré-germinativos para a superação da dormência consistiram nos seguintes métodos:

1- escarificação química: as sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado e agitadas por 4, 8 e 12 minutos, sendo em seguida neutralizadas com carbonato de cálcio (CaCO_3) a 2%, durante 3 minutos. Logo após, foram

lavadas em água corrente e colocadas para secar sobre papel, em temperatura ambiente;

2- água quente: as sementes foram colocadas em sacos de filó e imersas em banho-maria com água a 80°C, por 5 e 10 minutos;

3- escarificação mecânica: as sementes foram lixadas (lixa n. 120) na região distal ao eixo embrionário até pequena exposição dos cotilédones;

4- testemunha: sementes sem tratamento pré-germinativo.

Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos.

4.4 Teste de germinação

O teste de germinação foi conduzido em BOD, a 30°C, sob luz constante, em caixas plásticas tipo gerbox, sobre papel mata-borrão, umedecido 2,5 vezes o peso do papel. Foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes em cada tratamento.

As contagens foram realizadas diariamente, por 30 dias, computando-se o número de sementes germinadas e de sementes embebidas. A avaliação de sementes embebidas foi realizada de forma visual. Foram consideradas sementes germinadas as que apresentavam comprimento radicular maior do que 2mm. Após 30 dias da sementeira obteve-se a porcentagem de germinação de acordo com Brasil (1992) e o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de acordo com Maguirre (1962).

4.5 Análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x7, referente a três lotes de sementes de sucupira-preta e sete métodos de superação de dormência. Os dados de germinação foram transformados em $\arcsen\sqrt{x}/100$ e o IVG em $\sqrt{X+0,5}$ (Banzatto & Kronka,

1995), para aproximação da curva normal e submetidos à análise de variância pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003). A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade das sementes dos diferentes lotes de sucupira-preta encontrava-se em torno de 9%, por ocasião da realização do experimento.

Pelos resultados da análise de variância da porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, houve diferença significativa apenas entre os lotes e os tratamentos para quebra da dormência e não houve interação entre os fatores (Anexo 1A).

Pelos resultados obtidos no teste de germinação, observa-se que todos os métodos pré-germinativos para a superação da dormência das sementes de sucupira-preta foram eficientes para favorecer o amolecimento do tegumento (Figura 1). Entretanto, destacam-se o ácido sulfúrico, nos tempos de 8 e 12 minutos e escarificação mecânica, os quais resultaram em 100% de sementes embebidas, independente do lote, ao contrário da testemunha, na qual a porcentagem de sementes embebidas variou de 36%, para o lote B, 54%, para o lote C e 65% para o lote A.

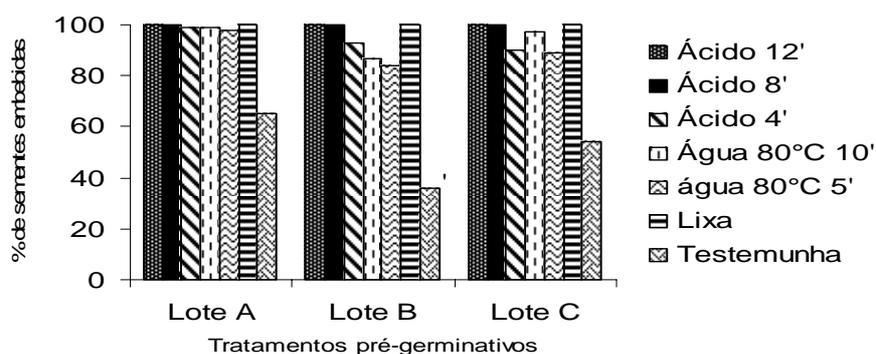


FIGURA 1. Porcentagem média de sementes embebidas obtidas no teste de germinação para três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes tratamentos de superação da dormência. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Por esses resultados, verifica-se a necessidade de utilização de tratamentos pré-germinativos para o desencadeamento da germinação em sementes de sucupira-preta. Resultado semelhante para essa espécie foi constatado por Andrade et al. (1997) que obtiveram valores de germinação em torno de 2% sem nenhum tipo de tratamento. Segundo este mesmo autor, a dormência em sementes dessa espécie está relacionada à impermeabilidade do tegumento à água, dificultando a germinação.

O tratamento que resultou em maior porcentagem de germinação foi a imersão das sementes em ácido sulfúrico concentrado nos tempos de 8 e 12 minutos, diferindo dos demais tratamentos (Tabela 1). O ácido sulfúrico é utilizado freqüentemente em tratamentos pré-germinativos, sendo bastante eficiente na superação de dormência em sementes de fabáceas (Bebawi & Mohamed, 1985; Martins et al., 1992).

Diversos autores constataram a eficácia do ácido sulfúrico na quebra da dormência e promoção da germinação de sementes de sucupira-preta. Porém, esta eficiência foi obtida utilizando-se diferentes tempos de imersão das sementes em ácido sulfúrico. Smiderle & Souza (2003), estudando sementes de sucupira-preta, obtiveram 90% de germinação com 5 minutos de imersão; já Sampaio et al. (2001) observaram, para a mesma espécie, os melhores resultados entre 8 e 11 minutos, atingindo 80% de germinação.

A diferença observada entre os lotes pode ter ocorrido devido a variações genético-ambientais entre os lotes utilizados. Alguns autores relataram que espécies com ampla distribuição geográfica podem responder diferentemente aos tratamentos utilizados, devido aos efeitos de adaptação e à origem (Bianchetti, 1991; Schatral & Fox, 1994; Allen & Meyer, 1998; Anderson & Milberg, 1998).

TABELA 1. Porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de sucupira-preta submetidas a diferentes tratamentos para a superação da dormência. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Tratamentos	% Germinação	IVG
Ácido 12'	75 A	1,37 A
Ácido 8'	77 A	1,40 A
Ácido 4'	71 B	1,30 AB
Água 80°C 10'	63 BC	0,69 BC
Água 80°C 5'	59 C	0,65 C
Lixa	66 B	0,89 B
Testemunha	11 D	0,32 C

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

A escarificação mecânica também foi eficiente para a quebra da dormência, porém, a avaliação do teste de germinação das sementes foi dificultada, uma vez que os tegumentos permaneceram presos aos cotilédones das plântulas, dificultando a observação da protrusão radicular. Além disso, favoreceu um maior desenvolvimento da parte aérea em detrimento da raiz, que atrofiava, já que a mesma não tinha “força” para romper o tegumento, aumentando o número de plântulas anormais. Resultados similares foram observados por Oliveira (2000) em sementes de *Peltophorum dubium*, sendo necessária a remoção dos tegumentos para que a avaliação pudesse ser realizada. O autor sugere, como solução desse problema, que as sementes sejam lixadas na região lateral do tegumento, em vez de lixar na região oposta ao eixo embrionário. De acordo com Burg et al. (1994), o desprendimento dos cotilédones é um importante fator no desenvolvimento das plântulas normais. Se os cotilédones permanecem dentro dos tegumentos, os mesmos tornam-se sujeitos a vários tipos de danos.

