



**PAULO ROBERTO MAGISTRALI**

**EFEITO DE TAXAS SECAGEM NA  
TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO E O  
ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Genipa  
americana* L.**

**LAVRAS - MG**

**2013**

**PAULO ROBERTO MAGISTRALI**

**EFEITO DE TAXAS DE SECAGEM NA TOLERÂNCIA À  
DESSECAÇÃO E O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Genipa  
americana* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Ciências Florestais, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador  
Dr. Anderson Cleiton José

**LAVRAS – MG**

**2013**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Magistrali, Paulo Roberto.

Efeito de taxas de secagem na tolerância à dessecação e o armazenamento de sementes de *Genipa americana* L. / Paulo Roberto Magistrali. – Lavras : UFLA, 2013.

91 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Anderson Cleiton José.

Bibliografia.

1. Jenipapo. 2. Sensibilidade à dessecação. 3. Tecnologia de sementes. 4. Classificação fisiológica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.9562

**PAULO ROBERTO MAGISTRALI**

**EFEITO DE TAXAS DE SECAGEM NA TOLERÂNCIA À  
DESSECAÇÃO E O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Genipa  
americana* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, área de concentração em Ciências Florestais, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de fevereiro de 2013.

Dr. Antônio Cláudio Davide	UFLA
Dr. Jessé Marques da Silva Júnior	UFLA
Dr. Renato Mendes Guimarães	UFLA

Dr. Anderson Cleiton José  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2013**

Aos meus pais, *Moacir Magistrali* e *Jurema dos Santos*, pessoas íntegras, de fibra e moral que são o alicerce para minha formação pessoal e profissional...

DEDICO

A minha irmã, *Iris Cristiane Magistrali*, por sua garra, perseverança, idoneidade e profissionalismo, atributos dos quais tenho orgulho e admiração...

OFEREÇO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me concedeu uma família maravilhosa e sempre esteve onipresente em meu caminho, guiando meus passos e permitindo-me viver novamente para presenciar este momento...

Aos meus pais; Moacir Magistrali e Jurema dos Santos, pela criação, carinho, zelo, apoio, preocupação, pelas palavras de sabedoria e por acreditarem na minha educação, apoiando-me impreterivelmente em todos os momentos decisivos.

A minha irmã, Iris Cristiane Magistrali (a parte inteligente da família), que assim como eu está destinada à docência, por ser uma excelente Engenheira Florestal atuando com profissionalismo e dedicação, aconselhando e estimulando-me a crescer, cada vez mais, profissionalmente;

Ao professor, Dr. Anderson Cleiton José, pelo extremo profissionalismo e excelente orientação científica, atributos dos quais, nunca esquecerei em minha vida, pela amizade, parceria, dedicação, paciência e infinito conhecimento;

À Olívia Tonetti, pelo conhecimento, amizade, companheirismo, conselhos e imensuráveis caronas (...meu Deus não consegui contabilizar...).

À Janice Ferreira do Nascimento, pelo amor, companheirismo, dedicação, zelo e extrema paciência;

Ao pessoal do Laboratório de Sementes Florestais (Geração 2011/2012), Ailton, Cristiane, Lorena, Natália, Ezequiel, Wilson, Túlio, Janice, Olívia, pela amizade, bom humor, parceria e acima de tudo, companheirismo;

Ao pessoal da República Dr. Cana; Thiago, Zinho e Antônio, que me acolheram e proporcionaram inúmeros momentos de descontração;

À Dona Vilma, por estar sempre presente na república atuando como se fosse (literalmente) uma segunda mãe;

À Cláudia do Laboratório de Microscopia Eletrônica, pela dedicação e excelente profissionalismo;

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento e oportunidade de desenvolver a pesquisa;

## RESUMO

Sementes recém-colhidas de *Genipa americana* apresentam um alto percentual de germinação, contudo, ao serem submetidas à dessecação exibem a perda de viabilidade. Além disso, quando armazenadas em temperaturas sub-zero apresentam curta longevidade. Dados atuais referentes à tecnologia de sementes desta espécie são extremamente escassos principalmente quando referem-se ao comportamento fisiológico das sementes secas e armazenadas. Desta forma, com este trabalho buscou-se elucidar aspectos fisiológicos ligados à tolerância à dessecação e ao armazenamento das sementes de *Genipa americana*. Os objetivos com esta pesquisa foram: 1) avaliar o efeito da perda de umidade por meio de duas taxas de secagem nas características morfofisiológicas das sementes de *Genipa americana* e 2) verificar a capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento das sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem lenta em dois conteúdos de água. Para o objetivo 1 observou-se que sementes de jenipapo secas rapidamente apresentaram perda de viabilidade e danos celulares mais acentuados do que as que foram secas lentamente para o mesmo conteúdo de água. Desta forma, a utilização de secagem lenta pode ser recomendada para as sementes desta espécie. Para o objetivo 2 observou-se um elevado percentual de germinação e de plântulas normais para sementes não armazenadas e secas até 10%. Sementes secas até 10 e 5% de umidade tenderam a redução a viabilidade após um mês de armazenamento. A produção de plântulas normais também foi afetada, contudo, a maior tendência de perda de qualidade fisiológica foi observada para sementes secas a 5% de umidade. Após três meses de armazenamento em ambos os teores de umidade foi observada a redução na germinação indicando que a espécie apresenta sensibilidade a temperaturas abaixo de zero. O comportamento fisiológico observado durante a dessecação e o armazenamento serve para comprovar que as sementes de *G. americana* pertencem ao grupo de sementes intermediárias.

Palavras-chave: Classificação fisiológica. Tecnologia de sementes. Espécie florestal brasileira.

## ABSTRACT

Recently harvested *Genipa americana* seeds present a high percentage of germination. However, when submitted to desiccation, they exhibit loss of viability. In addition, when stored at temperatures below zero, they present short longevity. Current data regarding seed technology for this species are extremely scarce, especially when referring to the physiological behavior of dried and stored seeds. Thus, this work aimed at elucidating the physiological aspects linked to desiccation and storage tolerance of *Genipa americana* seeds. The objectives of this research were: 1) evaluate the effect of humidity loss through two drying rates in the morphophysiological characteristics of *Genipa americana* seeds and 2) verify the capacity for desiccation and storage of *Genipa americana* seeds submitted to slow drying in two water contents. For objective 1, we observed that the jenipapo seeds that were quickly dried presented loss of viability and more accentuated cellular damage than those that were slowly dried, in the same water content. Thus, the use of slow drying may be recommended for the seeds of this species. For objective 2, we observed an elevated percentage of germination and normal seedlings for non-stored seeds that were dried up to 10%. The seeds dried up to 10 and 5% of humidity tended to reduce viability after one month of storage. The production of normal seedlings was also affected. However, the larger tendency for physiological quality loss was observed for seeds dried to 5% of humidity. We observed the reduction in germination after three months of storage at both humidity rates, indicating that the species presents sensibility to temperatures below zero. The physiological behavior observed during desiccation and storage serves to prove that *G. americana* seeds belongs to the group of intermediate seeds.

Keywords: Physiological classification. Seed technology. Brazilian forest species.

## LISTA DE FIGURAS

- Artigo 1
- Figura 1 Curva de embebição das sementes frescas de *Genipa americana* (as setas indicam mudança de fase) ..... 51
- Figura 2 Curvas de secagem das sementes de *Genipa americana*. ..... 52
- Figura 3 Eletromicrografia de varredura de tecidos das sementes frescas de *Genipa americana*. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Corte transversal das células do endosperma. cc – conteúdo celular; pc – parede celular. (C) Detalhe da ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe externo das células da protoderme no eixo hipocótilo/radícula. .... 55
- Figura 4 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas rapidamente até 10,2% de umidade. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Detalhe interno das células do endosperma – setas mostrando espaços intercelulares. (C) Ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe da escamação celular na ponta da radícula do eixo embrionário. (E) Configuração externa das células da protoderme no eixo hipocótilo/radícula. .... 56
- Figura 5 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas rapidamente até 5,4% de umidade. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Detalhe interno das células do endosperma. (C) Ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe do enrugamento celular na ponta da radícula do eixo embrionário. .... 57
- Figura 6 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas lentamente até 10,1% de umidade. (A) Detalhe interno das células do endosperma. (B) Ponta da radícula do eixo embrionário. .... 58
- Figura 7 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas lentamente até 5,1% de umidade. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Detalhe interno das células do endosperma. (C) Ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe das dobras celulares na ponta da radícula do eixo embrionário. .... 59
- Figura 8 Eletromicrografia de transmissão das células da ponta da radícula do eixo embrionário das sementes de *Genipa americana*. (A) Conformação celular de sementes frescas - 46,9% de umidade. (B)

	Detalhe estrutural das células de embriões frescos – v – vacúolo; pc- parede celular. ....	60
Figura 9	Electromicrografia de transmissão das células do eixo embrionário das sementes de <i>Genipa americana</i> submetidas à secagem rápida até 10,2% de umidade. (A) início de dobras na parede celular. (B) Detalhe estrutural da plasmalema das células do embrião. ....	60
Figura 10	Electromicrografia de transmissão das células do eixo embrionário das sementes de <i>Genipa americana</i> . (A) início de dobras na parede celular de sementes secas rapidamente até 5,4 % de umidade. (B) Detalhe estrutural do colapso celular de embrião seco rapidamente até 5,4% de umidade .....	61
Figura 11	Electromicrografia de transmissão das células do eixo embrionário das sementes de <i>Genipa americana</i> . (A) Início de dobras na parede celular do eixo embrionário das sementes secas lentamente até 5,1% de umidade. (B) Indícios de vacuolização das células do eixo embrionário seco lentamente até 5,1% de umidade. ....	61
	Artigo 2	
Figura 1	Protocolo utilizado para a classificação fisiológica de sementes quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. Fonte: Hong e Ellis (1996) .....	82
Figura 2	Conteúdo de água das sementes de <i>G. americana</i> L. em função da secagem lenta. ....	84
Figura 3	Germinação de sementes de <i>Genipa americana</i> secas (10 e 5% de umidade) e armazenadas em diferentes períodos. ....	86
Figura 4	Plântulas normais de sementes de <i>Genipa americana</i> secas a 10 e 5% de umidade e armazenadas em diferentes períodos. ....	87

## LISTA DE TABELAS

	Artigo 1	
Tabela 1	Soluções salinas usadas para realizar a secagem lenta de sementes de <i>Genipa americana</i> . ....	47
Tabela 2	Efeito da perda de umidade na viabilidade de sementes de <i>Genipa americana</i> submetidas à secagem rápida. ....	53
Tabela 3	Efeito da perda de umidade no comportamento germinativo de sementes de <i>Genipa americana</i> submetidas à secagem lenta. ....	54
	Artigo 2	
Tabela 1	Soluções salinas utilizadas para secar lentamente as sementes de <i>Genipa americana</i> . ....	82
Tabela 2	Efeito da perda de umidade no comportamento germinativo de sementes de <i>Genipa americana</i> submetidas à secagem lenta. ....	85

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE: Introdução Geral</b> .....	13
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>2.1</b>	<b>Tolerância à dessecação</b> .....	17
<b>2.2</b>	<b>Aspectos gerais sobre a secagem em sementes</b> .....	21
<b>2.3</b>	<b>Aspectos gerais sobre <i>Genipa americana</i> L.</b> .....	26
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	28
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	29
	<b>SEGUNDA PARTE – Artigos</b> .....	39
	<b>ARTIGO 01: Efeito de taxas de secagem nas características morfofisiológica de sementes de <i>Genipa americana</i> L. (Rubiaceae)</b> ..	39
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	41
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	44
<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	51
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	62
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	67
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	68
	<b>ARTIGO 02: Comportamento fisiológico de sementes de <i>Genipa americana</i> quanto à capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento</b> .....	74
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	76
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	79
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	84
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	88
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	89

## **PRIMEIRA PARTE: Introdução Geral**

### **1 INTRODUÇÃO**

Conhecer o comportamento das sementes quanto à capacidade de tolerar à dessecação e ao armazenamento é de fundamental importância para projetos de recomposição ambiental e programas de conservação de germoplasma, principalmente para as sementes de espécies florestais que possuem sensibilidade à secagem e ao congelamento.

De acordo com Leduc (2007) e Medeiros e Eira (2006), a tolerância à dessecação é uma das mais importantes características que uma semente pode possuir, pois pode possibilitar a sobrevivência da mesma quando ocorrem condições adversas (estresse ambiental) assegurando a disseminação da espécie.

Inúmeros estudos relatam uma série de mecanismos que podem estar associadas à tolerância à dessecação em sementes, dentre eles destacam-se características como a redução do grau de vacuolização; o acúmulo de reservas insolúveis; reações do citoesqueleto, conformação do DNA nuclear; diferenciações intracelulares; desligamento metabólico; presença e eficiência de sistemas antioxidantes; acúmulo de moléculas protetoras; deposição de moléculas anfipáticas; presença de camada periférica de oleosinas eficaz em torno dos corpos lipídicos; bem como, a presença e o funcionamento dos mecanismos de reparação durante a reidratação (BERJAK; PAMMENTER, 2000; LEPRINCE; HENDRY; MCKERSIE, 1993; MARCOS FILHO, 2005; OLIVER; TUBA; MISHLER, 2000; TWEEDLE et al., 2003).

Acredita-se que a tolerância à dessecação seja um processo complexo que envolve a interação de inúmeros fatores que agem em sinergismo e são

controlados pelo genoma da semente (LEDUC, 2007; LEPRINCE; HENDRY; MCKERSIE, 1993).

Roberts (1973) foi o primeiro autor a propor uma classificação em relação ao comportamento fisiológico de sementes secas e armazenadas. Para ele sementes ortodoxas são aquelas que podem ser secas a conteúdos de umidade inferiores aos 10% (base úmida), podendo ser armazenadas a baixas temperaturas sem perda da viabilidade, em contrapartida, sementes recalcitrantes apresentam intolerância à dessecação, perdendo a viabilidade quando armazenadas em baixas temperaturas.

Uma terceira categoria de comportamento foi proposta posteriormente por Ellis, Hong e Roberts (1990) que introduziram o termo sementes intermediárias, para aquelas que apresentavam tolerância parcial a secagem (cerca de 7% de umidade) e permanecem viáveis por períodos superiores ao das recalcitrantes, mas inferior ao das ortodoxas, perdendo a viabilidade em curto espaço de tempo quando armazenadas em baixas temperaturas.

Inúmeras espécies de importância econômica apresentam comportamento intermediário, dentre elas destacam-se *Coffea arabica* (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990, 1991b; HONG; ELLIS, 1992), *Coffea canephora* (HONG; ELLIS, 1995), *Elaeis guineensis* (ELLIS et al., 1991), *Carica papaya* (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1991a) e varias espécies de *Citrus* (HONG; ELLIS, 1995). Este tipo de comportamento também é encontrado em *Azadirachta indica*, *Chrysophyllum cainito*, *Manilkara Achras* (HONG; LININGTON; ELLIS, 1996), *Zizania palustres* (VERTUCCI; ROOS; CRANE, 1994).

De acordo com Hong, Linington e Ellis (1996), a principal característica associada à maioria das sementes com comportamento intermediário no armazenamento é perda de viabilidade imediata após a secagem a teores de umidade relativamente baixos, cerca de 7 a 12%, dependendo da espécie.

Sementes intermediárias de origem tropical morrem mais rapidamente quando secas (umidade entre 7 a 10%) e armazenadas a temperaturas inferiores a 10 °C (ELLIS et al., 1991; ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990, 1991b; HONG; ELLIS, 1992) e em alguns casos, temperaturas abaixo de 0 °C podem matar imediatamente as sementes (ELLIS et al., 1991; ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990, 1991a, 1991b).

Apesar do exposto, é importante lembrar que existe um gradiente de sensibilidade/tolerância à dessecação que varia de sementes extremamente sensíveis a altamente tolerantes (FARRANT et al., 1996; MARCOS FILHO, 2005; WALTERS, 2000).

Em sementes sensíveis a dessecação inúmeros fatores podem afetar o comportamento fisiológico no momento da secagem, dentre estes, destacam-se a temperatura e a taxa de secagem (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002; WESLEY-SMITH et al., 2001).

A taxa de secagem tem sido relatada como um fator que afeta a resposta à dessecação em sementes de espécies recalcitrantes (JOSÉ et al., 2011; WESLEY-SMITH et al., 2001), intermediárias (JOSÉ et al., 2011; ROSA et al., 2005) e ortodoxas (BEWLEY; BLACK, 1994; HONG; LININGTON; ELLIS, 1996). De acordo com Hong, Linington e Ellis (1996), a secagem de sementes visando baixos teores de umidade deve ser realizada em baixas temperaturas (cerca de 15 °C) e de forma relativamente rápida, a fim de minimizar ao máximo o processo de deterioração. Os autores destacam que atrasos na secagem ou secagens lentas associado a altas temperaturas de secagem (acima de 25 °C) tendem a reduzir consideravelmente à viabilidade em sementes tolerantes a dessecação.

Sementes recalcitrantes não podem ser secas sem que ocorra a perda de viabilidade (ROBERTS, 1973), contudo, Pammenter e Berjak (1999) relataram que a secagem rápida melhorou a sobrevivência de sementes e de embriões em

menores conteúdos de água. Estudos sugerem que secagens rápidas em sementes inteiras permitem alcançar menores conteúdos de água sem que ocorra perda de viabilidade das sementes (BERJAK et al., 1990; FARRANT; BERJAK; PAMMENTER, 1986; PAMMENTER et al., 1998; PRITCHARD, 1991).

