



FRANCESCA SALLA

**ANÁLISE ECOFISIOLÓGICA E
MOLECULAR EM SEMENTES DE
Genipa americana L.**

LAVRAS – MG

2015

FRANCESCA SALLA

ANÁLISE ECOFISIOLÓGICA E MOLECULAR EM 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

Coorientador

Dr. José Márcio Rocha Faria

LAVRAS – MG

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Salla, Francesca.

Análise ecofisiológica e molecular em sementes de *Genipa
americana* L. / Francesca Salla. – Lavras : UFLA, 2015.

99 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico)–Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador: Anderson Cleiton José.

Bibliografia.

1. Banco de sementes. 2. Enzimas. 3. Proteínas. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

FRANCESCA SALLA

**ANÁLISE ECOFISIOLÓGICA E MOLECULAR EM 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 24 de fevereiro de 2015.

Dr. José Márcio Rocha Faria

UFLA

Dra. Leticia Renata de Carvalho

UFMG

Dr. Anderson Cleiton José
Orientador

LAVRAS – MG

2015

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao departamento de Engenharia Florestal, pelos momentos de aprendizado e crescimento pessoal.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Acre – FAPAC, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores que tive a oportunidade de conhecer, pelos ensinamentos transmitidos e pela harmoniosa convivência.

Aos meus orientadores Anderson e José Márcio pelos valiosos ensinamentos, orientação, atenção e confiança nesses anos. Gratidão!

Aos meus queridíssimos e especialíssimos amigos Doctor Wilson, Gislean, Girlânio, Beth, Andreza, Tati, Janice, Túlio, Ezequiel, Rayana, Patrick, Fabieli, Cris, Ailton, Fabrício e Olivia Tonetti, por todos os momentos que tivemos em nosso laboratório e fora dele. Aprendi enormemente com vocês!!! Gratidão eterna!!!

A todos os amigos... e aos que conheci e encontrei nesse cantinho da terra...

A todos os meus anjos...

Ao amor que recebo de minha família...

Ao universo...

RESUMO GERAL

A tolerância à dessecação das sementes influencia a capacidade da formação do banco de sementes do solo e a sobrevivência das espécies nos diferentes ambientes, uma vez que está diretamente relacionada com a longevidade das sementes. Assim, o objetivo com este trabalho foi estudar o comportamento de sementes de *Genipa americana* L. em bancos de sementes induzidos e as alterações nas enzimas antioxidantes e proteínas durante a secagem das sementes em diferentes taxas. Foram instalados no sub-bosque de uma floresta estacional semidecídua, em duas áreas distintas (topo de morro e mata ciliar), um banco de sementes induzido. Foram realizadas avaliações mensais da germinação e contagem da emergência de plântulas. Para determinar os perfis proteicos, as proteínas resistentes ao calor e a atividade de enzimas antioxidantes no desempenho fisiológico, as sementes de *Genipa americana* foram submetidas a duas velocidades de secagem (lenta e rápida). Os resultados do banco de sementes determinam que sementes desta espécie formam banco de sementes transitório, com manutenção de sua viabilidade somente até o quarto mês após dispostas em ambiente natural. Foi observado efeito das taxas de secagem na viabilidade das sementes de *G. americana*, havendo manutenção da qualidade fisiológica de sementes submetidas à secagem lenta. Não houve efeito das taxas de secagem e da redução do conteúdo de água das sementes no padrão eletroforético de proteínas totais e proteínas resistentes ao calor. A diminuição da tolerância à dessecação coincidiu com a redução da atividade da enzima catalase e superóxido dismutase, verificando a importância dessas enzimas para a proteção das sementes durante a secagem.

Palavras-chave: Sementes florestais. Banco de sementes. Tolerância à dessecação. Enzimas. Proteínas.

GENERAL ABSTRACT

The tolerance to seed desiccation influences the capacity of the formation of soil seed bank and the survival of species in different environments, given that it is directly related to seed longevity. Thus, the objective of this work was to study the behavior of *Genipa americana* L. seeds in burial seed banks and the changes in antioxidant enzymes and proteins during seed drying at different rates. We installed an burial seed banks in the understory of a seasonal semideciduous forest in two distinct areas (hill top and riparian forest). We performed monthly evaluations of the germination and seedling emergence. To determine the protein profiles, heat resistant proteins and antioxidant enzyme activity in the physiological performance of the *Genipa americana* seeds, we subjected the seeds to two drying velocities (slow and fast). The results of the seed bank determined that *Genipa americana* seeds form a transitory seed bank, maintaining its viability only up to the fourth month after disposed in the natural environment. We observed effect of the drying rates over seed viability, in which the physiological quality of seeds submitted to slow drying was maintained. There was no effect of the drying rates and of the reduction of water content of the seeds over the electrophoretic pattern of total and heat resistant proteins. The decrease in tolerance to desiccation coincided with the reduction of the activity of enzymes catalase and superoxide dismutase, verifying the importance of these enzymes for the protection of seeds during drying.