Analisando-se os resultados de velocidade de germinação (Tabela 1) observa-se que os melhores resultados também foram para os tratamentos utilizando ácido sulfúrico, principalmente nos tempos de 8 e 12 minutos. De forma geral, houve uma tendência dos maiores valores de porcentagem de germinação estarem associados às maiores médias de velocidades de germinação. Este mesmo comportamento foi observado por Andrade et al. (1997) e por Sampaio et al. (2001), para sementes de sucupira-preta, indicando a existência de uma relação direta entre os dois processos.

Na Figura 2, observa-se a porcentagem de sementes mortas obtida no teste de germinação, para cada tratamento pré-germinativo.

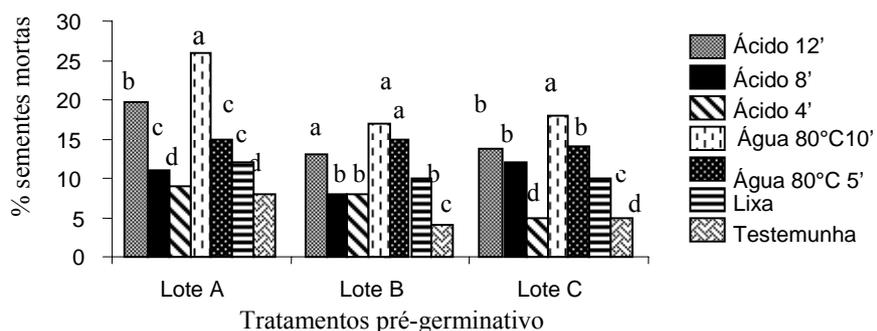


FIGURA 2. Porcentagem média de sementes mortas de três lotes de sucupira-preta obtidas no teste de germinação, para os diferentes tratamentos para a superação da dormência. UFLA, Lavras, MG, 2006.

No tratamento utilizando água a 80°C foi observada uma menor porcentagem, tanto na germinação quanto na velocidade de germinação (Figura 1), quando comparado aos demais métodos, além de gerar o maior número de sementes mortas dentre os tratamentos utilizados (Figura 2). Provavelmente, a alta temperatura empregada afetou a viabilidade do embrião, causando sua morte. Comportamento semelhante foi observado por Alves et al. (2000) com

redução drástica na germinação de sementes de *Bauhinia monandra* Britt., com água a 85°C.

Na Tabela 2, encontram-se os dados referentes à porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação para as sementes dos três lotes de sucupira-preta submetidos aos tratamentos para a superação da dormência.

TABELA 2. Porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidas a diferentes tratamentos para a quebra da dormência. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Lotes	% Germinação	IVG
Lote A	69 A	1,59 A
Lote B	56 B	0,50 B
Lote C	57 B	0,76 B

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

Foi observado que as sementes do lote A germinaram em maior porcentagem e maior velocidade que as sementes dos lotes B e C. Esse comportamento pode ser explicado pelo fato das sementes do lote A terem uma maior idade em relação às dos demais lotes. Segundo Marcos Filho (2005), a dormência das sementes tem relação inversamente proporcional à sua idade, independente da sua causa, sendo que a tendência normal é a gradativa superação da mesma à medida que a semente envelhece.

6 CONCLUSÕES

As sementes de sucupira-preta possuem dormência tegumentar.

Os tratamentos com imersão das sementes de sucupira-preta em ácido sulfúrico por 8 e 12 minutos são eficientes para a superação da dormência.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, P. S.; MEYER, S. E. Ecological aspects of seed dormancy loss. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 2, p. 183-191, June 1998.
- ALVES, M. C. S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E. M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. - Caesalpinoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 139-144, 2000.
- ANDERSON, L.; MILBERG, P. Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 1, p. 29-38, Mar. 1998.
- ANDRADE, A. C. S.; LOUREIRO, B. M.; SOUZA, A. D. de O.; RAMOS, F. N. Quebra de dormência de sementes de sucupira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 5, p. 465-469, maio 1997.
- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.
- BARBOSA, A. P.; SAMPAIO, P. de T. B.; CAMPOS, M. A. A.; VARELA, V. P.; GONÇALVES, C. de Q. B.; IIDA, S. tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw. , Bombacaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 1, p. 107-110, 2004.
- BEBAWI, F. F.; MOHAMED, S. M. The pretreatment of seeds of six Sudanese Acácias to improve their germination response. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, n. 1, p. 111-119, 1985.
- BERTALOT, M. J. A.; NAKAGAWA, J. Superação de dormência em sementes de *Leucaena diversifolia* (Schlecht.) Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 39-42, 1998.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BIANCHETTI, A. Tratamentos pré-germinativos para sementes florestais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 237-246.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

BURG, W. J. van der; AARTSE, J. W.; ZWOL, R. A. van; JALINK, H.; BINO, R. J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 119, n. 2, p. 258-263, Mar. 1994.

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

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 6** – Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2003.

HERMANSEN, L. A.; DUVEA, M. L.; WHITE, T. L. Variability in seed coat dormancy in *Dimorphandra mollis*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 567-580, 2000.

LIMA JUNIOR, E. de C. **Germinação, armazenamento de sementes e fisiologia de plantas jovens de *Cupania vernalis* camb.** 2004. 115 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LOPES, J. C.; CAPUCHO, M. T.; KROHLING, B.; ZANOTTI, P. Germinação de sementes de espécies florestais de *Caesalpineia férrea* Mart. Ex Tul. Var. *leiostachya* Benth., *Cássia grandis* L. e *Samanea saman* Merrill, após tratamento para superar a dormência. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 80-86, 1998.