Segundo Farrant, Berjak e Pammenter (1985), Liang e Sun (2002) e Pritchard (1991) o efeito da taxa de secagem em sementes inteiras é menos pronunciado quando comparado com a secagem de eixos embrionários. Em espécies recalcitrantes a razão pela qual os eixos embrionários respondem diferencialmente a taxas secagem ainda não é bem compreendida (VERTUCCI; FARRANT, 1995; WALTERS et al., 2001a).

De acordo com Pammenter e Berjak (2000), a saída de água da semente pode acarretar injúrias físicas nos tecidos (reduzindo o volume celular) desordenando o metabolismo (degradação por radicais livres); conseqüentemente afetando a capacidade de germinação. Desta forma, reduzir o tempo de exposição das células aos efeitos da secagem provavelmente possibilita minimizar os danos relacionados à dessecação (WESLEY-SMITH et al., 2001).

Deste modo, a velocidade de remoção da água dos tecidos é uma das principais características que devem ser observadas quando se busca adequar metodologias de secagem para sementes sensíveis à dessecação, assim como é o caso das sementes de *G. americana*. Desta forma, este estudo buscou elucidar o efeito de taxas de secagem na tolerância à dessecação de sementes de *Genipa americana* L, bem como, o comportamento fisiológico das sementes durante o armazenamento.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Tolerância à dessecação**

A tolerância à dessecação pode ser definida como a habilidade que um organismo possui de restabelecer as funções metabólicas normais ao ser reidratado, depois de ter passado por uma secagem em equilíbrio higroscópico do ar. Esta característica é raramente observada em plantas adultas, sendo mais comum em grãos de pólen, esporos e sementes (ALPERT, 2000).

Até o momento não existem estudos científicos conclusivos a respeito de como as sementes adquiriram tolerância à dessecação, no entanto, acredita-se que esta habilidade esteja relacionada à pressão ambiental que promoveu uma evolução sobre esta sensibilidade (PAMMENTER; BERJAK, 2000; TWENDDLE et al., 2003).

Segundo Medeiros e Eira (2006), a capacidade de tolerar a secagem é uma das mais importantes características que uma semente pode apresentar, pois é considerada uma estratégia adaptativa que permite a sobrevivência da semente em condições ambientais desfavoráveis podendo assegurar a disseminação da espécie. Corroborando, Barbedo e Marcos Filho (1998) destacam que a habilidade das sementes de sobreviver à desidratação é resultado de adaptações que previnem a destruição celular durante a perda de água.

De maneira geral as sementes apresentam diferentes comportamentos fisiológicos em relação à tolerância à dessecação e ao armazenamento, sendo divididas em ortodoxas, recalcitrantes e intermediárias. Sementes ortodoxas podem ser secas em níveis abaixo de 7% de umidade e podem ser armazenadas a baixas temperatura por longos períodos. Sementes recalcitrantes possuem

sensibilidade à dessecação e armazenamento, apresentando na maioria das vezes uma baixa longevidade (ROBERTS, 1973). As sementes intermediárias apresentam características mistas de ortodoxa e recalcitrante, suportando parcialmente a secagem, mas apresentando pouca longevidade quando armazenadas em baixas temperaturas (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990).

Inúmeras pesquisas têm sido realizadas para se saber qual a razão das sementes apresentarem comportamentos distintos quanto à capacidade de tolerar a dessecação e o armazenamento.

Em sementes tolerantes a dessecação mecanismos como a redução do grau de vacuolação; o acúmulo de reservas insolúveis; reações do citoesqueleto, conformação do DNA nuclear; diferenciações intracelulares; desligamento metabólico; presença e eficiência de sistema antioxidante; acúmulo de moléculas protetoras; deposição de moléculas anfipáticas; presença de camada periférica de oleosinas em torno dos corpos lipídicos; presença, funcionamento dos mecanismos de reparação durante a reidratação, bem como, a síntese de ABA, já foram correlacionadas com capacidade de tolerar a dessecação em sementes ortodoxas (BERJAK; PAMMENTER, 2001; LEPRINCE; HENDRY; MCKERSIE, 1993; MARCOS FILHO, 2005; OLIVER; TUBA; MISHLER, 2000; PAMMENTER; BERJAK, 1999; TWEEDLE et al., 2003).

As proteínas do tipo LEA têm recebido grande atenção por parte dos pesquisadores, dentre elas, as da família LEA D11 (deidrinas), as quais se acumulam no final da maturação, apresentando características anfipáticas (hidrofílicas e hidrofóbicas) capazes de inibir a desnaturação de macromoléculas estabilizando estruturas intracelulares sob condições de estresse (BLACKMAN et al., 1991; MARCOS FILHO, 2005), protegendo-as contra a desidratação e apresentando resistência contra o calor (BERJAK; PAMMENTER, 2008; HOEKSTRA; GOLOVINA; BUITINK, 2001).

Outras moléculas protetoras que se acumulam na secagem de maturação das sementes são os açúcares. Em sementes tolerantes à dessecação estudos mostram um aumento progressivo no teor de carboidratos solúveis como sacarose, rafinose e estaquiose no desenvolvimento dos embriões coincidindo com início da fase de aquisição de tolerância à dessecação (BLACKMAN; OBENDORF; LEOPOLD, 1992; CROWE; HOEKSTRA; CROWE, 1992; HOEKSTRA; CROWE; CROWE, 1989; HORBOWICZ; OBENDORF, 1994; KOSTER; LEOPOLD, 1988; LEOPOLD; SUN; BERNALLUGO, 1994; STEADMAN; PRITCHARD; DEY, 1996).

A presença de grande quantidade de açúcares solúveis nas células pode prevenir efeitos danosos durante a dessecação pela formação de pontes de hidrogênio, substituindo a água na manutenção das estruturas hidrofílicas (CROWE et al., 1988; KOSTER, 1991), ou seja, ocupando espaços vazios e estabilizando as membranas celulares.

Koster (1991) observou que a habilidade das células em tolerar a dessecação pode, em parte, depender da capacidade da mesma de entrar em estado vítreo em temperatura ambiente. Esta vitrificação é um mecanismo que depende da combinação de mais de um tipo de açúcar (relação sacarose/rafinose); os quais proporcionam uma alta viscosidade citoplasmática (reduzindo a mobilidade molecular) permitindo que não ocorra à cristalização dos solutos e a total desidratação celular (WILLIAMS; LEOPOLD, 1989).

Outro mecanismo de proteção contra injúrias de secagem em sementes tolerantes a dessecação é a presença, operação e eficiência dos sistemas antioxidantes (MARCOS FILHO, 2005). De acordo com Sies (1985), o estresse oxidativo foi descrito como um distúrbio no balanço antioxidante/ pró-oxidante que pode resultar em potenciais danos celulares.

Chandra, Samali e Orrenius (2000) destacam que os radicais livres estão entre as ameaças mais potentes e onipresentes enfrentados por qualquer

organismo vivo e que seu acúmulo intracelular pode tornar-se tóxico ou alterar os processos metabólicos normais das células resultando em danos para ácidos nucleicos, proteínas, carboidratos e lipídeos.

Segundo Hendry (1993), os radicais livres são responsáveis por danos causados a moléculas e tecidos vegetais e animais; e em sementes, é muito provável que apresentem o mesmo comportamento influenciando na mortalidade celular.

Desta forma, sistemas antioxidantes eficientes são fundamentais para a manutenção da viabilidade de células ou organismos que sofram a ação deletéria de radicais livres durante a secagem. De modo geral, os principais agentes oxidantes são a hidroxila ( $\text{OH}^\cdot$ ), o superóxido ( $\text{O}_2^\cdot$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). De acordo com Guimarães et al. (2002), os sistemas enzimáticos processadores de radicais livres incluem a superóxido dismutase (SOD) que cataliza a dismutação de superóxido ( $\text{O}_2^\cdot$ ) em  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$  e aquelas enzimas envolvidas na desintoxicação de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (isto é, catalase, glutathioneredutase, ascorbato e outras peroxidases).

Em sementes com sistemas antioxidantes eficientes a presença de mecanismos como a concentração de ácido ascórbico (vitamina C) e/ou de isoenzimas ativas são fatores fundamentais para realizar a neutralização destes radicais livres (MCDOANALD, 1999).

Inúmeros autores relatam que a presença de apenas um dos mecanismos tolerância à dessecação nas sementes não assegura que a mesmas apresentem características de tolerar a secagem. Desta forma, acredita-se que a tolerância à dessecação seja um processo complexo, que envolva a interação de inúmeros fatores que agem em sinergismo e são controlados pelo genoma da semente (LEDUC, 2007; LEPRINCE; HENDRY; MCKERSIE, 1993).

Conforme destacado por Kranner et al. (2010) qualquer característica que confere tolerância à dessecação pode ter origem em um estímulo que aciona

o código genético e dá início a uma cascata gênica responsável por esta característica. Isto acontece durante o final do desenvolvimento das sementes ortodoxas na qual a expressão de alguns genes é frequentemente relatada.

## **2.2 Aspectos gerais sobre a secagem em sementes**

O desenvolvimento da maior parte das sementes pode convenientemente ser dividido em três fases fisiológicas confluentes, sendo elas, a histodiferenciação, a expansão celular e a maturação final (JIANG; KERMODE, 1994). Durante a histodiferenciação o zigoto unicelular passa por uma extensa divisão mitótica seguido da diferenciação para formar o corpo do embrião e o tecido de reserva. Na segunda etapa do desenvolvimento acontece a expansão da semente e a deposição de reserva nos tecidos de armazenamento (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002).

Barbedo e Marcos Filho (1998) relatam que podem ser observados dois tipos de comportamento em relação à secagem na etapa final de maturação. O primeiro caso ocorre na maioria das sementes ortodoxas que apresentam um mecanismo de secagem pré-programado antes da dispersão, resultando na redução gradual do metabolismo até o estado de quiescência ou dormência (quando for o caso). O segundo comportamento pode ser observado na maioria das sementes recalcitrantes as quais não passam pela secagem de maturação e são dispersas com um elevado conteúdo de água, metabolicamente ativas e prontas para germinar.

Sementes de comportamento intermediário toleram parcialmente a dessecação (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990) e ao que tudo indica são dispersas com teores de umidade maiores que os das ortodoxas, mas menores do que o observado nas recalcitrantes. Em sementes ortodoxas a tolerância à dessecação é adquirida a partir da metade do processo de maturação,

simultaneamente com expansão celular e o acúmulo de reservas (PARCY et al., 1994).

Na natureza a secagem pode ocorrer de maneira rápida, lenta ou até mesmo de forma mais atenuadas, assim como é o caso de sementes dispersas em frutos carnosos (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002), além disso, condições extremas de secagem também podem ser impostas as sementes pelo ambiente, tais como secas prolongadas (NEDEVA; NIKOLOVA, 1997). Em tais situações, sementes ortodoxas apresentam naturalmente um melhor mecanismo de adaptação do que sementes recalcitrantes, adiando a germinação até que as condições fiquem favoráveis para a retomada deste processo (BARBEDO; MARCOS FILHO, 1998).

Desde os tempos mais remotos o homem vem utilizando espécies ortodoxas para desenvolver a agricultura, principalmente por apresentar vantagens com relação longevidade se comparadas com as recalcitrantes. Mais recentemente, estudos começaram a abordar com maior profundidade os ecossistemas florestais, verificando uma grande quantidade de espécies recalcitrantes (BARBEDO; MARCOS FILHO, 1998). Atualmente, o maior desafio enfrentado por todos os envolvidos na conservação das espécies sensíveis a dessecação é a elaboração de estratégias que possibilitem aumentar o tempo de armazenamento sem que ocorra a perda significativa de viabilidade das sementes (WESLEY-SMITH et al., 2001).

Inúmeros estudos utilizam a secagem controlada e a diminuição da temperatura de armazenamento como estratégias para aumentar a longevidade das sementes (KOHAMA et al., 2006) inclusive para espécies sensíveis a tais condições. Realizar a secagem de sementes a conteúdos de água não nocivos e que permitam a sua sobrevivência após o armazenamento em baixas temperaturas, tornou-se a base para o sucesso no estabelecimento de técnicas

como a criopreservação (CHANDEL et al., 1995; WESLEY-SMITH et al., 1992).

Garcia et al. (2004) relataram que a secagem artificial pode contribuir para a preservação da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento, entretanto, Carvalho (1994) e Miranda, Silva e Cavariani (1999) ressaltam que tal procedimento deve ser realizada com cautela, pois pode proporcionar danos irreversíveis as sementes quando efetuado sem o conhecimento e os cuidados necessários.

Baseado no princípio de que as sementes apresentam diferentes comportamentos em relação à capacidade de tolerar a dessecação e o armazenamento, deve-se levar em consideração alguns fatores que podem afetar este comportamento no momento da secagem, tais como, o estágio de desenvolvimento do embrião, a temperatura e a taxa de secagem (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002; MARCOS FILHO, 2005; WESLEY-SMITH et al., 2001).

A taxa de secagem tem sido relatada como um fator que afeta a resposta de dessecação de sementes de espécies ortodoxas (BEWLEY; BLACK, 1994), recalcitrantes e intermediárias (JOSÉ et al., 2011). Em sementes ortodoxas, as quais podem ser secas a teores de umidade mais baixos (ROBERTS, 1973) recomenda-se que a perda de umidade seja feita de forma rápida e em baixas temperaturas, aproximadamente 15 °C para espécies tropicais (HONG; LININGTON; ELLIS, 1996). Os mesmos autores relataram que sementes ortodoxas quando passam por um atraso na secagem ou uma secagem lenta, juntamente com altas temperaturas (acima de 25 °C) tende a reduzir consideravelmente a viabilidade.

Evidências sugerem que a secagem rápida de sementes inteiras permite alcançar menores conteúdos de água sem que ocorra perda de viabilidade das

sementes (BERJAK et al., 1990; FARRANT; BERJAK; PAMMENTER, 1986; PAMMENTER et al., 1998; PRITCHARD, 1991).

Segundo Roberts (1973), sementes recalcitrantes não podem ser secas sem que ocorram danos, e de acordo com Hong, Linington e Ellis (1996) mesmo quando recém colhidas apresentam a viabilidade ligeiramente reduzida ao serem submetidas à perda inicial de umidade.

Apesar do exposto, Pammenter e Berjak (1999) relataram que a secagem rápida de sementes recalcitrantes melhorou a sobrevivência de sementes e de embriões em menores conteúdos de água, devido à menor possibilidade de acúmulo de danos.

Segundo Farrant, Berjak e Pammenter (1985), Liang e Sun (2002) e Pritchard (1991) o efeito da taxa de secagem em sementes inteiras é menos pronunciado quando comparado com a secagem de eixos embrionários. A razão pela qual os eixos embrionários de espécies recalcitrantes respondem diferencialmente as taxas de secagem ainda não é bem compreendida (VERTUCCI; FARRANT, 1995; WALTERS et al., 2001a) devendo ser levado em consideração a variação dos limites críticos de umidade tolerado entre as espécies, cultivares e os lotes de sementes (CHIN, 1988; KING; ROBERTS, 1979).

Estudos sugerem que funções as normais das células podem ser alteradas quando as sementes são submetidas a teores de umidade intermediários aos da hidratação completa e o limite inferior de sobrevivência (BERJAK et al., 1990; PAMMENTER et al., 1998; PAMMENTER; VERTUCCI; BERJAK, 1991; PRITCHARD, 1991; LEPRINCE; BUITINK; HOEKSTRA, 1999; LEPRINCE et al., 2000; WALTERS et al., 2001b).

De acordo com Nedeva e Nikolova (1997), a saída da água da célula acaba concentrando os solutos internos o que possibilita a ocorrência de reações destrutivas, tais como a elevação do pH intracelular, a desnaturação de proteínas,

alterações nas propriedades físico-química das paredes celulares e a perda da integridade da plasmalema e sua seletividade.

Alterações nas membranas celulares são citadas geralmente como as principais lesões ultraestruturais associadas à secagem (SENARATNA; MCKERSIE, 1883, 1986), estando esta associada ao rearranjo fosfolipídico da plasmalema (STAEHELIN; CHAPMAN, 1987) ou a remoção excessiva das membranas em resposta ao stress de secagem (STEPONKUS, 1984).

Células com a cromatina nuclear muito condensada também foram associadas como um sinal de lesão de dessecação (CRÉVECOEUR; DELTOUR; BRONCHART, 1976; WESLEY-SMITH et al., 2001), bem como, a autofagia celular, que tem sido frequentemente observada em células estressadas sendo sugerida como um mecanismo importante de sobrevivência (MARTY, 1999).

A secagem também pode levar ao aumento na concentração relativa de solutos no interior dos vacúolos tornando-os sensíveis ao inchaço osmótico após a reidratação (PAMMENTER; BERJAK, 1999). Vacúolos são essenciais para a manutenção da homeostase no interior das células (MARTY, 1999) e perda da integridade do tonoplasto é geralmente considerada letal (MATILE, 1975; MURAI; YOSHIDA, 1998).

Pammenter e Berjak (1999) relatam que os mecanismos de tolerância à dessecação devem manter características intracelulares físicas tais como a redução da vacuolização, acúmulo de reservas insolúveis, manutenção do citoesqueleto e da integridade do DNA. Adicionalmente, os autores relatam que é necessária a presença de sistemas antioxidantes eficiente, bem como, a presença de mecanismos de reparo de danos celulares que possam ser causados por meio da reidratação das sementes.

### 2.3 Aspectos gerais sobre *Genipa americana* L.

A família Rubiaceae é uma das principais e maiores famílias de Angiospermas do planeta destacando-se também na flora brasileira (SOUZA; LORENZI, 2005). De acordo com Judd et al. (2008), esta família é constituída por aproximadamente 9000 espécies que são distribuídas em 550 gêneros, dos quais, alguns como o gênero *Coffea* apresentam grande importância econômica, social e cultural.