Keywords: Forest Seeds. Seed Bank. Tolerance to Desiccation. Enzymes. Proteins.

LISTA DE FIGURAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

- Figura 1 Localização das unidades experimentais (Mata de topo de morro e Mata ciliar no campus da Universidade Federal de Lavras) no município de Lavras – MG38
- Figura 2 Delineamento experimental do banco de sementes induzido no solo, disposição amostral e números de sementes por amostras.....43
- Figura 3 Efeito da secagem na germinação de sementes de *Genipa americana*.....45
- Figura 4 Variações climatológicas mensais (temperatura máxima, mínima e precipitação) no período de desenvolvimento do experimento. A seta indica o momento da dispersão das sementes de *Genipa americana*47
- Figura 5 Variação da umidade do solo nos ambientes várzea e topo de morro no período de julho de 2013 a julho de 2014. As barras representam o desvio padrão48
- Figura 6 Variação da umidade das sementes nos ambientes Mata de topo de morro e Mata ciliar no período de julho a dezembro de 2013.....50
- Figura 7 Viabilidade de sementes de *Genipa americana* em bancos de sementes induzidos em duas áreas (Mata ciliar e Mata de topo de morro) entre os meses de julho e dezembro de 2013)52
- Figura 8 Emergência e estabelecimento de plântulas em dois ambientes florestais distintos, topo de morro (A), mata ciliar (B) de uma floresta estacional semidecidual do município de Lavras, MG56

ARTIGO 2

- Figura 1 Curvas de secagem das sementes de *Genipa americana* em diferentes velocidades de secagem77
- Figura 2 Mudanças na quantidade de proteínas totais (% de proteína por g de peso seco) (A) e resistentes ao calor (B) em sementes de *Genipa americana* em diferentes conteúdos de água submetidas à secagem rápida e lenta.....82
- Figura 3 Padrão eletroforético de sementes de *Genipa americana* em diferentes conteúdos de água, durante a secagem lenta83
- Figura 4 Padrão eletroforético de sementes de *Genipa americana* em diferentes conteúdos de umidade, durante a secagem rápida84
- Figura 5 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) em sementes de *Genipa americana* após secagem a diferentes conteúdos de água e sob dois métodos de secagem (lenta e rápida)87
- Figura 6 Atividade da enzima Catalase (CAT) em sementes de *Genipa americana* após secagem a diferentes conteúdos de água e sob dois métodos de secagem (lenta e rápida). As barras verticais representam o desvio padrão88

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 2

Tabela 1	Tratamentos utilizados para a secagem lenta de sementes de <i>Genipa americana</i> e o conteúdo de água obtido após a secagem em ambientes com diferentes umidades relativas obtidas pela exposição a soluções salinas saturadas e sílica gel ativada por diferentes períodos72
Tabela 2	Efeito da secagem lenta e rápida na germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de <i>G. americana</i>79
Tabela 3	Atividade das enzimas Catalase e Superóxido dismutase em diferentes conteúdos de umidade e em diferentes métodos de secagem.....86