McDONALD, M. B.; COPELAND, L. O. **Seed production: principles and practices**. New Jersey: Chapman & Hall, 1997. 749 p.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

- MARCOS FILHO, J. Dormência de sementes. In: MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 253-289.
- MARTINS, C. C.; CARVALHO, N. M.; OLIVEIRA, A. P. Quebra de dormência de sabiá *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 5-8, 1992.
- MARTINS ORDER, M. P.; BORGES, R. Z.; JUNIOR, N. B. Fotoperiodismo e quebra de dormência em sementes de Acácia negra (*Acácia mearnsii* De Wild.). **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 9, n. 1. p. 71-77, jun. 1999.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.
- MOUSSA, H.; MARGOLIS, H. A.; DUBÉ, P. A.; ODONGO, J. Factores affecting the germination of doum palm (*Hyphaene thebaica* Mart.) seeds from the semi-arid of Nger, West Africa. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 104, n. 1/3, p. 27-34, May 1998.
- OLIVEIRA, L. M. de. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-x**. 2000. 111 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SAMPAIO, L. S. de V.; PEIXOTO, C. P.; PEIXOTO, M. de F. da S. P.; COSTA, J. A.; GARRIDO, M. da S.; MENDES, L. N. Ácido sulfúrico na superação da dormência de sementes de sucupira preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth. - Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 184-190, 2001.
- SCHATRAL, A.; FOX, J. E. D. Quality and viability of seeds in the genus *Hibbertia*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 2, p. 273-284, 1994.
- SMIDERLE, O. J.; SOUSA, R. de C. P. de. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth – Fabaceae – Papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes** Brasília, v. 25, n. 2, p. 48-52, 2003.
- TELES, M. M.; ALVES, A. A.; OLIVEIRA, J. C. G.; BEZERRA, A. M. E. Métodos para quebra da dormência em sementes de leucena (*Leucaena leucephala* (Lam.) de Wit). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n. 2, p. 387-391, 2000.

CAPÍTULO 4

COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SUCUPIRAPRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) SUBMETIDAS A DIFERENTES TEMPERATURAS E CONDIÇÕES DE LUZ.

1 RESUMO

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Comportamento fisiológico de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) submetidas a diferentes temperaturas e condições de luz. In: _____. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**. 2006. p. 57-72. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

O teste de germinação é bastante utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes, contudo, pouco se conhece a respeito das condições de germinação de muitas espécies florestais. Nesta pesquisa, foi verificada a influência da temperatura e da luz na germinação de sementes de sucupira-preta. Foram utilizados três lotes de sementes, sendo um proveniente do estado do Ceará, coletado em 2001 e os outros de Roraima e Minas Gerais, ambos coletados em 2003. O experimento foi conduzido em esquema fatorial 3x5x2, correspondendo a três lotes de sementes, cinco temperaturas e duas condições luz. O teste de germinação foi conduzido em mesa termogradiante regulada nas temperaturas de 20°C, 25°C, 30°C e 35°C sob luz contínua e em BOD ajustada à temperatura 20-30°C, com fotoperíodo de 12 horas. As sementes foram semeadas em gerbox sob papel mata-borrão, usando 4 repetições de 25 sementes para cada tratamento. Para simular a ausência de luz, os gerbox foram envolvidos com papel alumínio. Foram realizadas contagens diárias por 30 dias, avaliando-se a porcentagem e a velocidade de germinação. No final do teste, as plântulas normais foram secadas até peso constante para a obtenção do peso da matéria seca. A temperatura constante de 25°C e a alternada 20-30°C resultam em maior porcentagem e velocidade de germinação; já a ausência de luz promove aumento da velocidade de germinação das sementes de sucupira preta.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Orientador); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Physiological behavior of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seeds submitted in different temperature and lights conditions. In:____. **Physiological aspects of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seed germinantion.** 2006. p. 57-72. Dissertation (Master degree in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

The germination test is highly used to evaluate the seed physiological quality of seeds, however little is knowing about the condicions of germination for many forest seed species. In this research it was verified the influence of the temperature and light on seed germination of black sucupira. There were used three lots of seeds, being one from Ceará, harvest in 2001, and others from Roraima and Minas Gerais, both harvest in 2003. The experiment was conducted in factorial system 3x5x2, correspoding to three lots of seeds, five temperatures and two light condicions. The germination test was conducted in thermo gradiente table regulated in temperatures of 20°C, 25°C, 30°C and 35°C under constant light and BOD adjusted in temperature 20-30°C with photoperiod of 12 hours. The seeds were sowed in gerbox containing paper, using 4 repetitions of 25 seeds for each treatment. In order to simulate the light absence the gerbox were involved with alluminium paper. There were made the countings daily until 30 days, evaluating the percentage and speed of germination. In the end of the test the normal seedling were dried until constant weight. The tempeature of 25°C and alternate 20-30°C result in higher percentage and germination speed and the absecence of light promote an increase in seed germination speed of black sucupira.

* Guidance Committee: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Adviser); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profª. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A avaliação da qualidade fisiológica de sementes é determinada, principalmente, pela germinação, que é indicativo do potencial dos lotes para fins de semeadura. Para a maioria das espécies cultivadas existem informações sobre as condições ideais de germinação relatadas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Entretanto, poucas são as informações a respeito das condições de germinação para sementes de espécies florestais.

A germinação é um processo biológico regulado por diversos fatores, dentre eles a temperatura e a luz exercem influência significativa sobre o mesmo. A temperatura afeta tanto a porcentagem final como também a velocidade de germinação; além disso, ainda está relacionada com as reações bioquímicas necessárias para o início do processo germinativo (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Segundo Copeland & McDonald (1985), a germinação será mais rápida e o processo mais eficiente, quanto maior for a temperatura, dentro de certos limites. Dentro da faixa de temperatura em que as sementes de uma espécie germinam, existe uma temperatura ótima, na qual ocorre o máximo de germinação em menor intervalo de tempo, sendo a mesma variável entre as espécies (Bewley & Black, 1994).

Vários autores estudaram a temperatura mais adequada para a germinação de algumas espécies florestais. Foram definidas como ótimas as temperaturas de 25°C e 30°C para sementes de *Mabea fistulifera* Mart. (Leal Filho & Borges, 1992) e de *Acacia polyphylla* DC. (Araújo Neto et al. 2003), 30°C para sementes de *Peltophorum dubium* (Oliveira, 2000) e de 25°C para sementes de *Protium widgrenii* Engler. (Seiffert, 2003).

Com relação à exigência de luz na germinação, há sementes que germinam somente após rápida exposição à luz, outras que necessitam de período amplo de exposição, outras em que a germinação é desencadeada somente no escuro e, existe ainda, as sementes indiferentes à luz (Vázquez Yanes & Orozco Segovia 1991).

Em espécies florestais, estudos têm sido realizados para avaliar o efeito da condição de luz sobre a germinação. Em *Mimosa scabrella* Benth., *Chorisia speciosa* St. Hill., *Tabebuia avellaneda* Lor. Ex Griseb. e *Esenbeckia leiocarpa* Engl., a germinação das sementes é maior no escuro (Dias et al., 1992). Enquanto sementes de *Mimosa bimucronata* (DC.) Kuntze têm maior velocidade de germinação na luz branca (Grande & Takaki, 1998), já em sementes de *Peltophorum dubium* não há diferenças na porcentagem de germinação, quando expostas à luz ou na sua ausência (Perez et al., 1999).