Delprete, Smith e Klein (2004) relataram que o gênero *Genipa* encontra-se na subfamília Ixoroideae e na tribo Gardenieae, sendo reconhecido, como um táxon que apresenta apenas duas espécies: *Genipa americana* L. e *G. infundibuliformis* Zappi & Semir.

Conhecida popularmente como jenipapeiro, *Genipa americana* L. é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente nas florestas neotropicais desde o norte da Argentina até o México (CARVALHO, 1994). No Brasil, o jenipapeiro é uma árvore de rápido crescimento encontrada principalmente nas regiões de clima quente e úmido, como no extremo norte do país (várzeas amazônicas), nos estados de São Paulo e Mato Grosso (florestas de galeria) (CAVALCANTE, 1996; GIBBS; LEITÃO FILHO, 1978; SANTOS, 1978) e também nos estados do sul do país em pomares cultivados (CORRÊA, 1984).

*G. americana* é considerada uma espécie com potencial econômico podendo ser empregada em projetos paisagísticos e ornamentais, como na arborização urbana (COSTA et al., 2005), na produção de madeira para fabricação de cabos de enxada, foice, machado, construção civil e naval (LORENZI, 1992), em pomares comerciais para o consumo *in natura* ou para exploração de subprodutos a base dos frutos como vinhos, licores, corantes, fármacos e medicamentos populares (COSTA et al., 2005; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO,

1986; NASCIMENTO; CARVALHO, 1998; PRANCE; SILVA, 1975). Por apresentar rentabilidade esta espécie também pode ser considerada uma alternativa de renda para os pequenos produtores agrícolas.

De acordo com Andrade et al. (2000) o jenipapeiro apresenta características de planta heliófita, semidecídua, higrófita seletiva, de ocorrência em áreas com florestas abertas e de vegetação secundária de várzeas (locais temporário ou permanentemente inundados).

A árvore adulta possui tronco forte, ereto, frondoso, podendo alcançar 25 m de altura (CORRÊA, 1984), suas folhas são opostas e curto-pecioladas com flores hermafroditas, inicialmente brancas tornando-se amareladas durante a floração; seus frutos são do tipo baga subglobosa com 8 a 10 cm de comprimento e 6 a 7 cm de diâmetro, com casca mole membranosa de coloração parda ou pardacento-amarelada e espessura fina e enrugada (DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998).

Os frutos apresentam polpa carnosa, aromática, com inúmeras sementes distribuídas no centro (DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998) sendo avidamente consumidos pela fauna em geral e por este motivo recomenda-se a utilização desta espécie em programas de recuperação de áreas degradadas (ANDRADE et al., 2000; LORENZI, 1992; POTT; POTT, 1994; SANTOS; SILVA-MANN; FERREIRA, 2011; VALERI; PUERTA; CRUZ, 2003).

O jenipapeiro pode ser propagado via sementes ou vegetativamente, com predominância na primeira forma (CARVALHO, 1994; PRADO NETO et al., 2007) e geralmente é semeado logo após o beneficiamento apresentando um alto percentual germinativo (VILLACHICA et al., 1996).

De acordo com Corrêa (1984) as sementes de *G. americana* são albuminosas, fibrosas, com coloração castanho-escuro e 6 mm a 12 mm de comprimento. Apresentam recobrimento bitementalar (com os tegumentos

coabrindo toda a extensão da semente exceto na região da calaza), de formato deltóide (PRADO NETO et al., 2007), com embrião axial espatulado contínuo, com cotilédones foliáceos e fotossintetizantes (NASCIMENTO; DAMIÃO-FILHO, 1998).

Com relação à tolerância à dessecação e ao armazenamento Carvalho e Nascimento (2000) e Salomão (2004) afirmam que as sementes desta espécie podem ser parcialmente desseccadas e perdem a viabilidade gradativamente em curto prazo quando armazenadas em baixas temperaturas.

### 3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Desenvolver estratégias que possibilitem melhorar aspectos fisiológicos ligados à sensibilidade à dessecação e ao armazenamento de sementes florestais nativas, além de ser uma alternativa para a manutenção de bancos de germoplasma é uma das principais vertentes ligadas à conservação genética de inúmeras espécies.

Conhecer as características fisiológicas das sementes quando submetidas a diferentes estímulos de secagem, bem como, o seu comportamento durante o armazenamento permite disponibilizar condições adequadas para a manutenção da viabilidade após a colheita.

Além disso, elucidar possíveis causas ligadas à perda ou a manutenção da viabilidade das sementes após a secagem e ao armazenamento, serve para auxiliar no desenvolvimento de técnicas mais apropriadas as particularidades fisiológicas das diferentes espécies.

Desta forma, este estudo objetivou-se buscar informações que possam contribuir para o entendimento da perda ou manutenção de viabilidade das sementes de *Genipa americana* após a secagem e armazenamento.

## REFERÊNCIAS

- ALPERT, P. The discovery, scope, and puzzle of desiccation tolerance in plants. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 151, n. 1, p. 5-17, Nov. 2000.
- ANDRADE, A. C. S. et al. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 609-615, mar. 2000.
- BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v. 12, n. 2, p. 145-164, 1998.
- BERJAK, P. et al. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: the enigma of their desiccation sensitivity. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 3, p. 297-310, Dec. 1990.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From *Avicenniato Zizania*: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, Oxford, v. 101, n. 2, p. 213-228, Jan. 2008.
- \_\_\_\_\_. Seed recalcitrance: current perspectives. **South African Journal of Botany**, Johannesburg, v. 67, n. 2, p. 79-89, 2001.
- \_\_\_\_\_. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, n. 2, p. 22-55, ago. 2000.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- BLACKMAN, S. A. et al. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 96, n. 3, p. 868-874, July 1991.
- BLACKMAN, S. A.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing soybean seeds. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 100, n. 1, p. 225-230, Sept. 1992.
- CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. Sensibilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) ao dessecação e ao congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 53-56, abr. 2000.

CARVALHO, N. M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 165 p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994. 640 p.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: MCT/CNPq; Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. 279 p.

CHANDEL, K. P. S. et al. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit. **Annals of Botany**, Oxford, v. 76, n. 5, p. 443-450, Apr. 1995.

CHANDRA, J.; SAMALI, A.; ORRENIUS, S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 29, n. 3/4, p. 323- 333, 2000.

CHIN, H. F. **Recalcitrant seeds: a status report**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1988. 28 p.

CORRÊA, P. M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1984. 384 p.

COSTA, M. C. et al. Substratos para produção de mudas de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 1, p. 19-24, 2005.

CRÉVECOEUR, M.; DELTOUR, R.; BRONCHART, R. Cytological study on water stress during germination of *Zea mays*. **Planta**, Berlin, v. 132, p. 31-41, 1976.

CROWE, J. H. et al. Interactions of sugars with membranes. **Biochimica et Biophysica Acta**, Alberta, v. 947, p. 367-384, 1988.

CROWE, J. H.; HOEKSTRA, F. A.; CROWE, L. M. Anhydrobiosis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 54, p. 579-599, 1992.

DELPRETE, P. G.; SMITH, L. B.; KLEIN, R. M. **Flora ilustrada catarinense: rubiáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2004. 344 p.

DONADIO, L. C.; NACHTIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. R. **Frutas exóticas**. Jaboticabal: FUNEP, 1998. 278 p.

ELLIS, R. H. et al. Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, n. 1, p. 99-104, 1991.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, n. 1, p. 69-72, 1991b.

\_\_\_\_\_. Intermediate category of seed storage behaviour?: I., *Coffee*. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

\_\_\_\_\_. Intermediate category of seed storage behaviour?: II., effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation tolerance in coffee. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1991a.

FARRANT, J. M.; BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. The effect of drying rate on viability retention of recalcitrant propagules of *Avicennia marina*. **South African Journal of Botany**, Johannesburg, v. 51, p. 32-43, 1985.

\_\_\_\_\_. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with storage time. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 67, p. 291-298, 1986.

FARRANT, J. M. et al. Presence of dehydrin-like proteins and levels of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, n. 4, p. 175-182, 1996.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food and fruit-bearing forest species 3: examples from Latin America**. Rome, 1986. 308 p. (FAO Forestry Paper, 44/3).

GARCIA, D. C. et al. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 603-608, mar./abr. 2004.

GIBBS, P. E.; LEITÃO FILHO, H. F. Floristic composition of an area of gallery forest near Mogi Guaçu, state of São Paulo, S.E. Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 1, p. 151-156, 1978.

GUIMARÃES, R. M. et al. Tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 128-139, jan./fev. 2002.

HENDRY, G. A. F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 141-153, Sept. 1993.

HOEKSTRA, F. A.; CROWE, L. M.; CROWE, J. H. Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 12, p. 83-91, 1989.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 431-438, 2001.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Interspecific variation in seed storage behaviour within two genera: *Coffea* and *Citrus*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 26, n. 1, p. 165-181, Apr. 1995.

\_\_\_\_\_. Optimum air-dry seed storage environments for arabica coffee. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 3, p. 547-560, Oct. 1992.

HONG, T. D.; LININGTON, S.; ELLIS, R. H. **Seed storage behaviour: a compendium**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 106 p.

HORBOWICZ, M.; OBENDORF, R. L. Seed desiccation tolerance and storability: dependence on flatulence-producing oligosaccharides and cyclitols: review and survey. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 4, p. 385-405, Dec. 1994.

JIANG, L.; KERMODE, A. R. Role of desiccation in the termination of expression of genes for storage proteins. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 2, p. 149-173, June 1994.

JOSÉ, A. C. et al. Effects of drying rate and storage time on *Magnolia ovata* Spreng: seed viability. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 39, n. 2, p. 425-434, July 2011.

JUDD, W. S. et al. **Plant systematics**. Sunderland: Sinauer, 2008. 464 p.

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

KING, M. W.; ROBERTS, E. H. **The storage of recalcitrant seeds: achievements and possible approaches**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1979. v. 1, 96 p.

KOHAMA, S. et al. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* LAM. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.

KOSTER, K. L. Glass formation and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 96, n. 1, p. 302-304, May 1991.

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

KRANNER, I. et al. What is stress?: concepts, definitions and applications in seed science. **New Phytologist**, Cambridge, v. 188, n. 3, p. 655-673, Nov. 2010.

LEDUC, S. M. **Indução de tolerância à dessecação e variações de carboidratos solúveis em sementes de *Caesalpiniae chinata* LAM. (Pau Brasil) durante a maturação**. 2007. 117 p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

LEOPOLD, A. C.; SUN, W. Q.; BERNALLUGO, I. The glassy state in seeds: analysis and function. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 3, p. 267-274, Sept. 1994.

LEPRINCE, O.; BUITINK, J.; HOEKSTRA, F. A. Axes and cotyledons of recalcitrant seeds of *Castanea sativa* Mill. exhibit contrasting responses of respiration to drying in relation to desiccation sensitivity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 338, p. 1515-1524, Sept. 1999.

LEPRINCE, O. et al. Metabolic dysfunction and unabated respiration precede the loss of membrane integrity during dehydration of germinating radicles. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 122, n. 2, p. 597-608, Feb. 2000.

LEPRINCE, O.; HENDRY, G. A. F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 4, p. 231-246, Dec. 1993.

LIANG, Y.; SUN, W. Q. Rate of dehydration and cumulative desiccation stress interacted to modulate desiccation tolerance of recalcitrant cocoa and ginkgo embryonic tissues. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 128, n. 4, p. 1323-1331, Apr. 2002.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 459 p.

MARTY, F. Plasm vacuoles. **Plant Cell**, Rockville, v. 11, n. 4, p. 587-599, Apr. 1999.

MATILE, P. The lytic compartment of plant cells. In: ALFERT, M. et al. (Ed.). **Cell biology monographs**. Berlin: Springer-Verlag, 1975. v. 1, p. 40-84.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessments. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, Jan./Apr. 1999.

MEDEIROS, A. C. S.; EIRA, M. T. S. **Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas**. Colombo: EMBRAPA, 2006. 13 p.

MIRANDA, L. C.; SILVA, W. R. da; CAVARIANI, C. Secagem de sementes de soja em silo com distribuição radial do fluxo de ar: I., monitoramento físico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 11, p. 2097-2108, nov. 1999.

MURAI, M.; YOSHIDA, S. Vacuolar membrane lesions induced by a freeze-thaw cycle in protoplasts isolated from deacclimated tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 39, n. 1, p. 87-96, Jan. 1998.

NASCIMENTO, W. M. O.; CARVALHO, N. M. Determinação da viabilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) através do teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 231-235, 1998.

NASCIMENTO, W. N. O.; DAMIÃO-FILHO, C. F. Caracterização morfológica de sementes e plântulas de jenipapeiro (*Genipa americana* L. -Rubiaceae).

**Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 143-147, 1998.

NEDEVA, D.; NIKOLOVA, A. Desiccation tolerance in developing seeds.

**Bulgarian Journal of Plant Physiology**, Sofia, v. 23, n. 3/4, p. 100-113, 1997.

OLIVER, M. J.; TUBA, Z.; MISHLER, B. D. The evolution of vegetative desiccation tolerance in land plants. **Plant Ecology**, Dordrecht, v. 151, n. 1, p. 85-100, Nov. 2000.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Aspects of recalcitrant seed physiology.

**Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 56-69, 2000.

Edição especial.

\_\_\_\_\_. Review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Jan. 1999.

PAMMENTER, N. W. et al. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 4, p. 463-471, Dec. 1998.

PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W.; BERJAK, P. Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landolphia kirkii*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 96, n. 4, p. 1093-1098, Aug. 1991.

PARCY, F. et al. Regulation of gene expression programs during *Arabidopsis* seed development: roles of ABI3 locus and endogenous abscisic acid. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, n. 11, p. 1567-1582, Nov. 1994.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Corumbá: EMBRAPA, 1994. 320 p.

PRADO NETO, M. et al. Germinação de sementes de jenipapeiro submetidas à pré-embebição em regulador e estimulante vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 693-698, maio/jun. 2007.

PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. **Árvores de Manaus**. Manaus: INPA, 1975. 320 p.

PRITCHARD, H. W. Water potential and embryonic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra*. **Annals of Botany**, London, v. 67, n. 1, p. 43-49, Jan. 1991.

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

ROSA, S. D. V. F. da et al. Effects of different drying rates on the physiological quality of *Coffea canephora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 2, p. 199-205, 2005.

SALOMÃO, A. N. Desiccation, storage and germination of *Genipa Americana* seeds. In: SACANDÉ, M. et al. (Ed.). **Comparative storage: biology of tropical tree seeds**. Rome: IPGRI, 2004. p. 263-269.

SANTOS, A. R. F.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Restrição hídrica em sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 2, p. 213-220, mar./abr. 2011.

SANTOS, J. B. dos. Jenipapo. In: MAGALHÃES, A.; BOLDINI, M. da G. (Ed.). **Grande manual globo de agricultura, pecuária e receituário industrial**. Porto Alegre: Globo, 1978. v. 3, p. 234-236.

SENARATNA, T.; MCKERSIE, B. D. Dehydration injury in germinating soybean (*Glycine max.* L. Merr.) seeds. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 72, n. 3, p. 620-624, 1983.

\_\_\_\_\_. Loss of desiccation tolerance during seed germination: a free radical mechanism of injury. In: LEOPOLD, A. C. (Ed.). **Membranes, metabolism and dry organisms**. Ithaca: Cornell University, 1986. p. 85-101.

SIES, H. Oxidative stress: introductory remarks. In: \_\_\_\_\_. **Oxidative stress**. London: Academic, 1985. p. 1-10.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2005. 640 p.

STAEHELIN, L. A.; CHAPMAN, R. L. Secretion and membrane recycling in plant cells. **Planta**, Berlin, v. 171, p. 43-57, 1987.

STEADMAN, K. J.; PRITCHARD, H. W.; DEY, P. M. Tissue-specific soluble sugars in seeds as indicators of storage category. **Annals of Botany**, London, v. 77, n. 6, p. 667-674, Dec. 1996.

STEPONKUS, P. L. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 35, p. 543-584, 1984.

TWENDDLE, J. C. et al. Ecology of seed desiccation sensitivity. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 91, n. 6, p. 294-324, Dec. 2003.

VALERI, S. V.; PUERTA, R.; CRUZ, M. C. P. Efeito do fósforo no solo no desenvolvimento inicial de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 69-77, dez. 2003.

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

VERTUCCI, C. W.; ROOS, E. E.; CRANE, J. Theoretical basis of protocols for seed storage III: optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures. **Annals of Botany**, London, v. 74, n. 5, p. 531-540, Apr. 1994.

VILLACHICA, H. et al. **Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia**. Lima: Secretaria-Pro-Tempore, 1996. 367 p. (TCA-SPT, 44).

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

WALTERS, C. et al. Desiccation and damage. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and plant survival**. Wallingford: CABI, 2001a. p. 263-292.

\_\_\_\_\_. Desiccation damage: "accelerated aging" and metabolism in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science and Research**, Wallingford, v. 11, n. 2, p. 135-148, June 2001b.

WESLEY-SMITH, J. et al. Cryopreservation of desiccation-sensitive axes of *Camellia sinensis* in relation to dehydration, freezing rate and the thermal properties of tissue water. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 140, n. 5, p. 596-604, Oct. 1992.

\_\_\_\_\_. The effects of two drying rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) seeds. **Annals of Botany**, London, v. 88, n. 4, p. 653-664, July 2001.

WILLIAMS, R. J.; LEOPOLD, A. C. The glassy state in corn embryos. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 89, p. 977-981, 1989.