São escassas as informações sobre os fatores que afetam a germinação de sementes de sucupira-preta. Dessa forma, nesta pesquisa foram estudados os efeitos de diferentes temperaturas e condições de luz sobre o comportamento fisiológico das sementes de sucupira preta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

4.1 Obtenção das sementes

Foram utilizados três lotes de sementes de sucupira-preta de diferentes procedências: o lote A coletado no município de Crato, CE, no ano de 2001, o lote B da cidade de Boa Vista, RR, coletado em 2003, e o lote C, da região do Norte de Minas Gerais, coletado em 2003. As sementes de cada lote foram armazenadas em sacos plásticos, tendo as do lote A sido mantidas em temperatura ambiente, enquanto que as dos lotes B e C foram mantidos em câmara fria com controle de temperatura e umidade.

4.2 Determinação do grau de umidade

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C}\pm 3^{\circ}\text{C}$, por 24 horas (Brasil, 1992). Foram utilizadas duas repetições contendo um grama de sementes para cada lote e os resultados foram expressos em porcentagem.

4.3 Teste de germinação

Inicialmente, as sementes foram imersas em ácido sulfúrico por 8 minutos para a superação da dormência, sendo, em seguida, colocadas em solução contendo carbonato de cálcio a 2%, por 3 minutos, para neutralizar o efeito do ácido. Logo após, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos.

O teste de germinação foi conduzido em mesa termogradiante, tendo as temperaturas reguladas a 20°C, 25°C, 30°C e 35° ± 2°C, sob luz contínua e em BOD regulada à temperatura alternada 20-30°C, com fotoperíodo de 12 horas associado à temperatura mais elevada. As sementes foram semeadas sobre papel mata-borrão, umedecidas 2,5 vezes o peso do papel e acondicionadas em caixas de acrílico tipo gerbox. Para simular a condição sem luz, os gerboxes foram envolvidos com papel alumínio. Foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes em cada tratamento.

As contagens foram realizadas diariamente, por 30 dias, computando-se o número de sementes germinadas. Foi considerada semente germinada aquela que tinha comprimento radicular maior do que 2 mm. Ao final deste período, obteve-se a porcentagem de germinação, de acordo com Brasil (1992) e o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de acordo com Maguirre (1962). Ao final do teste, as plântulas normais foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C e pesadas até atingir pesos constantes para a obtenção do peso de matéria seca.

Para os tratamentos realizados na ausência de luz, as contagens foram feitas em ambiente iluminado com luz verde.

4.4 Análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x3x2, referente a cinco temperaturas, três lotes de sementes e duas condições de luz. Os dados de germinação foram transformados em $\arcsen\sqrt{x}/100$ e o IVG em $\sqrt{X}+0,5$ de acordo com Banzatto & Kronka (1995), para aproximação da curva normal e submetidos à análise de variância pelo programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003). A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância da porcentagem de germinação, apenas os fatores isolados, lote e temperatura foram significativos, enquanto que, para o índice de velocidade de germinação (IVG), foi observada interação significativa entre temperatura e luz, temperatura e lote, e lote e luz (Anexo 2A). Já para a matéria seca, a interação entre temperatura, luz e lote foi significativa (Anexo 3A).

O grau de umidade das sementes dos diferentes lotes de sucupira-preta encontrava-se em torno de 10% por ocasião do teste de germinação.

Na avaliação da porcentagem de germinação (Tabela 1), foi observada diferença entre as temperaturas testadas, tendo os maiores valores ocorridos nas temperaturas de 25°C e na alternada de 20-30°C.

TABELA 1. Porcentagem média de germinação de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidas a diferentes temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Temperaturas	% G	Lotes	%G
20 °C	76 B	Lote A	77 A
25 °C	82 A		
30 °C	74 B	Lote B	68 B
35 °C	59 C		
20-30°C	79 A	Lote C	77 A

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Houve também diferenças em relação aos lotes de sementes de sucupira-preta. Os lotes A e C foram significativamente semelhantes e com germinação das sementes superior ao lote B (Tabela 1).

Para o índice de velocidade de germinação (Tabelas 2, 3 e 4) observa-se que as sementes germinadas em temperatura alternada de 20-30°C, na presença de luz, tiveram IVG superior (Tabela 2). Entretanto, na ausência de luz, sob temperatura alternada de 20-30°C, foram verificados valores semelhantes aos observados nas sementes germinadas, nas temperaturas de 25°C e 30 °C. Com relação ao efeito da luz, a ausência dessa promoveu o aumento da velocidade de germinação para todas as temperaturas estudadas, exceto para a temperatura alternada, em que não houve diferença significativa. Melo (2005), estudando a germinação de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.), encontrou resultados semelhantes, apontando a temperatura alternada 20-30°C como a melhor para promover uma germinação mais rápida e acentuada. Entretanto, a condição de luz na temperatura alternada, da mesma forma que neste trabalho, não influenciou na resposta do fitocromo à promoção da germinação.

Com relação aos lotes (Tabela 3), a ausência de luz proporcionou velocidade de germinação superior para os lotes A e C. Embora as sementes de sucupira-preta germinem em maior velocidade na ausência de luz, essa espécie pode ser considerada como indiferente à luz, pois ela germina tanto na presença quanto na ausência da mesma. Resultados semelhantes foram relatados por Menezes et al. (2004) que, ao estudarem o comportamento de sementes de *Salvia splendens* Sw., observaram um melhor desempenho na ausência de luz e, da mesma forma, consideraram a espécie como indiferente à luz.

Analisando-se a interação entre temperatura e lote (Tabela 4), observou-se que, na temperatura alternada, a velocidade de germinação para as sementes do lote A foi superior, enquanto que, para as dos lotes B e C, a germinação nas temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C ocorreu na mesma velocidade de germinação da temperatura alternada e, para o lote C, a germinação nas temperaturas de 25°C e 30°C também não diferiu daquela

ocorrida na temperatura alternada. De maneira geral, para as sementes do lote A foi observada maior velocidade de germinação do que para as sementes dos demais lotes em todas as temperaturas testadas, a exceção na temperatura de 35°C.

TABELA 2. Resultados médios do índice de velocidade de germinação de sementes de sucupira-preta submetidas a diferentes temperaturas na ausência e presença de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Temperatura					
Condição de luz	20°C	25°C	30°C	35°C	20-30
Com luz	1,59 B bc	1,85 B b	1,41 B c	1,16 B d	2,35 A a
Sem luz	2,04 A b	2,48 A a	2,45 A a	1,34 A c	2,54 A a

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

TABELA 3. Resultados médios do índice de velocidade de germinação de três lotes de sementes de sucupira-preta na ausência e presença de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Lote			
Condição de luz	A	B	C
Com luz	2,09 B a	1,43 A b	1,48 B b
Sem luz	2,60 A a	1,75 A c	2,13 A b

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

TABELA 4. Resultados médios do índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Lote	Temperatura				
	20°C	25°C	30°C	35°C	20-30°C
A	2,30 A bc	2,72 A b	2,10 A c	1,37 A d	3,39 A a
B	1,57 B a	1,86 B a	1,67 B a	1,03 B b	1,88 B a
C	1,61 B bc	1,93 B ab	1,86 B ab	1,35 A c	2,16 B a

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os resultados estão de acordo com Bewley & Black (1994), que afirmam que a capacidade germinativa de uma semente, assim como a sua velocidade de germinação, é afetada pela temperatura. As sementes têm a capacidade de germinar dentro de uma determinada faixa de temperatura, característica para cada espécie, mas, o tempo necessário para se obter a porcentagem máxima de germinação é dependente da temperatura. Segundo Carvalho & Nakagawa (2000), temperaturas inferiores ou superiores à ótima tendem a reduzir a velocidade do processo germinativo, expondo as plântulas por maior período a fatores adversos, o que pode levar à redução no total de germinação.

A eficiência da temperatura alternada em propiciar melhores condições de germinação para sementes de algumas espécies tropicais é relatada por diversos autores, tais como Santos & Aguiar (2000), para *Sebastiania commersoniana* (Baill) Smith & Down; Almeida (2001) para *Cryptocaria aschersonianaz* Mez. e Silva & Aguiar (2004), para *Cnidosc ulus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm.

As sementes que respondem à alternância da temperatura possuem mecanismos enzimáticos que funcionam em diferentes temperaturas (Vázquez

Yanes & Orozco Segovia 1987) e, segundo Borges & Rena (1993), essa resposta corresponde, provavelmente, a uma adaptação às flutuações naturais do ambiente.

Pelos resultados relativos à matéria seca (Tabela 5), verifica-se que, na temperatura de 35°C, houve redução significativa da mesma para as sementes do lote A na presença de luz e, para as sementes dos outros lotes, isto ocorreu na ausência de luz, já para as outras temperaturas, os resultados permanecem constantes, ou seja, não houve diferença significativa entre as mesmas.

TABELA 5. Matéria seca das plântulas obtidas no teste de germinação de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidas a diferentes temperaturas na presença e ausência de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

		Temperatura				
Lote	C. luz	20°C	25°C	30°C	35°C	20-30°C
A	Com Luz	0,24 A ab	0,27 A a	0,23 A ab	0,15 A b	0,23 A ab
	Sem luz	0,18 A a	0,24 A a	0,19 A a	0,17 A a	0,23 A a
B	Com luz	0,27 A a	0,24 A a	0,20 A a	0,23 A a	0,25 A a
	Sem luz	0,23 A ab	0,26 A a	0,25 A a	0,13 B b	0,26 A a
C	Com luz	0,19 A a	0,23 A a	0,22 A a	0,22 A a	0,23 A a
	Sem luz	0,24 A a	0,24 A a	0,26 A a	0,09 B b	0,22 A a

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

De forma geral, a produção de matéria seca de sementes de sucupira-preta não foi afetada pela condição de luz, sugerindo que essa espécie comporta-se como indiferente à luz. Entretanto, Menezes et al. (2004) relatam que, em sementes de sálvia, a presença de luz estimulou o aumento da matéria seca; já para sementes de *Hedyosmum brasiliense* Mart., Berkenbrock & Paulilo (1999) observaram que a presença de luz inibiu o ganho de matéria seca.

6 CONCLUSÃO

As temperaturas mais adequadas para a germinação de sementes de sucupira-preta são 25°C e alternada 20-30°C.

Temperatura de 35°C é prejudicial à germinação e ao acúmulo de matéria seca.

Sementes de sucupira-preta têm maior velocidade de germinação no escuro.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. P. de. **Germinação, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. Sob diferentes níveis de radiação.** 2001. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ARAÚJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, V. M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasileira de Botânica, São Paulo**, v. 26, n. 2, p. 249-256, abr./jun. 2003

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola.** 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.

BERKENBROCK, I. S.; PAULILO, M. T. S. Germinação e crescimento inicial de *Maytenus robusta* Reiss. e *Hedyosmum brasiliense* Mart. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 243-248, 1999.

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

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais.** Brasília: ABRATES, 1993. p. 83-135.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

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

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. **Principles of seeds science and technology.** New York: Macmillanl, 1985. 321 p.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y.; ISSIKI, K. Qualidade de luz e germinação de espécies arbóreas tropicais. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 22, n. 1, p. 79-84, mar. 1992.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 6** – Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2003.

GRANDE, F. G. A. F.; TAKAKI, M. Efeito da temperatura e luz na germinação de sementes de *Mimosa bimucronata*. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 1998, Salvador. **Resumos...** Salvador: UFBA. Instituto de Biologia, 1998. p. 186.

LEAL FILHO, N.; BORGES, E. E. L. Influência da temperatura e da luz na germinação de sementes de canudo de pito (*Mabea fistulifera* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 1, p. 57-60, 1992.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MELO, P. R. B. de. **Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação**. 2005. p. 39-58. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MENEZES, N. L. de.; FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T.; NUNES, E. P. Germinação de sementes de *Salvia splendens* Sellow em diferentes temperaturas e qualidades de luz. **Revista Brasileira de sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 32-37, 2004.

OLIVEIRA, L. M. de. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-x**. 2000. 111 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEREZ, S. C. J. G. A.; FANTI, S. C.; CASALI, C. A. Dormancy break and light quality effects on seed germination of *Peltophorum dubium* Taub. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 131-137, abr./jun. 1999.

SANTOS, S. R. G.; AGUIAR, I. B. Germinação de sementes de branquilha (*sebastiania commersoniana* (Baill) Smith & Down) em função do substrato e do regime de temperatura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 120-126, 2000.

SEIFFERT, M. **Alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes e anatomia foliar de *Protium widgrenii* Engler**. 2003. 81 p.
Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, L. M. de M.; AGUIAR, I. B. de. Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidoscopus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. (faveleira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1. p. 19-14, 2004.

VÁZQUEZ-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA, A. Fisiología ecológica de semillas en la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtles”, Veracruz, México. **Revista de Biología Tropical**, San José, v. 35, n. 1, p. 85-96, jun. 1987.