## SEGUNDA PARTE – Artigos

### **ARTIGO 1: Efeito de taxas de secagem nas características morfofisiológica de sementes de *Genipa americana* L. (Rubiaceae)**

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de taxas de secagem na capacidade de tolerância à dessecação das sementes de *Genipa americana*. Sementes com 46,9% de umidade (recém-colhidas) foram secas rápida e lentamente até 30, 20, 15, 10 e 5% de umidade avaliando-se a viabilidade, o desempenho germinativo (IVG) e as modificações ultraestruturais das sementes. Sementes recém-colhidas apresentaram 98% de germinação e de plântulas normais, com presença de células integras e organizadas. Sementes secas rapidamente apresentaram redução no percentual germinativo e de plântulas normais ao atingirem 15,6% de umidade evidenciando modificações ultraestruturais no endosperma e no eixo embrionário a partir de 10,2% de umidade e presença de colapso celular ao atingir cerca de 5% de umidade. Sementes secas lentamente mantiveram-se viáveis até 10% de umidade e apresentaram menores modificações ultraestrutura se comparas as sementes secas rapidamente para o conteúdo de água similar. Em ambas as taxas de secagem houve redução no desempenho germinativo quando as sementes atingiram teores de umidade abaixo de 30%. A secagem lenta induziu uma maior tolerância à dessecação em sementes de *G. americana* proporcionando menores perturbações ultraestruturais que podem estar associadas à perda de viabilidade.

Palavras-chave: Jenipapo. Tecnologia de sementes. Tolerância à dessecação.

**ARTICLE 1: Effect of the drying rates over morphophysiological characteristics of *Genipa americana* L. seeds (Rubiaceae)**

Abstract: The objective of this study was to evaluate the effect of the drying rates on the capacity for desiccation tolerance of *Genipa americana* seeds. Seeds with 46.9% of humidity (recently harvested) were quickly and slowly dried until 30, 20, 15, 10 and 5% of humidity, evaluating the viability, the germinating performance and the ultra-structural modifications of the seeds. Recently harvested seeds presented 98% of germination and normal seedlings, with the presence of integral and organized cells. Seeds that were quickly dried presented reduction in the germination and normal seedling percentage when reaching 15.6% of humidity, indicating ultra-structural modifications in the endosperm and embryonic axis from 10.2% of humidity, and cellular collapse when reaching around 5% of humidity. Seeds that were slowly dried maintained viable until 10% of humidity and presented less ultra-structural modifications when compared to those quickly dried, in the same water content. There was reduction of the germination performance in both drying rates when the seeds reached humidity rates below 30%. The slow drying induced a larger desiccation tolerance in *Genipa americana* seeds, providing smaller ultra-structural disturbances which may be associated with viability loss.

Keywords: Jenipapo. Seed technology. Desiccation tolerance.

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil o constante desmatamento vem ameaçando significativamente os ecossistemas nativos tornado necessário, cada vez mais, a elaboração de estratégias de conservação e restauração dos recursos genéticos florestais remanescentes.

A conservação da biodiversidade pode ser realizada *in situ*, mantendo as espécies em seu habitat natural, ou por metodologias *ex situ*, que consistem na manutenção das espécies fora do seu habitat natural (BRASIL, 2000), assim como é o caso do armazenamento de sementes em bancos de germoplasma (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 1993).

Desta forma, conhecer o comportamento fisiológico das sementes quanto à capacidade de tolerar a dessecação e o armazenamento é de fundamental importância para proporcionar condições adequadas que garantam a manutenção da viabilidade das sementes (HONG; ELLIS, 1996) principalmente para programas de conservação de germoplasma que visam à propagação de espécies de biomas ameaçados.

De modo geral, as sementes são classificadas em três grupos em relação à capacidade de tolerar a secagem e o armazenamento. Sementes ortodoxas suportam a secagem a teores de umidade próximos de 5% (base úmida) e podem ser armazenadas em baixas temperaturas (sub zero) por longos períodos de tempo, em contra partida, sementes recalcitrantes não apresentam tais características e perdem rapidamente a viabilidade quando submetidas a estas condições (ROBERTS, 1973).

Sementes com comportamento intermediário suportam parcialmente a dessecação (cerca de 10 a 7% de umidade), mas perdem a viabilidade quando

armazenadas por um longo período de tempo em baixas temperaturas (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990). Apesar do exposto, é importante destacar que existe um gradiente contínuo de sensibilidade/tolerância à dessecação entre espécies ortodoxas e recalcitrantes (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002).

De acordo com Garcia et al. (2004), a secagem pode contribuir para a preservação da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento, entretanto, Miranda, Silva e Cavariani (1999) destacam que esta atividade deve ser conduzidas com cautela, pois é potencialmente danosa quando realizada sem o conhecimento e cuidados necessários

Em sementes sensíveis a dessecação inúmeros fatores podem afetar o comportamento fisiológico no momento da secagem, dentre estes, destacam-se o estágio de maturação, a temperatura e a taxa de secagem (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002).

Sementes recalcitrantes não podem ser secas sem que ocorram danos (ROBERTS, 1973), contudo, estudos têm relatado que a secagem rápida melhorou a sobrevivência de sementes inteiras e embriões a menores conteúdos de água (PAMMENTER; BERJAK, 1999).

Existem evidências de que a secagem rápida em sementes inteiras permite alcançar menores conteúdos de água sem que seja alterada a viabilidade das sementes (BERJAK et al., 1990; FARRANT; BERJAK; PAMMENTER, 1986; PAMMENTER et al., 1998; PRITCHARD, 1991). Em sementes recalcitrantes os mecanismos pelos quais a secagem rápida permite tolerar menores conteúdos de água ainda não foram completamente elucidados, mas evidências indicam uma curta duração das vantagens conferidas (VERTUCCI; FARRANT, 1995; WALTERS et al., 2001).

Estudos sugerem que as funções normais das células são alteradas quando as sementes são submetidas a conteúdos de água intermediários aos da hidratação total e seu limite inferior de tolerância (BERJAK et al., 1990;

LEPRINCE; BUITINK; HOEKSTRA, 1999; LEPRINCE et al., 2000; PAMMENTER et al., 1998; PAMMENTER; VERTUCCI; BERJAK, 1991; PRITCHARD, 1991; WALTERS et al., 2001). Deste modo, reduzindo o tempo de exposição em níveis de hidratação intermédios é possível minimizar o acúmulo de danos associados à dessecação (WALTERS et al., 2001; WESLEY-SMITH et al., 2001).

Pammenter e Berjak (2000) relatam que a remoção da água da semente pode acarretar injúrias físicas nos tecidos desordenando o metabolismo e consequentemente afetando a capacidade de germinação.

*Genipa americana* L. (Rubiaceae) conhecida popularmente como jenipapeiro é uma árvore frutífera brasileira que vem sendo explorada, cada vez mais, para produção de licor, vinho e refresco à base de seus frutos (OLIVEIRA et al., 2011).

A madeira desta espécie é moderadamente pesada e de fácil trabalhabilidade podendo ser empregada na construção civil e na marcenaria (LORENZI, 1992). Por suportar ambientes alagados o jenipapeiro é uma espécie promissora para recuperação de áreas de preservação permanente (BARBOSA et al., 1989; SANTOS; SILVA-MANN; FERREIRA, 2011).

A formação de mudas desta espécie é comumente realizada por meio de sementes, embora possa também ser feita assexuadamente (PRADO NETO et al., 2007) . Com relação à capacidade de tolerar a dessecação e o armazenamento, Carvalho e Nascimento (2000) e Salomão (2004) relataram que as sementes de *G. americana* apresentam comportamento intermediário tolerando parcialmente a dessecação. No entanto, os autores não utilizaram em suas avaliações diferentes taxas de secagem, tornado limitadas as informações em relação à capacidade de tolerância à dessecação desta espécie.

Desta forma, o objetivo com este trabalho foi avaliar o efeito de diferentes taxas de secagem nas características morfofisiológicas de sementes de *Genipa americana*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Sementes Florestais (LSF) do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) durante o período de março a outubro de 2012. Os frutos foram obtidos de oito matrizes (fevereiro de 2012) no município de Lavras – MG.

Foram coletados apenas frutos maduros (consistência mole e coloração castanho-amarelo) no chão. Após a coleta, os frutos foram transportados para o galpão de beneficiamento do Viveiro Florestal da UFLA onde permaneceu por 12 horas até o beneficiamento.

O despulpamento dos frutos foi realizado por meio da abertura e remoção manual da polpa que foi lavada em água corrente sobre peneira. Em seguida, as sementes foram friccionadas em areia úmida autoclavada até a remoção total do mesocarpo, sendo novamente lavadas em água corrente e encaminhadas para o LSF para secagem.

Para remover a água superficial das sementes, as mesmas foram dispostas em camada única sobre papel toalha por duas horas em um ambiente climatizado (20 °C; 60% UR). O lote foi formado apenas por sementes maduras e sem danos visuais, sendo armazenado em saco plástico (dupla camada) e mantido em geladeira (4 °C) por 36 horas.

### Determinação do conteúdo de água

A determinação do conteúdo de água para todas as etapas do experimento foi realizada pelo método de estufa  $103 \pm 3$  °C/17 horas (BRASIL, 2009). Utilizaram-se quatro repetições de cinco sementes inteiras, dispostas em barquetes de papel alumínio, sendo a média dos resultados expressa em porcentagem (base úmida) conforme a fórmula abaixo:

$$\% \text{ de Umidade} = \frac{100 (P - p)}{(P - t)}$$

Onde:

P = peso inicial (peso do recipiente mais o peso da semente úmida);

p = peso final (peso do recipiente mais o peso da semente seca);

t = tara (peso do recipiente).

### Curva de Embebição

Após a determinação do conteúdo inicial de água das sementes retiraram-se 13 amostras aleatórias de 20 sementes do lote, sendo pesadas separadamente e postas para embeber. Cada amostra foi fragmentada em quatro repetições de cinco sementes que foram dispostas em placas de Petri contendo duas folhas de papel filtro umedecido. As placas foram incubadas em BOD a uma temperatura de 25 °C em luz constante.

Todas as avaliações de peso (g) foram realizadas em balança de precisão (três casas decimais) e a avaliação de embebição foi a cada 24 horas durante 15

dias. Após a mensuração do ganho de peso das sementes, determinou-se o conteúdo de água para a confecção da curva de embebição.

Dessecação e curvas de secagem

Após a determinação do conteúdo de água inicial do lote as sementes foram submetidas a duas taxas de secagem selecionando para as avaliações morfofisiológicas os seguintes conteúdos de água: 46,9 (inicial), 30, 20, 15, 10 e 5%. Para estimar a umidade das sementes durante a secagem utilizou-se a fórmula proposta por Hong e Ellis (1996):

$$M = \frac{(100 - CAi)}{(100 - CAd)} \times Mi$$

Onde:

M: massa (g) no conteúdo de água desejado;

Mi: massa (g) no conteúdo de água inicial;

CAi: conteúdo de água inicial (% base úmida);

CAd: conteúdo de água desejado (% base úmida).

Para garantir que as amostras apresentavam os conteúdos de água desejados, foram retiradas amostras controle e determinado o conteúdo de água pelo método da estufa. A curva de secagem foi elaborada após a determinação dos períodos necessários para atingir os conteúdos de água desejados nas diferentes condições de secagem estudadas.

A secagem foi realizada em uma sala climatizada com uma temperatura de 20 °C, sendo as taxas de secagem descritas a seguir:

- Secagem rápida: as sementes foram acomodadas em uma rede plástica permeável e colocadas para secar em sílica gel ativadas dentro de um recipiente hermeticamente fechado. A sílica gel foi trocada diariamente antes de ocorrer mudança na coloração do seu indicador de umidade.

- Secagem lenta: as sementes foram secas em recipiente hermeticamente fechado contendo soluções salinas capazes de manter a umidade relativa estável (Tabela 1). As soluções salinas permaneceram no fundo do recipiente e as sementes foram colocadas em camada única sobre uma tela sem tocar nas soluções. Além disso, utilizou-se sílica gel nos últimos dois dias de secagem para que as sementes alcançassem 5% de umidade.

Tabela 1 Soluções salinas usadas para realizar a secagem lenta de sementes de *Genipa americana*.

<b>Solução Salina</b>	<b>Concentração</b>	<b>Umidade Relativa de Equilíbrio</b>	<b>Tempo de exposição</b>
LiCl	5g/100 mL	95%	96 horas
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Solução saturada	89%	96 horas
NaCl	Solução saturada	75%	96 horas
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Solução saturada	53%	744 horas
Sílica Gel	-	10%	48 horas

Fonte: Sun (2002)

#### Avaliação da viabilidade das sementes

Em todas as etapas do experimento as sementes foram submetidas à uma pré-umidificação, visando minimizar possíveis danos de embebição. Ao alcançar à umidade de interesse as amostras de trabalho foram dispostas em um Gerbox<sup>®</sup> contendo tela e água no fundo do recipiente. Em nenhum momento durante a pré-umidificação as sementes entraram em contato direto com a água e as mesmas permaneceram nesta condição por 24 horas, a 25 °C.

Após a pré-umidificação as sementes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio (1% por 10 minutos) e colocadas para embeber em água destilada.

O teste de germinação foi realizado em placa de Petri sobre duas folhas de papel filtro umedecidas. Cada teste foi constituído por quatro repetições de 25 sementes, sendo conduzido em câmara de germinação tipo BOD a 25 °C com luz constante. Foram realizadas avaliações diárias da germinação, utilizando como critério a protrusão da radícula ( $\geq 2,0$  mm). A partir dessa avaliação foi calculado o índice de velocidade de germinação (IVG) de acordo com (MAGUIRE, 1962). Também foi avaliada a formação de plântulas normais aos 80 dias após a embebição.

#### Análise da ultraestrutura

Visando verificar possíveis danos ao longo do processo de secagem foram realizadas observações nos tecidos das sementes por meio da microscopia eletrônica de varredura e de transmissão, sendo as amostras preparadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME) da UFLA.

#### Microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram preparadas de acordo com o protocolo descrito por Alves (2004b). Para a fixação das amostras foram utilizadas dez sementes inteiras, as quais foram acomodadas em tubos Eppendorff (2 ml) contendo uma solução de Karnovsky modificado (glutaraldeído 2,5%; formaldeído 2,5% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2,  $\text{CaCl}_2$  0,001 M). Os tubos foram incubados em geladeira por 72 horas em temperatura de 4 °C.

Após esta etapa, foi realizada a extração dos embriões e do endosperma e preparados os cortes em diferentes sentidos, utilizando um bisturi (lâmina nº11) ou uma lâmina de barbear. Em seguida as amostras foram lavadas em tampão caccodilato 0,05 M, pH 7,2 (três vezes por dez minutos) e pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio por 2 hora, sendo lavadas duas vezes em água destilada.

As amostras foram desidratadas em uma série crescente de acetona (25, 50, 75 e 100%) por 10 minutos em cada concentração, sendo as amostras mantidas na concentração de 100% por três vezes. Após esta etapa, as amostras foram submetidas à secagem em um aparelho de ponto crítico modelo Bal-Tec. Em seguida ocorreu a montagem das amostras em *stubs* seguida da metalização (banho de ouro) e posterior visualização.

A visualização externa dos tecidos do embrião e do endosperma foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) modelo LEO EVO 40 XVP, sendo as imagens registradas em velocidade de 10 v.

#### Microscopia eletrônica de transmissão

As amostras foram preparadas de acordo com o protocolo descrito por Alves (2004a) sendo fixados cinco eixos embrionários em Karnovsky modificado (glutaraldeído 2,5%; formaldeído 2% em tampão sódio caccodilato 0,05 M; CaCl<sub>2</sub> 0,001 M, pH 7,2) por 24 horas. Após a fixação as amostras foram lavadas em tampão caccodilato 0,05 M, pH 7,2 (três vezes por dez minutos), pós-fixadas em solução de tetróxido de ósmio por 4 horas, lavadas duas vezes com água destilada e imersas em uma solução de acetato de uranila a 0,5% a 4 °C por 12 horas.

As amostras foram lavadas em água destilada e desidratadas em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100% por três vezes), sendo infiltradas gradualmente com resina spurr/acetona nas concentrações: 30%/8 h; 70%/12 h e 100%/ 24 por duas vezes. Os embriões foram acomodados em moldes de silicone e polimerizados a 70 °C durante 48 horas.

Os cortes ultrafinos foram obtidos no sentido transversal ao eixo embrionário com auxílio de uma lâmina de diamante em um ultramicrotomo Reichert-Jung, sendo capturados em telas metálicas cobertas com formvar e contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo por três minutos. A visualização da ultraestrutura do eixo embrionária foi realizada em um microscópio eletrônico de transmissão (MET) Zeiss Mod. EM-109 a 80kV.

Análise dos dados

O experimento de viabilidade das sementes foi montada em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x5, sendo o fator a: secagem rápida e lenta e o fator b: cindo conteúdos de água. Os dados de germinação, plântulas normais e IVG foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk,  $p \leq 0,05$ ), análise de variância e teste de comparação de médias (Scott-Knott,  $p \leq 0,05$ ) no software SISVAR 5.3. As curvas de secagem e de embebição foram confeccionadas com o auxílio do pacote estatístico Microsoft Office Excel 2010®.

### 3 RESULTADOS

#### Curva de Embebição

A curva de embebição (Figura 1) apresentou padrão trifásico bem definido para sementes recém-colhidas. A fase um foi evidenciada aproximadamente até o 4º dia de embebição, a fase dois foi caracterizada a partir do 5º dia iniciando a protrusão radicular (fase três) após o 8º dia.

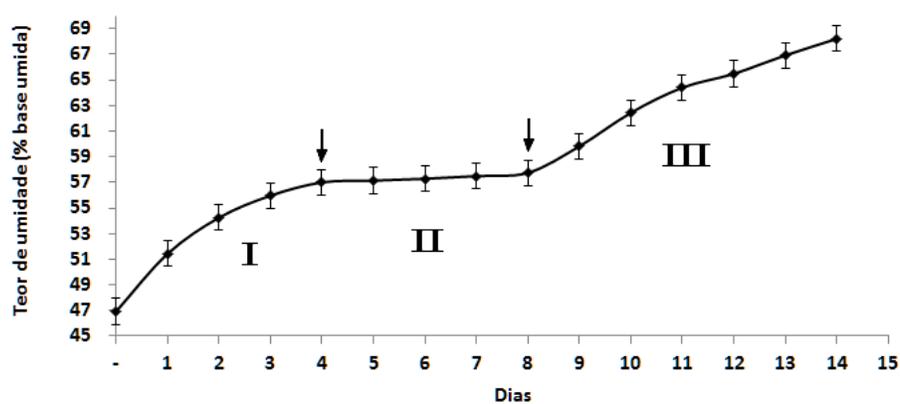


Figura 1 Curva de embebição das sementes frescas de *Genipa americana* (as setas indicam mudança de fase).

### Dessecação e curvas de secagem

Em ambos os métodos de secagem foram observadas uma perda acentuada no conteúdo de água até aproximadamente 20% de umidade. Sementes submetidas à secagem rápida demoraram 332 horas para alcançar 5,4% de umidade enquanto sementes secas lentamente levaram quase três vezes e meia este tempo (1081 horas) para alcançar cerca de 5,0% de umidade (Figura 2).

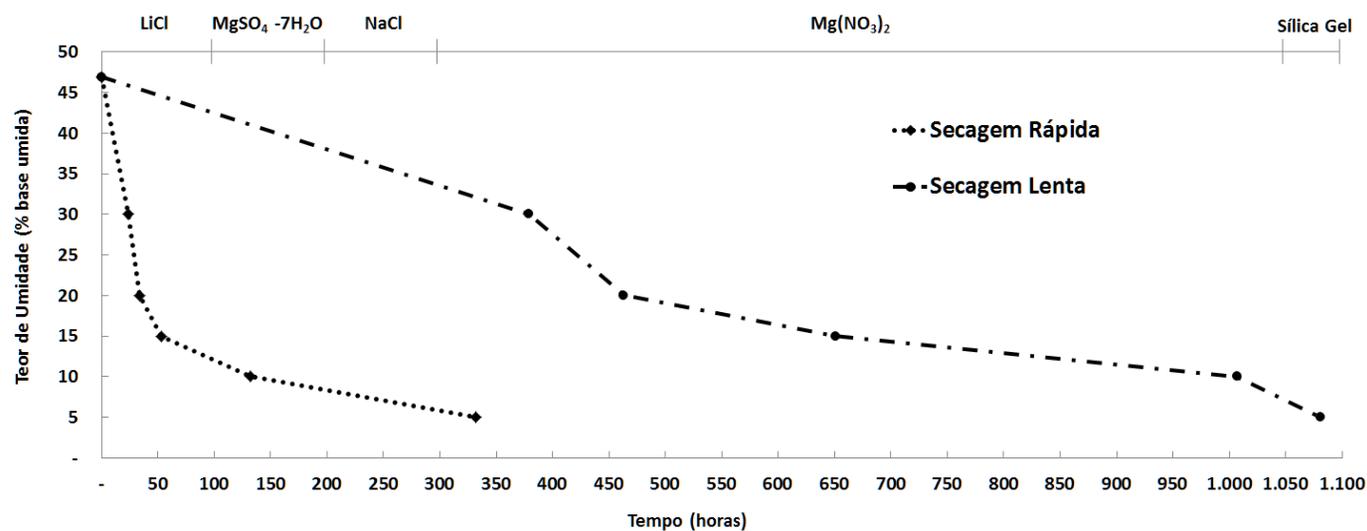


Figura 2 Curvas de secagem das sementes de *Genipa americana*.

### Avaliação da viabilidade das sementes

Sementes frescas apresentaram 98% de germinação e de formação de plântulas normais, entretanto, após serem submetidas à secagem rápida apresentaram queda significativa em ambas as variáveis (Tabela 2) pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). A remoção da água para teores de umidade abaixo de 20,8% mostrou-se prejudicial para a viabilidade das sementes de *Genipa americana*. Ao alcançar cerca de 10% de umidade foi observada uma perda acentuada na qualidade fisiológica das sementes podendo ser considerado este o ponto letal para esta espécie.

Com relação ao desempenho germinativo pode-se inferir que a secagem rápida influenciou negativamente a velocidade com a qual ocorre a protrusão da radícula, podendo ser observada a redução do IVG a partir de 30% de umidade.

Tabela 2 Efeito da perda de umidade na viabilidade de sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem rápida.

Umidade alvo (%)	Umidade Alcançada (%)	Germinação (%)	Plântulas Normais (%)	IVG
46,9*	46,9*	98a*	98a*	1,59a*
30	30,5	91a	88a	1,35a
20	20,8	87a	87a	0,82b
15	15,6	68b	66b	0,67b
10	10,2	35c	23c	0,70b
5	5,4	10d	6d	0,21b
<b>CV (%)</b>	-	<b>16,67</b>	<b>17,83</b>	<b>8,84</b>

Letras iguais nas colunas indicam ausência de diferença entre as médias pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). \* Valores referentes a teste com as sementes frescas (controle).

Para sementes submetidas à secagem lenta a manutenção da qualidade fisiológica foi observada até 10,1% de umidade, não ocorrendo perda significativa para germinação e plântulas normais em relação às sementes frescas (Tabela 3). Apesar do exposto, foi observado novamente a uma queda no índice de velocidade de germinação indicando novamente que a perda de água

abaixo de 30% de umidade afeta o desempenho germinativo das sementes desta espécie.

Tabela 3 Efeito da perda de umidade no comportamento germinativo de sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem lenta.

Umidade (%)	Umidade Alcançada (%)	Germinação (%)	Plântulas Normais (%)	IVG
46,9*	46,9*	98a*	98a*	1,59a*
30	30,1	91a	89a	1,49a
20	20,4	95a	93a	1,37b
15	15,1	91a	87a	1,34b
10	10,1	91a	84a	1,26b
5	5,1	49b	46b	0,35c
<b>CV (%)</b>	-	<b>12,07</b>	<b>16,43</b>	<b>4,39</b>

Letras iguais nas colunas indicam ausência de diferença entre as médias pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). \* Valores referentes a teste com as sementes frescas (controle).

#### Análise da ultraestrutura

Os principais tecidos constituintes da semente de *Genipa americana* foram caracterizados por meio da microscopia eletrônica de varredura. O endosperma das sementes frescas (controle) apresentou células túrgidas em conformação extremamente organizada com morfologia externa de prisma poligonal (Figura 3a) com paredes celulares íntegras e conteúdo interno de reserva bem distribuído (Figura 3b).

O eixo embrionário apresentou formato cilíndrico com a ponta da radícula arredondada, com células sem lesões aparentes (Figura 3c), podendo ser observada uma protoderme íntegra com células em formato retangular arredondado (Figura 3d).

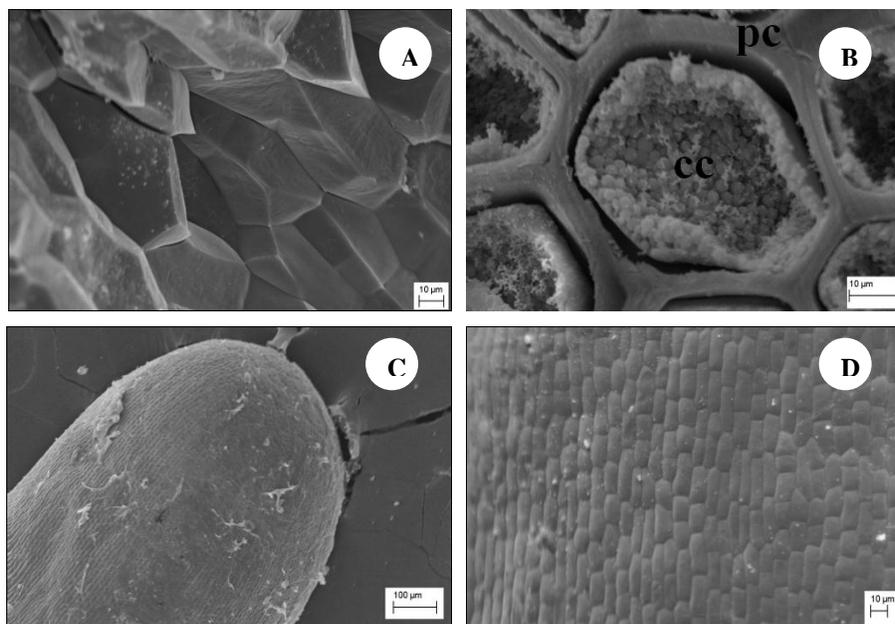


Figura 3 Eletromicrografia de varredura de tecidos das sementes frescas de *Genipa americana*. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Corte transversal das células do endosperma. cc – conteúdo celular; pc – parede celular. (C) Detalhe da ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe externo das células da protoderme no eixo hipocótilo/radícula.

Para sementes submetidas à secagem rápida foram observadas mudanças ultraestruturais dos tecidos a partir de 10,2% de umidade (Figura 4). Neste conteúdo de água o endosperma apresentou uma redução significativa do volume externo das células de armazenamento (Figura 4a) ocorrendo uma compactação no conteúdo de reserva interno e um aumento nos espaços intercelulares (Figura 4b) decorrente do deslocamento das paredes celulares.

Com relação ao eixo embrionário foram observadas mudanças na conformação dos tecidos da ponta da radícula (Figura 4c-d), bem como, alterações externas no volume das células da protoderme (Figura 4e).

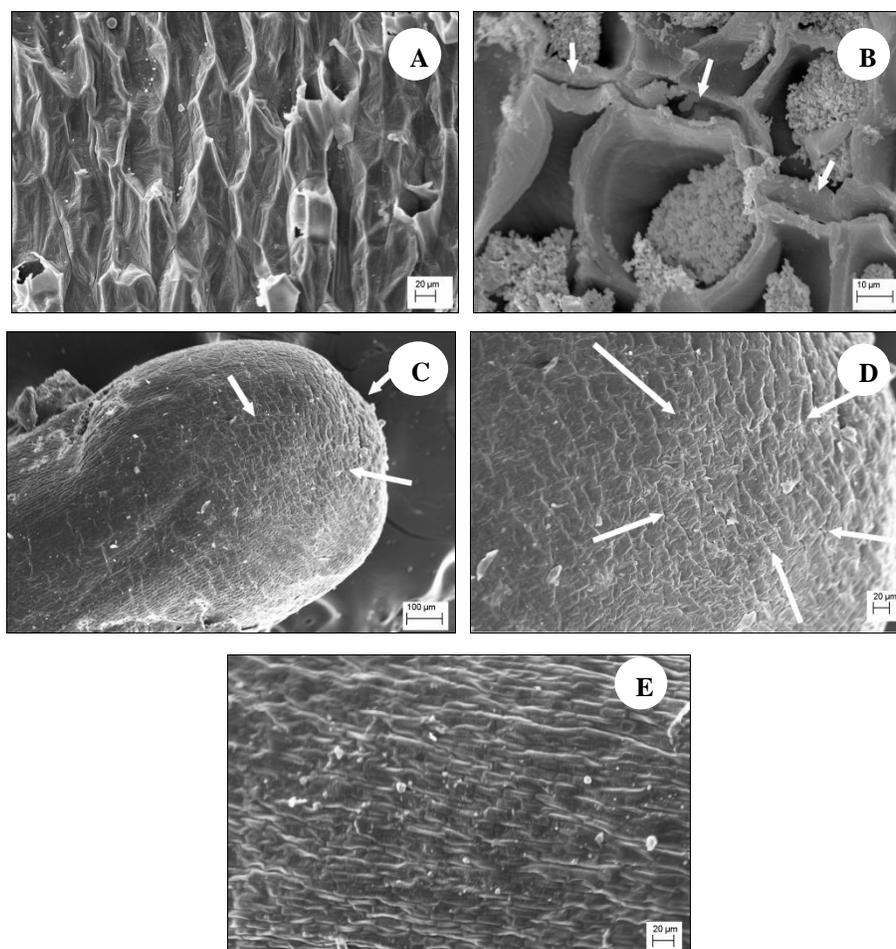


Figura 4 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas rapidamente até 10,2% de umidade. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Detalhe interno das células do endosperma – setas mostrando espaços intercelulares. (C) Ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe da escamação celular na ponta da radícula do eixo embrionário. (E) Configuração externa das células da protoderme no eixo hipocótilo/radícula.

Ao atingir 5,4% umidade observou-se nitidamente as principais mudanças ultraestruturais causadas pela remoção da água dos tecidos das sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem rápida (Figura 5). A morfologia externa das células do endosperma foi descaracterizada sendo visualizada de

maneira expressiva a redução e a perda de turgidez das paredes celulares deste tecido (Figura 5a-b).

O eixo embrionário também apresentou os mesmos danos evidenciados na ponta da radícula para sementes secas até 10,2% de umidade (Figura 4c), entretanto, a protoderme apresentou um enrugamento maior na extremidade da radícula (Figura 5c-d).

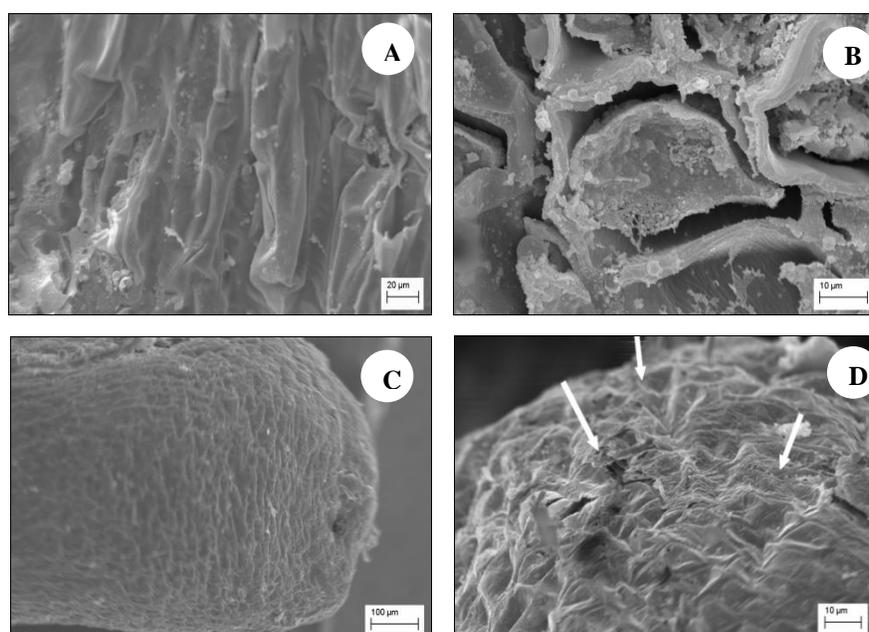


Figura 5 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas rapidamente até 5,4% de umidade. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Detalhe interno das células do endosperma. (C) Ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe do enrugamento celular na ponta da radícula do eixo embrionário.

Com relação à secagem lenta, as imagens realizadas pela microscopia de varredura não demonstraram alterações ultraestruturais relevantes até 10,1% de umidade para o endosperma (Figura 6a) e para a ponta da radícula do eixo embrionário (Figura 6b) em comparação com as sementes frescas.

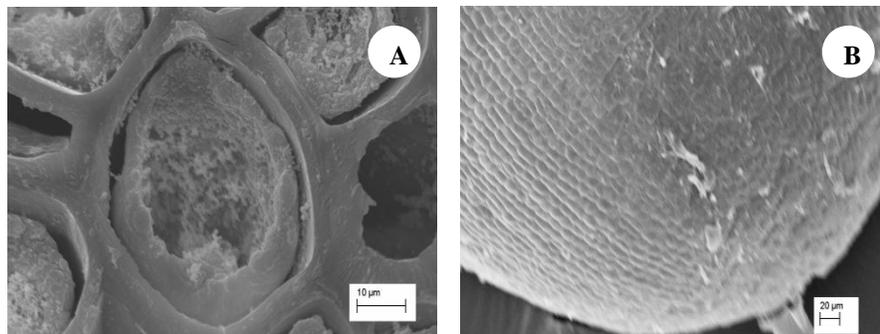


Figura 6 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas lentamente até 10,1% de umidade. (A) Detalhe interno das células do endosperma. (B) Ponta da radícula do eixo embrionário.

Contudo, ao atingir 5,1% de umidade, as sementes secas de forma lenta (Figura 7) apresentaram alterações morfológicas em relação ao tratamento controle (Figura 3).

O padrão observado no endosperma (Figura 7a, b) diferiu daquele visto em sementes frescas (Figura 3a, b) em função da redução do volume celular, entretanto, não foi tão drástico quanto o observado para o teor de umidade similar na secagem rápida (Figura 5a, b).

No corte transversal foi observada a compactação do conteúdo interno de reserva, sem redução de volume aparente da parece celular e sem a presença de espaços intercelulares (Figura 7b).

O eixo embrionário apresentou indícios de danos de secagem na ponta da radícula, sendo caracterizados pela desconfiguração morfológica da região apical com perturbações aparentes (Figura 7c-d).