VÁZQUEZ-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA. Seed viability, longevity and dormancy in a tropical rain forest. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1991, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 175-196.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE SUCUPIRA-PRETA (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) PELO TESTE DE RAIOS X

1 RESUMO

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Avaliação da qualidade de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) pelo teste de raios X. In: _____. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.)**. 2006. p. 73-87. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Injúrias representam um fator limitante para a viabilidade de sementes e, dependendo da sua intensidade, podem reduzir o seu vigor, produzindo plântulas fracas e, conseqüentemente, mais susceptíveis às condições adversas. Nesta pesquisa, foi verificada a eficiência do teste de raios X na avaliação de danos em sementes de sucupira-preta e sua relação com o teste de germinação. Foram utilizados três lotes de sementes, sendo um deles coletado no estado do Ceará, no ano de 2001 e os outros em Roraima e Minas Gerais, no ano de 2003. Inicialmente, as sementes foram expostas a diferentes intensidades de radiação por diferentes tempos, sendo, em seguida, as sementes divididas em três categorias, de acordo com as imagens visualizadas nas radiografias: sementes sem danos, com pequenos danos e danos severos. O experimento foi conduzido em esquema fatorial 3x3, correspondendo a três lotes e três categorias de sementes. As variáveis analisadas foram a porcentagem e índice de velocidade de germinação. Pelos resultados foi observado que a intensidade de 30 Kv por 45 segundos permite melhor visualização dos danos nas sementes de sucupira-preta, danos esses que afetam a germinação.

* Comitê Orientador: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Orientador); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profª. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

2 ABSTRACT

ALBUQUERQUE, Keline Sousa. Evaluation of seed quality of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) by X ray test . In: _____. **Physiological aspects of black sucupira (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) seed germination.** 2006. p. 73-87. Dissertation (Master degree in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil. *

Injuries represent a limiting factor for the seed viability and depending of its intensity it can reduce its vigour, producing weak seedling and consequently more susceptible to adverse conditions. In this research it was verified the efficiency of X ray test to evaluate damage in seeds of black sucupira and its relate with germination test. There were used three lots of seeds, being one of them from Ceará, harvested in 2001, and others from Roraima and Minas Gerais, both harvest in 2003. Initially the seeds were exposed in different intensities of radiation for different times. Being in the next step the seeds was separated in three categories according to the images obtained in radiographs: seeds without damage, seeds with little damage and seeds with severe damage. The experiment was conducted in factorial system 3x3, corresponding to three lots and three categories of seeds. The variable analyzed were percentage and germination speed index. It was verified that the intensity of 30 Kv for 45 seconds allowed better visualization of the damages in seeds of black sucupira and these damages affect the germination.

* Guidance Committee: Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA (Adviser); Prof. Dr. João Almir de Oliveira – UFLA; Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Injúrias representam um fator limitante para a viabilidade de sementes e, dependendo da sua intensidade, podem reduzir o seu vigor, produzindo plântulas fracas e, conseqüentemente, mais susceptíveis às condições adversas (Carvalho & Nakagawa, 2000). Entretanto, muitos desses danos não são possíveis de serem observados a olho humano, dificultando o descarte das sementes antes da semeadura e comprometendo a qualidade do lote.

O teste de raios X para a avaliação de danos em sementes tem sido utilizado com êxito, sendo recomendado pela ISTA (1993), que o considera um método rápido e não destrutivo, que permite a análise da estrutura interna das sementes.

Aspectos morfológicos das sementes, possivelmente associados à viabilidade, podem ser avaliados pelo teste de raios X (Copeland & McDonald, 1985). A eficiência do teste de raios X para predeterminar a germinação das sementes foi observada para sementes de *Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten (Burg et al., 1994), *Zea mays* L. (Cícero et al., 1998; Carvalho, et al., 1999; Obando-Flor, 2000), *Peltophorum dubium*, (Oliveira, 2000) e *Lithraea molleoides*(Vell.) Engl. (Machado & Cícero, 2002).

Sementes de espécies florestais são comumente alvo de danos ocasionados por insetos e fungos, processos de colheita, dentre outros (Machado & Cícero, 2002; Battisti et al., 2000). Dessa forma, o teste de raios X tem sido recomendado com uma técnica promissora para o estudo de sementes florestais, contribuindo para o controle de qualidade dessas, pela seleção e descarte de sementes de má qualidade física e fisiológica. Entretanto, a eficiência do teste depende de procedimentos específicos para a espécie em estudo, como a

determinação do melhor tempo e intensidade de radiação a que as sementes ficam expostas durante a execução do teste.

Diante do que foi exposto, objetivou-se verificar a possibilidade de utilização do teste de raios X na avaliação de danos internos em sementes de sucupira-preta e observar a relação desses danos com o teste de germinação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Análise de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais, da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

4.1 Obtenção das sementes

Foram utilizados três lotes de sementes de sucupira-preta de diferentes procedências: o lote A coletado no município de Crato, CE, no ano de 2001, o lote B da cidade de Boa Vista, RR e o lote C da região do Norte de Minas Gerais, ambos coletado em 2003. As sementes de cada lote foram armazenadas em sacos plásticos, tendo as do lote A sido mantidas em temperatura ambiente, enquanto que as dos lotes B e C foram mantidas em câmara fria com controle de temperatura e umidade.

4.2 Determinação do grau de umidade

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (Brasil, 1992). Foram utilizadas duas repetições contendo um grama de sementes para cada lote e os resultados foram expressos em porcentagem.

4.3 Teste de raios X

A princípio foram realizados testes com o objetivo de selecionar os melhores tempos e intensidades de radiação para as sementes de sucupira-preta.

As sementes foram dispostas sobre fita adesiva transparente dupla face, aderida a uma placa de acrílico. Em seguida, as placas foram sobrepostas ao

filme radiográfico Kodak, Min-R 2000 e expostos à radiação utilizando o equipamento de raios X Faxitron HP, modelo 43855A X. Submeteu-se as sementes às potências de 15, 20, 25, 30 e 60 Kv, por 20, 35, 25, 45 e 60 segundos, respectivamente.

Determinadas as melhores condições radiográficas (30 Kv por 45 segundos), as sementes foram divididas em três categorias, de acordo com a morfologia interna observada nas radiografias: sementes sem danos, com pequenos danos (menos de 50% do embrião danificado) e sementes com danos severos (mais de 50% do embrião danificado) sendo, em seguida, submetidas ao teste de germinação.

4.4 Teste de germinação

Inicialmente, as sementes foram submetidas à superação da dormência com ácido sulfúrico concentrado por 8 minutos e, em seguida, foram colocadas em solução de carbonato de cálcio a 2%, por 3 minutos, para neutralizar o efeito do ácido. Logo após, as sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2%, por 2 minutos.

O teste de germinação foi conduzido em câmara de germinação tipo BOD, à temperatura alternada 20-30°C, com fotoperíodo de 12 horas associado à temperatura mais elevada. As sementes foram semeadas em caixas plásticas tipo gerbox sobre papel mata-borrão, umedecidas 2,5 vezes o peso do papel. Foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes em cada tratamento.