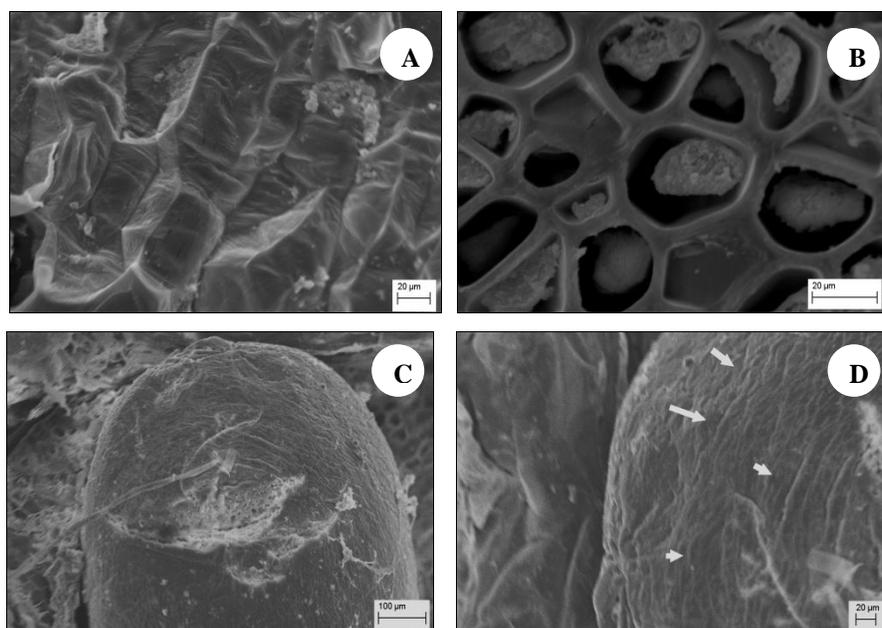


Figura 7 Eletromicrografia de varredura dos tecidos das sementes de *Genipa americana* secas lentamente até 5,1% de umidade. (A) Detalhe externo das células do endosperma. (B) Detalhe interno das células do endosperma. (C) Ponta da radícula do eixo embrionário. (D) Detalhe das dobras celulares na ponta da radícula do eixo embrionário.

Buscando elucidar de maneira mais criteriosa possíveis modificações ultraestruturais relacionados à velocidade de perda de água das sementes, observaram-se por meio da microscopia de transmissão detalhes internos das células da ponta da radícula.

Os embriões das sementes frescas (46,9% de umidade) apresentaram células íntegras com forma arredondada, conteúdo interno organizado (Figura 8a) com presença de vacúolos grandes e parece celular bem definida (Figura 8b).

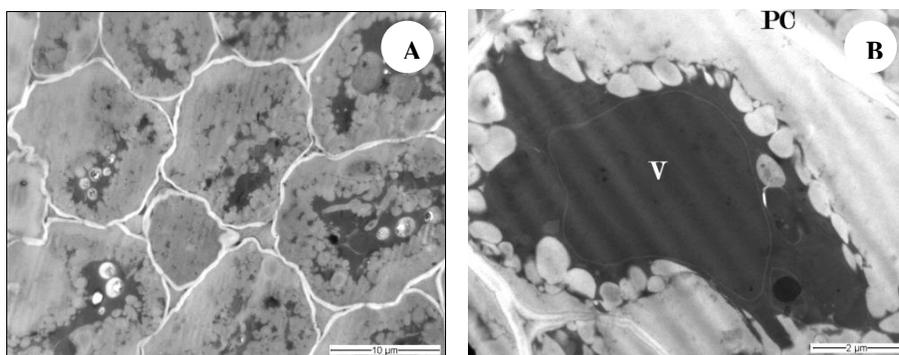


Figura 8 Eletromicrografia de transmissão das células da ponta da radícula do eixo embrionário das sementes de *Genipa americana*. (A) Conformação celular de sementes frescas - 46,9% de umidade. (B) Detalhe estrutural das células de embriões frescos – v – vacúolo; pc- parede celular.

Sementes submetidas à secagem rápida apresentaram alterações morfológicas das paredes celulares a partir de 10,2% de umidade (Figura 9a) sendo observado o início de dobras e aumento nos espaços intercelulares, contudo não foi observado o descolamento da plasmalema (Figura 9b).

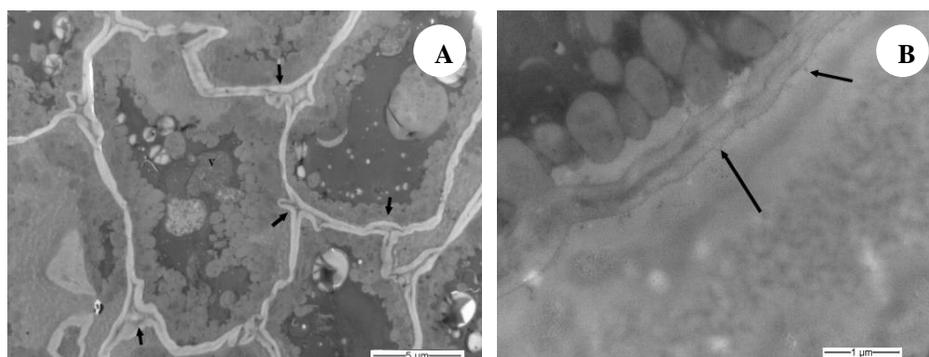


Figura 9 Eletromicrografia de transmissão das células do eixo embrionário das sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem rápida até 10,2% de umidade. (A) início de dobras na parede celular. (B) Detalhe estrutural da plasmalema das células do embrião.

Ao atingir 5,4% de umidade as sementes secas rapidamente apresentaram imensas perturbações no padrão das paredes celulares (Figura 10a)

podendo ser observado a invaginação das dobras devido à redução do volume celular, bem como, colapso celular (Figura 10b).

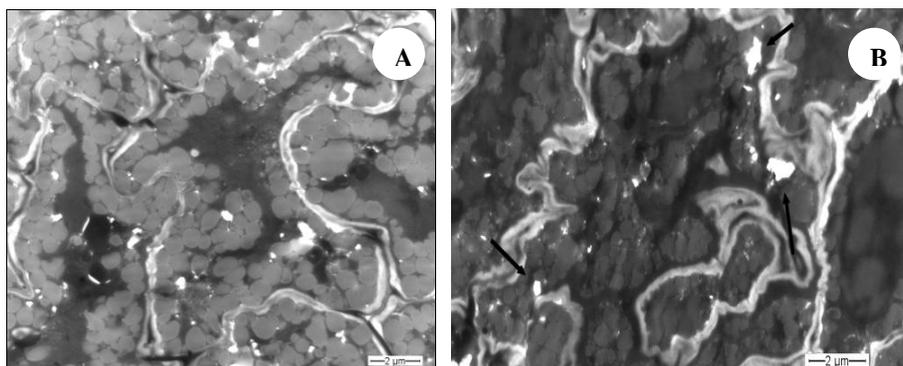


Figura 10 Eletromicrografia de transmissão das células do eixo embrionário das sementes de *Genipa americana*. (A) início de dobras na parede celular de sementes secas rapidamente até 5,4 % de umidade. (B) Detalhe estrutural do colapso celular de embrião seco rapidamente até 5,4% de umidade

Para sementes secas lentamente a um teor de umidade de 5,1% de umidade também se observou o início de dobras nas paredes celulares (Figura 11a) e indícios de vacuolização (Figura 11b).

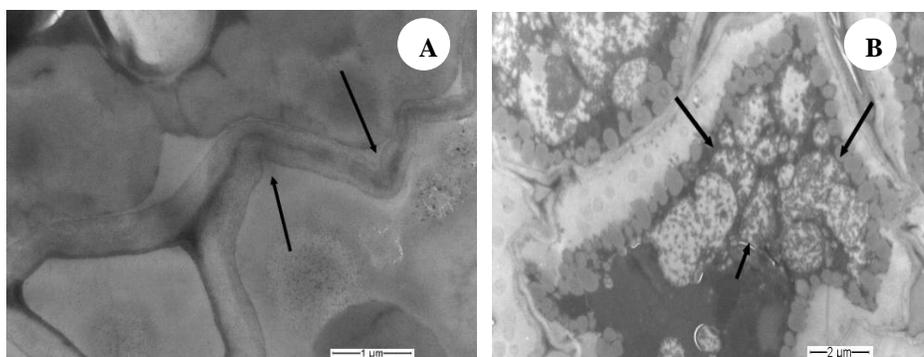


Figura 11 Eletromicrografia de transmissão das células do eixo embrionário das sementes de *Genipa americana*. (A) Início de dobras na parede celular do eixo embrionário das sementes secas lentamente até 5,1% de umidade. (B) Indícios de vacuolização das células do eixo embrionário seco lentamente até 5,1% de umidade.

## 4 DISCUSSÃO

A perda de água associada à velocidade com que ocorreu a remoção da mesma aparenta ser um dos principais fatores que afetaram a viabilidade das sementes de *Genipa americana*, principalmente quando estas foram submetidas à secagem rápida. Este fato pode ser explicado, além de outros fatores, pela ocorrência de modificações ultraestruturais decorrentes da taxa de secagem que causaram danos celulares irreversíveis e letais para as sementes quando submetidas à entrada da água durante a embebição.

De modo geral, Bewley e Black (1994) afirmaram que sementes quando passam pelo processo de embebição apresentam três fases distintas. Na primeira fase ocorre uma rápida absorção de água e o aumento de massa da semente. Na segunda fase acontece uma menor absorção de água (estagnação) e a reativação dos processos metabólicos, e última fase ocorre novamente um aumento na absorção de água e a protrusão radicular.

A curva de embebição para sementes frescas de *G. americana* apresentou um padrão trifásico corroborando com os resultados relatados por Queiroz et al. (2012). De acordo com os autores a semente fresca (37,6% de umidade) do jenipapeiro apresenta uma rápida absorção de água até o 5º dia de embebição (fase 1) com estabilização do peso até o 12º dia e início da terceira fase após 18º dia.

A primeira fase da curva de embebição para as sementes frescas deste estudo apresentou um padrão similar ao encontrado pelos autores citados anteriormente, com embebição acelerada até aproximadamente o 4º dia, entretanto, foi observado uma antecipação na protrusão radicular (fase 3). Tal fato pode ser explicado pela diferença no conteúdo inicial de água entre os lotes estudados. Andrade (2000) e Souza et al. (1999) também relataram que as

sementes do jenipapeiro quando postas para germinar em temperaturas na faixa de 20 a 30 °C apresentam a protrusão da radícula entre o 8º e 13º dia de embebição.

A germinação de sementes frescas de *G. americana* embebidas em água teve início a partir do 8º dia (25 °C, em luz constante) coincidindo com os resultados encontrados por Queiroz (2009) para as mesmas condições de incubação. O percentual de germinação final encontrado para as sementes frescas deste estudo foi de 98% sendo o resultado encontrado pela autora em torno de 90%. Prado Neto et al. (2007) verificaram que sementes frescas de jenipapo submetidas à secagem na sombra por três dias apresentaram germinação de 91% (35% de umidade).

Carvalho e Nascimento (2000) ao estudarem a capacidade de tolerância à dessecação das sementes de *G. americana* submetidas a diferentes períodos de exposição a uma câmara de secagem (27±2 °C e 40±5% UR) contabilizando uma germinação de 96% (plântulas normais) para sementes frescas (39,8% de umidade). Após expor as sementes por 24 horas às condições relatadas anteriormente, os autores obtiveram um teor de umidade de 10,3% e germinação acima de 50%, entretanto, ao continuar com a secagem por 72 horas as sementes atingiram 6,2% de umidade e apresentaram a perda total da viabilidade.

Salomão (2004) também em um estudo de dessecação encontrou para as sementes frescas de *G. americana* uma germinação de 96% (umidade entre 44 a 46%). Ao realizar a secagem em sílica gel das sementes por um período de 36 horas a autora atingiu 9,34±1,03% de umidade e 78% de germinação, todavia, ao continuar com a secagem por 72 horas (6,72±0,25% de umidade) houve um decréscimo na germinação para 29%.

Oliveira et al. (2011) ao pesquisarem dois ambientes de secagem (28 °C com 75% UR e 33 °C com 70% UR) e diferentes períodos de exposição para as sementes de *Genipa americana* L. encontraram uma germinação acima de 90%

para sementes frescas (54 e 58% de umidade) desta espécie. Ao atingir 10% de umidade (120 horas de secagem) as sementes submetidas ao primeiro ambiente apresentaram uma germinação acima de 70%, contudo, para o segundo ambiente no mesmo período de exposição, os autores encontraram 5% umidade e ausência de germinação, indicando que temperatura de secagem no segundo ambiente aumentou a velocidade de remoção da água das sementes e influenciou significativamente a viabilidade das mesmas.

O alto percentual de germinação para sementes recém-colhidas com umidade acima de 30% juntamente com a perda parcial de viabilidade das sementes ao longo da dessecação são duas características comuns evidenciadas em todos os estudos citados anteriormente. O mesmo comportamento também foi observado para sementes submetidas à secagem rápida neste estudo (Tabela 2), entretanto, ao realizar a secagem lenta as sementes mantiveram-se viáveis até 10,1% de umidade iniciando a perda de viabilidade ao atingir 5,1% de umidade (Tabela 3).

De acordo com Silva et al. (2007), presumidamente a secagem lenta pode promover melhor tolerância à dessecação devido ao tempo que é concedido para a indução e a operação dos mecanismos de proteção para a semente. Oliver e Bewley (1997) sugeriram que a secagem rápida pode impedir os processos ligados à recuperação sendo necessário um maior tempo para os reparos na reidratação.

Rosa et al. (2005), ao estudar o efeito de três taxas de secagem (rápida, intermediária e lenta) em sementes de *Coffea canephora*, considerada de comportamento intermediário, relataram que todas as velocidades de secagem influenciam na germinação e no vigor das sementes, contudo, a maior redução na qualidade fisiológica foi observada quando as sementes foram submetidas à secagem rápida.

José et al. (2011), ao estudar o efeito da secagem rápida e lenta em sementes de *Magnolia ovata*, outra provável espécie intermediária, relataram que sementes secas rapidamente apresentaram menor germinação do que as submetidas à secagem lenta para o mesmo conteúdo de água ( $0,1 \text{ g H}_2\text{O.g}^{-1}$ ).

Os resultados encontrados nesta pesquisa corroboram com os descritos pelos autores citados anteriormente e contrastam com as recomendações de secagem descritas na literatura para sementes de comportamento recalcitrante (BERJAK; PAMMENTER; VERTUCCI, 1993; FU et al., 1990).

A taxa de secagem tem sido relatada como um dos fatores que afetam a resposta de dessecação de sementes de espécies ortodoxas (BEWLEY; BLACK, 1994) e recalcitrantes (JOSÉ et al., 2011).

De acordo com Hong e Ellis (1996), a secagem de sementes visando baixos conteúdos de umidade deve ser realizada em menores temperaturas e de forma relativamente rápida, mesmo quando a dessecação for prejudicial para as sementes. De acordo com os autores, para espécies tropicais recalcitrantes como *Artocarpus heterophyllus*, *Hevea brasiliensis*, *Mangifera indica* e *Theobroma cacao* e espécies intermediárias como *Carica papaya*, *Coffea arábica* e *Dipterocarpus intricatus* recomenda-se a secagem em temperaturas próximas a  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  por serem mais seguras.

De acordo com Black e Pritchard (2002), a secagem das sementes pode causar inúmeros danos ultraestruturais nas células, incluindo a desnaturação de proteínas, a cristalização dos solutos e danos às membranas. Desta forma, a capacidade de manter a integridade celular e de reparar os danos causados pela secagem é de fundamental importância para que as sementes tolerem a dessecação (PAMMENTER; BERJAK, 1999).

Em sementes ortodoxas um conjunto de mecanismos já foi associado à manutenção da tolerância à dessecação durante a perda desidratada dentre eles destacam-se o acúmulo de reservas, a redução de volume do vacúolo, a síntese

de moléculas protetoras, a desdiferenciação intracelular, o desligamento metabólico, a deposição de proteínas LEA, a vitrificação e a presença de moléculas anfipáticas (PAMMENTER; BERJAK, 1999). Além disso, no momento da reidratação, sementes secas devem apresentar mecanismos eficientes de reparo celular para que as funções normais das células sejam reestabelecidas. Tanto na secagem como na embebição a presença, eficiência e operação dos sistemas antioxidantes fazem-se necessárias para que não ocorra o acúmulo de radicais livres associados a danos e morte celular.

De acordo com Iljin (1957), células de plantas que toleram a dessecação devem suportar as tensões mecânicas associadas à redução de volume celular, e segundo Panza, Láinez e Maldonado (2004) isto pode ser conseguido em parte por meio da vacuolização. A secagem pode levar ao aumento na concentração relativamente de solutos no interior dos vacúolos tornando-os sensíveis ao inchaço osmótico após a reidratação (PAMMENTER; BERJAK, 1999). Vacúolos são essenciais para a manutenção da homeostase no interior das células (MARTY, 1999) e perda da integridade do tonoplasto é geralmente considerada letal (MATILE, 1975; MURAI; YOSHIDA, 1998).

Alterações nas membranas celulares são citadas geralmente como as principais lesões ultraestruturais associadas à secagem (SENARATNA; MCKERSIE, 1983, 1986), estando estas ligadas ao rearranjo fosfolipídico da plasmalema (STAEHELIN; CHAPMAN, 1987) ou a remoção excessiva das membranas em resposta ao stress de secagem (STEPONKUS, 1984).

Sementes de *G. americana* secas rapidamente até 10,2% de umidade apresentaram deslocamento da parede celular do endosperma e do embrião e ao atingirem 5,4% de umidade com presença de lise e colapso celular para ambos os tecidos. Tais evidências servem para comprovar que sementes de *G. americana* quando secas rapidamente apresentaram danos ultraestruturais,

podendo-se inferir que para esta metodologia de secagem as sementes de jenipapo não apresentaram um mecanismo eficaz de proteção e reparo celular.

Sementes secas de forma lenta também apresentaram modificações nas paredes celulares dos tecidos do embrião e de reserva quando submetidas a baixos conteúdos de água, entretanto, apresentaram menores mudanças se comparadas às sementes secas de maneira rápida para conteúdos de água semelhante.