As contagens foram realizadas diariamente, por 30 dias, computando-se o número de sementes germinadas. Foi considerada semente germinada aquela com comprimento radicular maior do que 2mm. Ao final do período, obteve-se o número de plântulas normais, de acordo com Brasil (1992) e o índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de acordo com Maguirre (1962).

4.5 Análise dos dados

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, referente a três categorias de sementes e três lotes. Os dados de germinação foram transformados em $\arcsen \sqrt{x/100}$ e do IVG em $\sqrt{X+0,5}$, de acordo com Banzatto & Kronka (1995) para aproximação da curva normal e submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003). A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise da variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, foi observada interação significativa entre as categorias dos danos detectados pelos raios X e os lotes utilizados (Anexo 4A).

A intensidade de 30 Kv por 45 segundos permitiu uma melhor visualização das estruturas internas das sementes de sucupira-preta. Na Figura 1, observam-se as radiografias de sementes das três categorias e as plântulas geradas no teste de germinação.

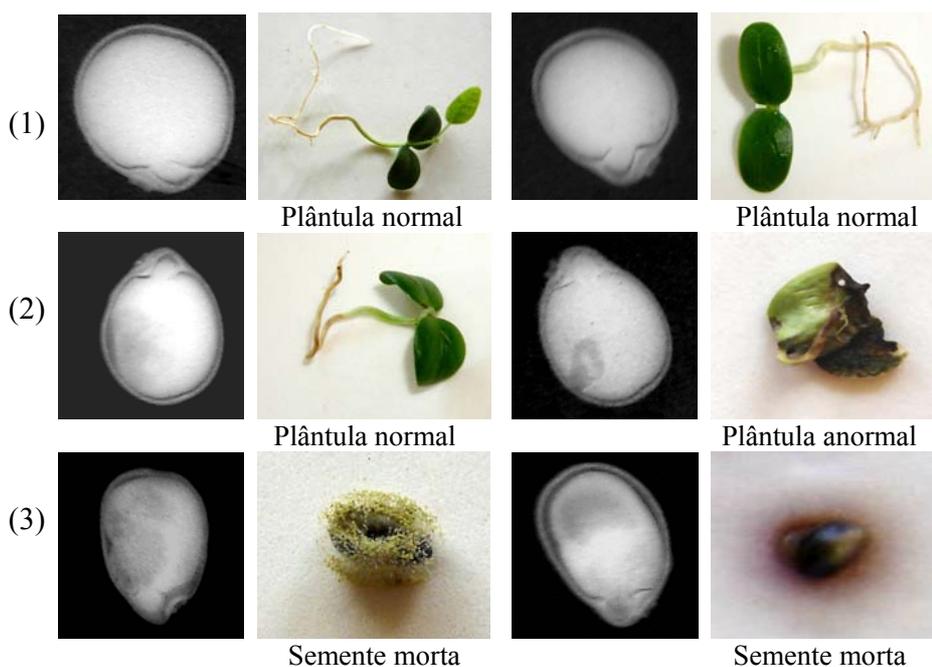


FIGURA 1. Imagens radiográficas de sementes de sucupira-preta e suas respectivas plântulas resultantes do teste de germinação. (1) sem danos, (2) pequenos danos e (3) danos severos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Melo (2005), estudando aquênios de *Lychophora pinaster*, também obteve a melhor visualização da morfologia interna, utilizando a intensidade de 30 Kv por 45 segundos, enquanto que Masetto (2005) utilizou a combinação de 50 Kv por 60 segundos, para sementes de *Eugenia handroana*. Já Oliveira (2004) obteve melhor visualização das estruturas internas das sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *Tabebuia impetiginosa* Martius Ex A. P. De Candolle Standley, com a intensidade de 55Kv por 25 segundos. A variação observada entre diferentes espécies em relação à intensidade e tempo de exposição das sementes à radiação está relacionada com diferenças na espessura, densidade e composição das sementes, dentre outras (ISTA, 1993).

Por ocasião da realização do teste de germinação, as sementes continham um teor de água por volta dos 10%.

Nas Tabelas 1 e 2 podem ser observados os resultados referentes à porcentagem de germinação e IVG das sementes de sucupira-preta, nas três categorias selecionadas por meio do teste de raios X para os três lotes utilizados. As sementes da categoria sem danos tiveram germinação superior para os lotes A e C. Este mesmo comportamento foi verificado para sementes com pequenos danos, embora a redução da germinação tenha sido bastante drástica de uma categoria para outra. Sementes em que foram observados danos severos nas imagens radiográficas não originaram nenhuma plântula normal para o teste de germinação em todos os lotes utilizados.

O índice de velocidade de germinação (Tabela 2) seguiu a mesma tendência da germinação. Maior velocidade foi observada nas sementes da categoria sem danos, com o lote A se destacando dentre os demais. Para as sementes da categoria danos severos, houve a redução da velocidade de germinação em todos os lotes estudados. Vale ressaltar que as sementes dessa categoria foram capazes de germinar, porém, resultaram em plântulas anormais.

TABELA 1. Porcentagem de germinação de três lotes de sementes de sucupira-preta separados em três categorias, de acordo com a análise radiográfica. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Categoria			
Lotes	Sem danos	Pequenos danos	Danos severos
A	94 A a	56 AB b	0 A c
B	86 B a	36 B b	0 A c
C	96 A a	65 A b	0 A c

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

TABELA 2. Índice de velocidade de germinação de três lotes de sementes de sucupira-preta separados em três categorias, de acordo com a análise radiográfica. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Categoria			
Lotes	Sem danos	Pequenos danos	Danos severos
A	4,36 A a	2,52 A b	0,25 A c
B	1,47 C a	0,96 B b	0,39 A c
C	2,62 B a	2,37 A a	0,11 A b

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na Figura 2 observam-se os dados referentes à porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas de sucupira-preta, no teste de raios X. De uma forma geral, nas sementes sem danos foi observada maior porcentagem de plântulas normais, seguidas das sementes com pequenos danos. Já as sementes com danos severos não tiveram plântulas normais, gerando apenas plântulas anormais e sementes mortas. Foi observada, ainda, uma alta incidência de fungos na categoria de sementes com danos severos. Este fato

indica a inviabilidade de sementes com mais de 50% do embrião danificado e o descarte desse tipo de semente permitirá uma melhoria na qualidade do lote.