## 5 CONCLUSÕES

- As taxas de secagem afetaram de forma diferente a qualidade fisiológica das sementes de *G. americana* havendo uma perda acentuada de viabilidade das sementes submetidas à secagem rápida.
- O desempenho germinativo de sementes secas abaixo de 30% de umidade foi menor em ambas as taxas de secagem se comparado ao de sementes recém-colhidas.
- A ultraestrutura das sementes de *G. americana* secas rapidamente apresentou maiores modificações se comparada ao das sementes secas lentamente para conteúdos de água semelhantes.

## REFERÊNCIAS

ALVES, E. **Apostila do curso introdutório à microscopia eletrônica de transmissão**. Lavras: UFLA, 2004b. 52 p. Apostila.

\_\_\_\_\_. **Apostila do curso introdutório à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: UFLA, 2004a. 43 p. Apostila.

ANDRADE, A. C. S. et al. Germinação de sementes de jenipapo: temperatura, substrato e morfologia do desenvolvimento pós-seminal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 609-615, mar. 2000.

BARBOSA, L. M. et al. Ensaio para estabelecimento de modelos para recuperação de áreas degradadas de matas ciliares, Mogi-Guaçu, SP: nota prévia. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILIAR, 1., 1989, Campinas. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, 1989. p. 268-283.

BERJAK, P. et al. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: the enigma of their desiccation sensitivity. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 3, p. 297-310, Dec. 1990.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W. Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 155-166, Sept. 1993.

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

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 398 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Convenção sobre diversidade biológica: conferência para adoção do texto acordado da CDB: ato final de Nairobi**. Brasília, 2000. 60 p. (Biodiversidade, 2).

CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. Sensibilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) ao dessecamento e ao congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 53-56, 2000.

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

FARRANT, J. M.; BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with storage time. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 67, p. 291-298, 1986.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. *Ex situ* storage of seeds, pollen and *in vitro* cultures of perennial woody plant species. Rome, 1993. 83 p. (FAO Forestry Paper, 113).

FU, J. R. et al. Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 3, p. 743-754, Oct. 1990.

GARCIA, D. C. et al. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 2, p. 603-608, mar./abr. 2004.

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

ILJIN, W. S. Drought resistance in plants and physiological processes. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 3, p. 341-363, 1957.

JOSÉ, A. C. et al. Effects of drying rate and storage time on *Magnolia ovata* Spreng: seed viability. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 39, n. 2, p. 425-434, July 2011.

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

LEPRINCE, O.; BUITINK, J.; HOEKSTRA, F. A. Axes and cotyledons of recalcitrant seeds of *Castanea sativa* Mill. exhibit contrasting responses of

- respiration to drying in relation to desiccation sensitivity. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 50, n. 338, p. 1515-1524, Sept. 1999.
- LEPRINCE, O. et al. Metabolic dysfunction and unabated respiration precede the loss of membrane integrity during dehydration of germinating radicles. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 122, n. 2, p. 597-608, Feb. 2000.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2. ed. São Paulo: Plantarum, 1992. v. 1, 360 p.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.
- MARTY, F. Plasm vacuoles. **Plant Cell**, Rockville, v. 11, n. 4, p. 587-599, Apr. 1999.
- MATILE, P. The lytic compartment of plant cells. In: ALFERT, M. et al. (Ed.). **Cell biology monographs**. Berlin: Springer-Verlag, 1975. v. 1, p. 40-84.
- MIRANDA, L. C.; SILVA, W. R. da; CAVARIANI, C. Secagem de sementes de soja em silo com distribuição radial do fluxo de ar: I, monitoramento físico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 11, p. 2097-2108, nov. 1999.
- MURAI, M.; YOSHIDA, S. Vacuolar membrane lesions induced by a freeze-thaw cycle in protoplasts isolated from deacclimated tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 39, n. 1, p. 87-96, Jan. 1998.
- OLIVEIRA, L. M. et al. Períodos e ambientes de secagem na qualidade de sementes de *Genipa americana* L. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 495-502, abr./jun. 2011.
- OLIVER, M. J.; BEWLEY, J. D. **Desiccation tolerance of plant tissues: a mechanistic overview**. New York: Horticultural Reviews, 1997. 213 p.
- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Aspects of recalcitrant seed physiology. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 56-69, 2000. Edição especial.

\_\_\_\_\_. Review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Jan. 1999.

PAMMENTER, N. W. et al. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 4, p. 463-471, Dec. 1998.

PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W.; BERJAK, P. Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landolphia kirkii*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 96, n. 4, p. 1093-1098, Aug. 1991.

PANZA, V.; LÁINEZ, V.; MALDONADO, S. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe edulis*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 145, n. 4, p. 445-453, July 2004.

PRADO NETO, M. et al. Germinação de sementes de jenipapeiro submetidas à pré-embebição em regulador e estimulante vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 693-698, maio/jun. 2007.

PRITCHARD, H. W. Water potential and embryonic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra*. **Annals of Botany**, London, v. 67, n. 1, p. 43-49, Jan. 1991.

QUEIROZ, S. E. E. **Mecanismo e controle da germinação de sementes de *Genipa americana* L.** 2009. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 144, n. 3, p. 263-276, Mar. 2012.

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

ROSA, S. D. V. F. da et al. Effects of different drying rates on the physiological quality of *Coffea canephora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 2, p. 199-205, 2005.

SALOMÃO, A. N. Desiccation, storage and germination of *Genipa Americana* seeds. In: SACANDÉ, M. et al. (Ed.). **Comparative storage: biology of tropical tree seeds**. Rome: IPGRI, 2004. p. 263-269.

SANTOS, A. R. F.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Restrição hídrica em sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 35, n. 2, p. 213-220, mar./abr. 2011.

SENARATNA, T.; MCKERSIE, B. D. Dehydration injury in germinating soybean (*Glycine max.* L. Merr.) seeds. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 72, n. 3, p. 620-624, 1983.

\_\_\_\_\_. Loss of desiccation tolerance during seed germination: a free radical mechanism of injury. In: LEOPOLD, A. C. (Ed.). **Membranes, metabolism and dry organisms**. Ithaca: Cornell University, 1986. p. 85-101.

SILVA, P. A. et al. Análise fisiológica e ultraestrutural durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 15-22, 2007.

SOUZA, A. F. et al. Ecophysiology and morphology of seed germination of the neotropical lowland tree *Genipa americana* (Rubiaceae). **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 15, n. 5, p. 667-680, Sept. 1999.

STAEHELIN, L. A.; CHAPMAN, R. L. Secretion and membrane recycling in plant cells. **Planta**, Berlin, v. 171, p. 43-57, 1987.

STEPONKUS, P. L. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 35, p. 543-584, 1984.

SUN, W. Q. Methods for the study of water relations under desiccation stress. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. New York: Wiley, 2002. p. 47-92.

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

WALTERS, C. et al. Desiccation damage: “accelerated aging” and metabolism in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science and Research**, Wallingford, v. 11, n. 2, p. 135-148, June 2001.

WESLEY-SMITH, J. et al. The effects of two drying rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.) seeds. **Annals of Botany**, London, v. 88, n. 4, p. 653-664, July 2001.

**ARTIGO 02: Comportamento fisiológico de sementes de *Genipa americana* quanto à capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento**

Resumo: Conhecer a capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento das sementes é fundamental para disponibilizar condições adequadas que mantenham a viabilidade após a colheita. A velocidade de secagem é um dos fatores que têm influenciado a resposta fisiológica das sementes de inúmeras espécies. Ao que tudo indica *Genipa americana* apresenta sementes de comportamento intermediário perdendo rapidamente a viabilidade após 30 dias quando secas e armazenadas em temperaturas negativas. Deste modo, buscou-se verificar a capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento de sementes de *Genipa americana quando secas lentamente*. Sementes com 47% de umidade foram secas em soluções salinas até atingir 30, 20, 15, 10 e 5% de umidade, testando-se a viabilidade. Ao atingir 10 e 5% de umidade as sementes foram armazenadas a -18 °C e testou-se a viabilidade a cada 30 dias durante três meses. Sementes frescas apresentaram 98% de germinação sem perda significativa de viabilidade até 10% de umidade. Sementes secas a 10 e 5% de umidade tenderam a perder a viabilidade após 30 dias de armazenamento sem a perda total de germinação após três meses nestas condições. As sementes de *Genipa americana* lentamente secas apresentaram uma maior tolerância à dessecação e ao armazenamento se comparada às informações descritas na literatura.

Palavras-chave: Classificação fisiológica. Espécie florestal brasileira, Jenipapeiro.

**ARTICLE 2: Physiological behavior of *Genipa americana* seeds regarding the capacity for desiccation and storage tolerance**

**Abstract:** Knowing the capacity for desiccation and storage tolerance of seeds is fundamental to provide adequate conditions which maintain viability after the harvest. Drying speed is one of the factors which have been influencing the physiological response of seeds of various species. Literature reports that *Genipa americana* seeds present intermediate behavior, quickly losing viability if stores at negative temperatures. Thus, we aimed at verifying the effect of slow drying over the capacity of desiccation and storage tolerance of *Genipa americana* seeds. Seeds with 47% of humidity (recently harvested) were dried in saline solutions up to 30, 20, 15, 10 and 5% of humidity, testing the viability. At reaching 10 and 5% of humidity, they tended to lose viability after 30 days of storage without the total loss of germination after three months in these conditions. The slow drying increased the capacity for desiccation and storage tolerance of the *Genipa americana* seeds if compared to the information described in literature.

Keywords: Physiological classification. Brazilian forest species. Jenipapo plants.

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas tem ocorrido um aumento significativo na quantidade de pesquisas relacionadas à classificação fisiológica das sementes florestais brasileiras quanto à capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento. Davide et al. (2003) relatam que tais estudos vêm sendo impulsionados pela crescente necessidade de sementes viáveis para suprir programas de produção ou de conservação florestal.

Apesar dos esforços em esclarecer tais conhecimentos ainda existe uma grande lacuna de informações básicas relacionadas à tecnologia de sementes florestais nativas as quais apresentam diferentes comportamentos fisiológicos devido a grande diversidade ecológica. O manejo correto após a colheita juntamente com o conhecimento do comportamento fisiológico das sementes são características imprescindíveis para que seja possível disponibilizar condições ideais para a manutenção da viabilidade das sementes durante o armazenamento.

Kohama et al. (2006) relatam que inúmeros estudos buscam melhorar as condições de armazenamento utilizando técnicas que envolvam a secagem ou a diminuição da temperatura buscando a redução no metabolismo das sementes. Além disto, Hong e Ellis (1996) destacam que para conhecer o comportamento de sementes destinadas ao armazenamento é indispensável verificar a tolerância à dessecação em temperaturas abaixo de zero.

Roberts (1973) foi o primeiro autor a propor duas categorias de classificação de comportamento fisiológico para sementes secas e armazenadas. De acordo com o autor sementes ortodoxas suportam a secagem (cerca de 5%) e o armazenamento em baixas temperaturas por longos períodos sem perda significativa de viabilidade, em contrapartida, sementes recalcitrantes não

toleram estas condições o que acaba dificultando o armazenamento destas espécies ao longo do tempo.

Ellis, Hong e Roberts (1990) posteriormente propuseram uma terceira categoria de comportamento, introduzindo o termo intermediário para sementes que apresentam tolerância parcialmente à dessecação (10 a 7% de umidade) e perdem rapidamente a viabilidade quando armazenadas em baixas temperaturas.

Dentro das Angiospermas a família Rubiaceae ocupa o quarto lugar em diversidade (MABBERLEY, 1997) com 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies (ROBBRECHT, 1988). Pertencente a esta família e conhecido popularmente como jenipapeiro, *Genipa americana* L. é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente nas florestas neotropicais, desde o norte da Argentina até o México (CARVALHO, 1994).

No Brasil o jenipapeiro é uma árvore de rápido crescimento encontrada principalmente nas regiões de clima quente e úmido, como no extremo norte do país (várzeas amazônicas), nos estados de São Paulo e Mato Grosso (florestas de galeria) (CAVALCANTE, 1996; GIBBS; LEITÃO FILHO, 1978).

*G. americana* é uma espécie que podendo ser empregada em projetos paisagísticos e ornamentais (COSTA et al., 2005), na produção de madeira para fabricação de cabos de enxada, foice, machado, construção civil e naval (LORENZI, 1992), ou em pomares comerciais para o consumo dos frutos *in natura* ou para exploração de seus subprodutos (vinhos, licores, corantes), fármacos e medicamentos populares (COSTA et al., 2005), podendo ser uma alternativa de renda para as pequenas propriedades rurais.

Seus frutos possuem polpa suculenta, comestível e aromática (DONADIO; NACHTIGAL; SACRAMENTO, 1998) tornando-se atrativos para fauna em geral, além disso, a espécie suporta solos encharcados, motivos pelos quais, recomenda-se a sua utilização em programas de recuperação de matas ciliares (VALERI; PUERTA; CRUZ, 2003). De acordo com Prado Neto et al.

(2007) o jenipapeiro pode ser propagado de forma sexuada (sementes) ou assexuada (vegetativa), com predominância para a primeira via.

Com relação à classificação fisiológica das sementes de *G. americana* apenas dois estudos relataram o comportamento das sementes quando a capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento.

O primeiro trabalho publicado por Carvalho e Nascimento (2000) que secaram as sementes frescas (39,8% de umidade) em um ambiente controlado ( $27 \pm 2$  °C; UR  $40 \pm 5\%$ ) até 6,2% de umidade testando a viabilidade das sementes antes e após o armazenamento (-18 °C por 30 dias). As sementes frescas apresentaram uma germinação acima de 90% com perda de viabilidade a partir de 10,3% de umidade. Sementes armazenadas apresentaram uma grande queda no percentual germinativo quando armazenadas em teores de umidade acima de 24,9%, com quase 50% de germinação para sementes secas até 8,4% de umidade. Adicionalmente os autores testaram a viabilidade das sementes a um teor de umidade mais baixo (4,2%) antes e após o armazenamento, contudo, os resultados culminaram na perda total de viabilidade.

O segundo estudo foi desenvolvido por Salomão (2004) que secou as sementes recém-colhidas (51,5% de umidade) em sílica gel até 6,3% de umidade testando sua viabilidade antes e após o armazenamento (24 horas a -20 °C). Ao longo da secagem as sementes não armazenadas apresentaram perda de germinação de 99% para 33% quando secas até o menor conteúdo de água. Com relação ao armazenamento o percentual máximo de germinação observado foi de 15% para semente com 8,6% de umidade ocorrendo à perda total da germinação ao atingir 6,3% de umidade.

Em ambos os estudos os autores relatam que as sementes de *G. americana* apresentam comportamento intermediário, contudo, estudos recentes têm apontado que a velocidade de secagem tem afetado o comportamento das sementes de inúmeras espécies e ao que tudo indica Carvalho e Nascimento

(2000) e Salomão (2004) não levaram em consideração este fator para realizar a classificação de comportamento das sementes de *G. americana*.

Desta forma, com este estudo objetivou-se verificar a capacidade de tolerância à dessecação e o armazenamento das sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem lenta em dois conteúdos de água.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes Florestais (LSF) do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) durante o período de março a dezembro de 2012. Os frutos foram obtidos de oito matrizes (fevereiro de 2012) no município de Lavras – MG.

Foram coletados apenas frutos maduros (consistência mole e coloração castanho-amarelo) dispostos no chão. Após a coleta os frutos foram transportados para o galpão de beneficiamento do Viveiro Florestal da UFLA, onde permaneceram por 12 horas até o beneficiamento.

O despulpamento dos frutos foi realizado por meio da abertura e remoção manual da polpa que foi lavada em água corrente sobre peneiras. Em seguida, as sementes foram misturadas com areia úmida autoclavada e esfregadas manualmente até a remoção total do mesocarpo, sendo lavadas em água corrente e encaminhadas frescas para o LSF. Visando remover a água superficial das sementes, a mesmas foram dispostas em camada única sobre papel toalha por duas horas em uma sala climatizada (20 °C; 60% UR).

O lote foi formado apenas por sementes maduras e sem danos visuais sendo armazenado em saco plástico (dupla camada) e mantido em geladeira (4 °C). O tempo entre a coleta, beneficiamento e início dos testes foi de, no máximo, 48 horas.

### Determinação do conteúdo de água

A determinação do conteúdo de água para todas as etapas do experimento foi realizada pelo método de estufa  $103 \pm 3$  °C/17 horas (BRASIL, 2009). Utilizaram-se quatro repetições de cinco sementes inteiras, dispostas em barquetes de papel alumínio, sendo a média dos resultados expressa em porcentagem (base úmida).

### Avaliação da viabilidade

Em todas as etapas do experimento as sementes foram submetidas a uma pré-umidificação, visando minimizar possíveis danos de embebição. Para isso, as sementes foram dispostas em um Gerbox<sup>®</sup> contendo água no fundo, sobre tela, em camada única por um período de 24 horas a 25 °C na ausência de luz.

Após a pré-umidificação as sementes foram desinfestadas em hipoclorito de sódio (1%/10 minutos) e colocadas para germinar.

O teste de germinação foi realizado em placa de Petri contendo duas folhas de papel filtro umedecidas. Cada teste foi constituído por quatro repetições de 25 sementes, sendo conduzido em BOD a 25 °C com luz constante. As sementes germinadas foram contabilizadas diariamente utilizando a protrusão da radícula ( $\geq 2,0$  mm) como critério de germinação. O teste de germinação teve duração efetiva de 80 dias quando foram contabilizadas as plântulas normais.