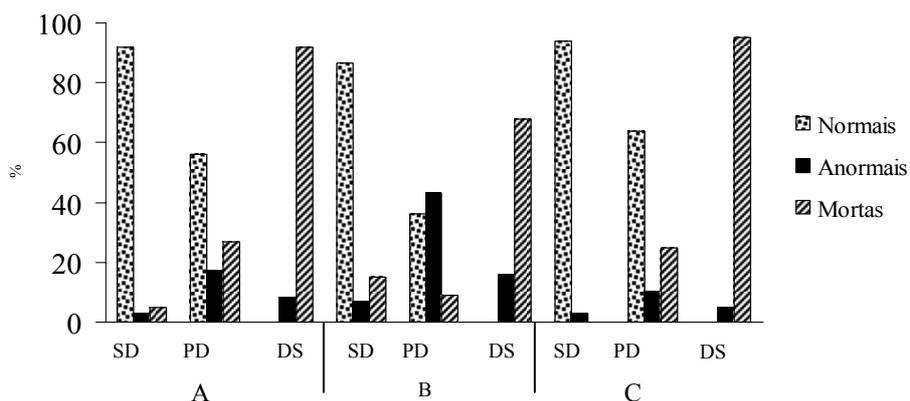


FIGURA 2. Porcentagem média de plântulas normais, anormais e sementes mortas obtidas no teste de germinação para as categorias, de acordo com a análise radiográfica para sementes de sucupira-preta. SD (sem danos), PD (pequenos danos) e DS (danos severos). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Segundo Carvalho & Nakagawa (2000), injúrias podem provocar danos no tegumento que facilitam o acesso de microrganismos patogênicos ao interior das sementes, resultando na morte das mesmas.

O teste de raios X de sementes de sucupira-preta, quando relacionado com o teste de germinação, pode auxiliar na avaliação da qualidade física das sementes. Marcos Filho (2005) descreve que testes que envolvem aspectos morfológicos ou características físicas das sementes, possivelmente, estão relacionados ao vigor.

6 CONCLUSÃO

A utilização de 30 Kv por 45 segundos permite a visualização de danos internos nas sementes de sucupira-preta.

O teste de raios X é eficiente na avaliação de danos internos que afetam a germinação em sementes de sucupira-preta, reduzindo a qualidade do lote.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.
- BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECCI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BURG, W. J. van der; AARTSE, J. W.; ZWOL, R. A. van; JALINK, H.; BINO, R. J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.119, n.2, p.258-263, Mar. 1994.
- CARVALHO, M. L. M. de; VAN AELST, A. C.; VAN ECK, J. W.; HOEKSTRA, F. A. Pré-harvest stress crack in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visua, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, Wallingford, v.9, n.3, p.227-236, Sept. 1999.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CÍCERO, S. M.; VAN DER HEIJDEN, G. W. A. M.; VAN DER BURG, W. J.; BINO, R. J. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.26, n.3, p.603-612, 1998.
- COPELAND, L. O.; McDONALD, M. **Principles of seeds science and technology**. New York: Macmillan, 1985. 321 p.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.6** – Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2003.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 21, p. 363, 1993. Supplement.

MACHADO, C. F.; CÍCERO, M. S. Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.). **Informativo ABRATES**, São Paulo, v. 12, n. 123, p. 28-34, 2002.

MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MARCOS FILHO, J. Avaliação do potencial fisiológico de sementes. In: MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 459-495.

MASETTO, T.E. **Estudo da sensibilidade à dessecação em sementes de *Eugenia handroana* D. Legrand (Myrtaceae)**. 2005. 60p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)- Universidade Federal de Lavras, lavras, MG.

MELO, P. R. B. de. **Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação**. 2005. p. 39-58. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OBANDO FLOR, E. P. **Danos internos de secagem avaliados pelo teste de raios-X e seus efeitos na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) armazenadas**. Lavras, 2000. 62 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, MG.

OLIVEIRA, L. M. de. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-x**. 2000. 111 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, L. M. de. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *Tabebuia impetiginosa* (Martius Ex A. P. De Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente**. 2004. 160 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ANEXOS

	Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade germinação (IVG), obtidos para três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes tratamentos de superação da dormência. UFLA, Lavras, MG, 2006.....
	89
TABELA 2A	Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes temperaturas e condições de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.....
	89
TABELA 3A	Resumo da análise de variância para matéria seca de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes temperaturas e condições de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.....
	90
TABELA 4A	Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de sucupira-preta analisados radiograficamente. UFLA, Lavras, MG, 2006.....
	90

TABELA 1A. Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade germinação (IVG) obtidos para três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes tratamentos de superação da dormência. UFLA, Lavras, MG, 2006.

FV	Germinação			IVG	
	GL	QM	Pr>Fc	QM	Pr>Fc
Lote	2	3340,334658	0,0000*	1,207845	0,0000*
Tratamento	6	170,130966	0,0000*	0,147041	0,0000*
Lote*tratamento	12	134,738699	0,1763 ^{NS}	0,034084	0,0935 ^{NS}
Erro	63	94,211288		0,020316	
CV (%)		29,76		13,21	

TABELA 2A. Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes temperaturas e condições de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

FV	Germinação			IVG	
	GL	QM	Pr>Fc	QM	Pr>Fc
Lote	2	494,260450	0,0000*	0,608764	0,0000*
Temperatura	4	804,996609	0,0000*	0,520059	0,0000*
Luz	1	73,903047	0,1833 ^{NS}	0,776584	0,0000*
Temperatura*luz	4	65,867181	0,1805 ^{NS}	0,076028	0,0000*
Lote*temperatura	8	42,561955	0,4156 ^{NS}	0,049413	0,0000*
Lote*luz	2	20,492404	0,6090 ^{NS}	0,026881	0,0289*
Lote*temperatura*luz	8	62,382243	0,1621 ^{NS}	0,009251	0,2697 ^{NS}
Erro	90	41,098240		0,007290	
CV (%)		24,84		5,52	

TABELA 3A. Resumo da análise de variância para matéria seca de três lotes de sementes de sucupira-preta submetidos a diferentes temperaturas e condições de luz. UFLA, Lavras, MG, 2006.

FV	GL	QM	Pr>Fc
Lote	2	0,004431	0,2283 ^{NS}
Temperatura	4	0,023711	0,0000*
Luz	1	0,006453	0,1427 ^{NS}
Temperatura*luz	4	0,006672	0,0687 ^{NS}
Lote*temperatura	8	0,001185	0,9169 ^{NS}
Lote*luz	2	0,000606	0,8148 ^{NS}
Lote*temperatura*luz	8	0,006362	0,0383*
Erro	90	0,002951	
CV (%)		24,84	

TABELA 4A. Resumo da análise de variância para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de sucupira-preta, analisados radiograficamente. UFLA, Lavras, MG, 2006.

FV	GL	Germinação		IVG	
		QM	Pr>Fc	QM	Pr>Fc
Lote	2	820,317891	0,0000*	0,522785	0,0000*
Categoria	2	14288,191447	0,0000*	2,763598	0,0000*
Lote*categoria	4	273,632062	0,0027*	0,245394	0,0000*
Erro	27	51,209751		0,009129	
CV (%)		18,87		6,82	