Classificação das sementes quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento

Após a determinação do conteúdo de água inicial do lote as sementes foram submetidas secagem lenta até os seguintes conteúdos de água 30, 20, 15, 10 e 5%. Para estimar a umidade das sementes durante a secagem utilizou-se a fórmula proposta por Hong e Ellis (1996):

$$M = \frac{(100 - CAi)}{(100 - CAd)} \times Mi$$

Onde:

M: massa (g) no conteúdo de água desejado;

Mi: massa (g) no conteúdo de água inicial;

CAi: conteúdo de água inicial (% base úmida);

CAd: conteúdo de água desejado (% base úmida).

Para garantir que as amostras apresentavam os conteúdos de água desejados, foram retiradas amostras controle e determinado o conteúdo de água pelo método da estufa. A curva de secagem foi elaborada após a determinação dos períodos necessários para atingir os conteúdos de água desejados e a dessecação foi realizada em uma sala climatizada a 20 °C.

As sementes foram dispostas em recipiente hermeticamente fechado contendo soluções salinas capazes de manter a umidade relativa estável (Tabela 1). As soluções salinas permaneceram no fundo do recipiente e as sementes foram acomodadas em camada única uniforme sobre uma tela sem tocar nas soluções. Ao final da secagem (48 horas) utilizou-se sílica gel para que as sementes atingissem 5% de umidade.

Tabela 1 Soluções salinas utilizadas para secar lentamente as sementes de *Genipa americana*.

Solução Salina	Concentração em H <sub>2</sub> O	Umidade Relativa de Equilíbrio	Tempo de exposição
LiCl	5 g/100 mL	95%	96 horas
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Solução saturada	89%	96 horas
NaCl	Solução saturada	75%	96 horas
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Solução saturada	53%	744 horas
Sílica Gel	-	10%	48 horas

Fonte: Sun (2002)

Aa atingirem 10 e 5% de umidade as amostras de sementes foram acomodadas em recipientes herméticos e armazenadas a -20 °C de acordo com o protocolo de classificar de sementes quanto à capacidade de tolerância à dessecação e ao armazenamento proposto na Figura 1:

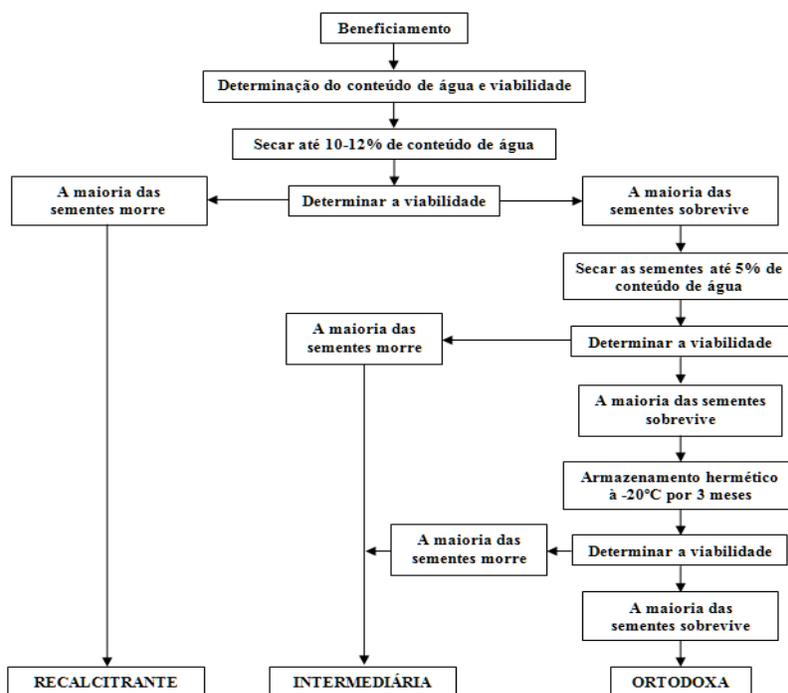


Figura 12 Protocolo utilizado para a classificação fisiológica de sementes quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. Fonte: Hong e Ellis (1996)

Adicionalmente observou-se o comportamento das sementes durante o período de armazenamento realizando ensaios de viabilidade em períodos não propostos no protocolo original. Desta forma, ao atingir 10% e 5% de umidade as sementes foram armazenadas por 1, 2 e 3 meses testando-se a viabilidade ao final destes períodos.

#### Análise dos dados

O experimento de viabilidade das sementes foi montada em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x3, sendo o fator a: dois conteúdos de água o fator b: três períodos de armazenamento.

Os dados de germinação e plântulas normais das sementes não armazenadas foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk,  $p \leq 0,05$ ), ANAVA e teste de comparação de médias (Scott-Knott,  $p \leq 0,05$ ). Os dados de secagem, bem como, os de germinação e de plântulas normais das sementes armazenadas foram submetidos à análise de regressão.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo de água das sementes recém-colhidas (47% de umidade) diminui progressivamente ao longo da secagem (Figura 2) atingindo 10% de umidade após 1007 horas e 5% de umidade em 1081 horas.

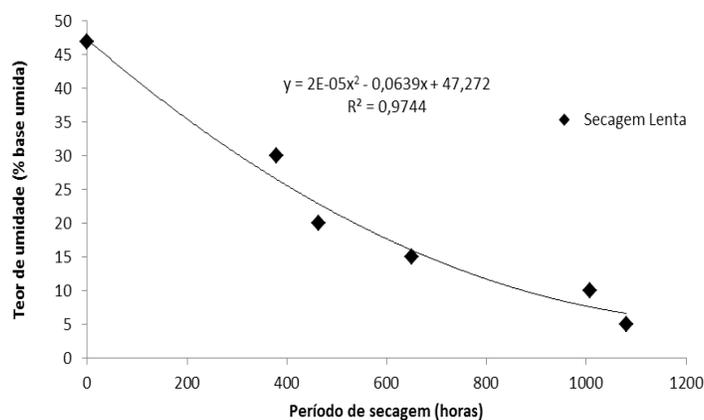


Figura 13 Conteúdo de água das sementes de *G. americana* L. em função da secagem lenta.

As sementes recém-colhidas iniciaram protrusão radicular a partir do 8º dia atingindo 98% de germinação e de produção de plântulas normais (Tabela 2) corroborando com os resultados descritos por Queiroz et al. (2012). Ao longo da secagem o percentual de germinação e de plântulas normais não diferiu estatisticamente (teste de Scott-Knott -  $p \leq 0,05$ ) até cerca de 10% de umidade indicando a manutenção da viabilidade das sementes até este conteúdo de água.

Tabela 2 Efeito da perda de umidade no comportamento germinativo de sementes de *Genipa americana* submetidas à secagem lenta.

<b>Teor de umidade (%)</b>	<b>Germinação (%)</b>	<b>Plântulas Normais (%)</b>
<b>47*</b>	<b>98a*</b>	<b>98a*</b>
<b>30</b>	<b>91a</b>	<b>89a</b>
<b>20</b>	<b>95a</b>	<b>93a</b>
<b>15</b>	<b>91a</b>	<b>87a</b>
<b>10</b>	<b>91a</b>	<b>84a</b>
<b>5</b>	<b>49b</b>	<b>46b</b>
<b>CV (%)</b>	<b>12,07</b>	<b>16,43</b>

Letras iguais nas colunas indicam ausência de diferença entre as médias pelo teste de Scott-Knott ( $p \leq 0,05$ ). \* Valores referentes a teste com as sementes frescas (controle).

Na literatura inúmeros estudos relatam que sementes do jenipapeiro recém-colhidas e postas para germinar apresentam um elevado percentual de germinação (OLIVEIRA et al., 2011; QUEIROZ et al., 2012; SALOMÃO, 2004) com perda parcial de viabilidade à medida que as sementes são dessecadas.

Sementes secas até 5% de umidade apresentaram necroses na ponta da radícula e presença de exudados do endosperma. De acordo com Pammenter e Berjak (1999) a perda de germinação para sementes secas pode estar associada à falta de mecanismos eficientes ligados à tolerância à dessecação ou de mecanismos de reparo de danos no momento da embebição.

O método de secagem lento proporcionou um aumento na capacidade de tolerância à dessecação das sementes de *G. americana* se comparado aos resultados encontrados por Oliveira et al. (2011) e Salomão (2004) para esta mesma espécie em conteúdos de água semelhantes. Os benefícios da secagem lenta também foram relatados para outras espécies com sementes intermediárias assim como é o caso da *Magnolia ovata* (JOSÉ et al., 2011) e *Coffea canephora* (ROSA et al., 2005) que apresentaram menor sensibilidade a dessecação a conteúdos de água mais baixos.

Sementes secas até 10% de umidade apresentaram uma elevada protrusão radicular antes do armazenamento, contudo, após 30 dias a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  tenderam a perder viabilidade (Figura 3). Esta tendência também foi evidenciada para sementes secas até 5% de umidade, entre tanto, em menor proporção se comparada com as sementes secas a 10% de umidade. Apesar do exposto, em nenhum dos dois conteúdos de umidade citados anteriormente foi observada a perda total de germinação após três meses de armazenamento.

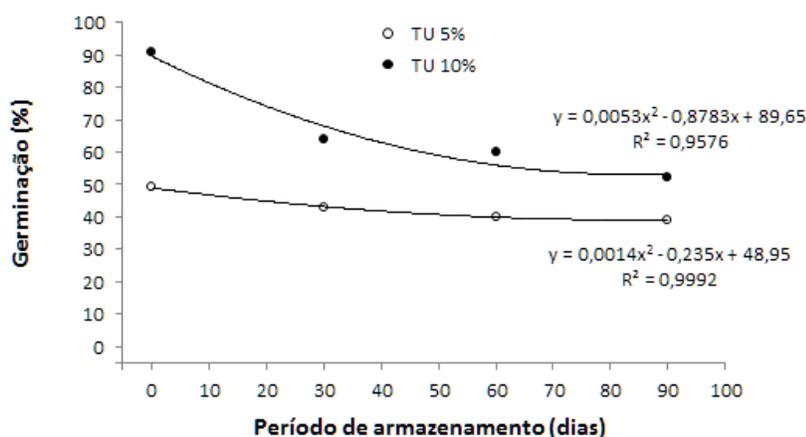


Figura 14 Germinação de sementes de *Genipa americana* secas (10 e 5% de umidade) e armazenadas em diferentes períodos.

A produção de plântulas normais (Figura 4) também foi afetada após 30 dias de armazenamento para as sementes secas a 10 e a 5% de umidade havendo uma maior tendência de perda de viabilidade para sementes secas ao conteúdo de água de 5%. Essa tendência provavelmente pode ser explicada pela intensificação dos danos ao embrião relatados anteriormente para este conteúdo de água antes do armazenamento, entre tanto, as sementes não apresentaram letalidade total após 90 dias de congelamento.

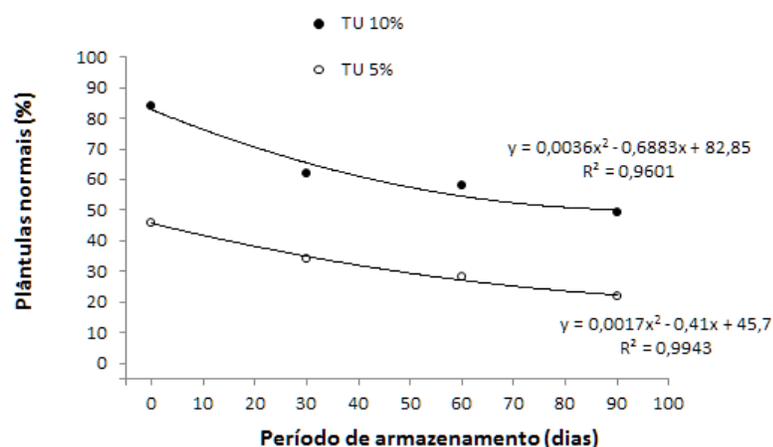


Figura 15 Plântulas normais de sementes de *Genipa americana* secas a 10 e 5% de umidade e armazenadas em diferentes períodos.

Carvalho e Nascimento (2000) relataram que o efeito deletério do congelamento sobre a viabilidade das sementes de jenipapo está, fundamentalmente, associado ao maior ou menor grau de sensibilidade que as sementes manifestam quando expostas em diferentes níveis de umidade à temperatura de  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Em espécies tropicais com sementes intermediárias a perda de longevidade após a dessecação (7-10% umidade) e o armazenamento em temperaturas abaixo de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  já foi relatada (ELLIS et al., 1991; ELLIS; HONG; ROBERTS, 1991a, 1991b; HONG; ELLIS, 1992).

Salomão (2004) ao estudar a longevidade das sementes *G. americana* em três temperaturas de armazenamento ( $5$ ,  $10$  e  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) durante 12 meses constatou que sementes armazenadas com elevados conteúdos de água (38 e 42%) perderam quase que totalmente a viabilidade após seis meses de armazenamento. Em contrapartida, sementes secas a 11% de umidade mantiveram-se aptas a germinar após um ano de armazenamento em todas as condições testadas.

Desta forma, fica evidente a importância da redução do conteúdo de água juntamente com condições de armazenamento para a preservação da qualidade fisiológica das sementes de *G. americana*. Em sementes sensíveis à dessecação e ao armazenamento a manutenção da viabilidade ainda é um dos maiores desafios enfrentados por pesquisadores e bancos de conservação de germoplasma. De acordo com Viggiano et al. (2000), o conteúdo de água, a temperatura, umidade relativa do ar e o tipo de acondicionamento utilizado são os principais fatores que podem afetar a qualidade das sementes durante o armazenamento.

De acordo com Hong e Ellis (1996), sementes destinadas a longos períodos de armazenamento devem ser previamente secas e suportar baixas temperaturas no armazenamento, especialmente temperaturas sub-zero. Ao que tudo indica a secagem lenta até 10% de umidade atendeu a este pressuposto durante o armazenamento, agora basta saber qual é o período máximo em que as suportam estas condições.

A perda de viabilidade das sementes secas lentamente durante o armazenamento assemelha-se com o comportamento fisiológico das sementes do cafeeiro, mamoeiro e dendezeiro (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990, 1991a, 1991b) em termos de sensibilidade a dessecação e ao armazenamento o que serve para confirmar que sementes de *G. americana* apresentam comportamento intermediário.

#### **4 CONCLUSÕES**

A secagem lenta aumentou o tempo de viabilidade das sementes de *G. americana* após o armazenamento em baixa temperatura, este fato ainda não havia sido relatado até o momento, devendo ser realizados novos estudos para

evidenciar as possíveis causas do efeito da secagem lenta sobre a longevidade das sementes desta espécie.

## REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 398 p.

CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. Sensibilidade de sementes de jenipapo (*Genipa americana* L.) ao dessecamento e ao congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 53-56, 2000.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras**: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Colombo: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994. 640 p.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Belém: MCT/CNPq; Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. 279 p.

COSTA, M. C. et al. Substratos para produção de mudas de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 1, p. 19-24, 2005.

DAVIDE, A. C. et al. Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais pertencentes à família Lauraceae quanto à capacidade de armazenamento. **Cerne**, Lavras, v. 9, n. 1, p. 29-35, 2003.

DONADIO, L. C.; NACHTIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. R. **Frutas exóticas**. Jaboticabal: FUNEP, 1998. 278 p.

ELLIS, R. H. et al. Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, n. 1, p. 99-104, 1991.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, n. 1, p. 69-72, 1991a.

\_\_\_\_\_. Intermediate category of seed storage behaviour?: I., *Coffee*. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

\_\_\_\_\_. Intermediate category of seed storage behaviour?: II., effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation tolerance in coffee. **Journal Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1991b.

GIBBS, P. E.; LEITÃO FILHO, H. F. Floristic composition of an area of gallery forest near Mogi Guaçu, state of São Paulo, S.E. Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 1, p. 151-156, 1978.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Optimum air-dry seed storage environments for arabica coffee. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, n. 4, p. 547-560, Oct. 1992.

\_\_\_\_\_. **Protocollo determine seed storage behaviour**. Rome: IPGRI, 1996. 55 p. (Technical Bulletin, 1).

JOSÉ, A. C. et al. Effects of drying rate and storage time on *Magnolia ovate* Spreng: seed viability. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 39, n. 2, p. 425-434, July 2011.

KOHAMA, S. et al. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* LAM. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p.

MABBERLEY, D. J. **The plant-book**: a portable dictionary of the vascular plants. Cambridge: Cambridge University, 1997. 858 p.

OLIVEIRA, L. M. et al. Períodos e ambientes de secagem na qualidade de sementes de *Genipa americana* L. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 495-502, abr./jun. 2011.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Jan. 1999.

PRADO NETO, M. et al. Germinação de sementes de jenipapeiro submetidas à pré-embebição em regulador e estimulante vegetal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 693-698, maio/jun. 2007.

QUEIROZ, S. E. E. et al. Mechanism and control of *Genipa americana* seed germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 144, n. 4, p. 263-276, Mar. 2012.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, Meise, v. 1, p. 1-271, 1988.

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

ROSA, S. D. V. F. da et al. Effects of different drying rates on the physiological quality of *Coffea canephora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, n. 2, p. 199-205, 2005.

SALOMÃO, A. N. Desiccation, storage and germination of *Genipa Americana* seeds. In: SACANDÉ, M. et al. (Ed.). **Comparative storage: biology of tropical tree seeds**. Rome: IPGRI, 2004. p. 263-269.

SUN, W. Q. Methods for the study of water relations under desiccation stress. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. New York: Wiley, 2002. p. 47-92.

VALERI, S. V.; PUERTA, R.; CRUZ, M. C. P. Efeito do fósforo no solo no desenvolvimento inicial de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 69-77, dez. 2003.

VILLACHICA, H. et al. **Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia**. Lima: Secretaria-Pro-Tempore, 1996. 367 p. (bTCA-SPT, 44).