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Espécie estudada	15
2.2	Comportamento fisiológico de sementes quanto à secagem e ao armazenamento	16
2.3	Taxas de secagem e deterioração de sementes	18
2.4	Alterações enzimáticas durante a secagem	19
2.5	Estratégias de regeneração florestal	21
2.6	Banco de sementes	22
	REFERÊNCIAS	27
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	34
	ARTIGO 1 Comportamento de sementes sensíveis à dessecação em banco de sementes induzidos	34
1	INTRODUÇÃO	36
2	MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1	Área de estudo	38
2.2	Seleção de Matrizes	39
2.3	Coleta e beneficiamento das sementes	39
2.4	Caracterização inicial do lote de sementes	39
2.5	Curva de secagem	40
2.6	Banco de sementes induzido	41
2.7	Análises estatísticas	43
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4	CONCLUSÕES	60
	REFERÊNCIAS	62
	ARTIGO 2 Alterações enzimáticas e de proteínas em sementes de <i>Genipa americana</i> L. submetidas a dois métodos de secagem	65
1	INTRODUÇÃO	67
2	METODOLOGIA	70
2.1	Determinação do conteúdo de água	70
2.2	Curvas de secagem	71
2.3	Determinação das proteínas totais e resistentes ao calor	73
2.4	Determinação da atividade de enzimas antioxidantes	74
2.4.1	Atividade da catalase	75
2.4.2	Atividade da superóxido dismutase	75
2.4.3	Atividade da peroxidase	75
2.5	Análise dos dados	76
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4	CONCLUSÕES	92

REFERÊNCIAS	94
ANEXOS	99

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A tolerância à dessecação é a capacidade que as sementes de algumas espécies têm de tolerar a secagem, o que lhes permite sobreviver por um longo período quando armazenadas em estado seco. À medida que a embebição avança, a tolerância à dessecação diminui, sendo drasticamente reduzida após a protrusão da raiz primária, até que seja totalmente perdida (BUIKINK et al., 2006). Trata-se de um fenômeno complexo, envolvendo a interação de ajustes metabólicos e estruturais, permitindo que as células resistam a perdas consideráveis de água sem a ocorrência de prejuízos acentuados (BEWLEY et al., 2013).

As sementes ortodoxas são tolerantes à dessecação (TD) a conteúdo de água em torno de 5% e ao armazenamento em temperaturas baixas (sub zero). Sementes de comportamento intermediário não toleram desidratação abaixo de 12 - 10% de conteúdo de água. Enquanto outras possuem sementes conhecidas como recalcitrantes, as quais não toleram dessecação a conteúdo de água abaixo de 12% nem o armazenamento em temperaturas sub zero (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990; ROBERTS, 1973).

A tolerância à dessecação das sementes influencia a capacidade da formação do banco de sementes do solo e a sobrevivência das espécies nos diferentes ambientes, uma vez que está diretamente relacionada com a longevidade das sementes.

O banco de sementes no solo está diretamente ligado ao estabelecimento de populações de plantas, à manutenção da diversidade de espécies, ao estabelecimento de grupos ecológicos e à restauração da riqueza de espécies durante a regeneração da floresta após distúrbios naturais ou antrópicos

(HARPER, 1977; ZHANG et al., 2001). Por isso, tem sido utilizado como indicador ecológico de avaliação e monitoramento da regeneração de ecossistemas em restauração (BRAGA et al., 2008).

Alguns mecanismos de proteção têm sido reportados para aquisição de tolerância à dessecação e manutenção de viabilidade das sementes durante o armazenamento, como características físicas intracelulares, dentre os quais destacam: a redução do grau de vacuolização ou diminuição em volume, deposição de reservas insolúveis (proteínas), operação eficiente de enzimas antioxidantes, presença de moléculas anfipáticas, revestimento de corpos lipídicos por proteínas, desdiferenciação intracelular, presença e operação de sistemas de reparo durante a embebição (HOEKSTRA; GOLOVINA; BUTINK, 2001).

A tolerância à dessecação está relacionada, entre outros metabolismos, com a síntese de moléculas protetoras como açúcares não redutores, proteína LEA, proteínas de choque térmico (BOUDET et al., 2006; HOEKSTRA; GOLOVINA; BUTINK, 2001) e antioxidantes como catalase, superóxido dismutase e outros (LEPRINCE et al., 2000).

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) apresenta relevância socioeconômica e ambiental, devido aos seus atributos madeireiros, medicinais, cosméticos e alimentícios. Além disso, é uma espécie tolerante a áreas inundadas, sendo assim indicada para compor áreas de preservação permanente (LORENZI, 1992). A espécie por apresentar as características citadas é explorada pela ação extrativista sem nenhum cuidado de preservação e conhecimento da espécie (SANTOS; SILVA-MANN; FERREIRA, 2011).

As sementes de *Genipa americana* L. são classificadas como intermediárias, com total perda da viabilidade após secagem a níveis inferiores a 5% de umidade e armazenamento sob temperaturas negativas (CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; MAGISTRALI et al., 2013; SALOMÃO, 2004).

O objetivo com este trabalho foi estudar o comportamento de sementes de *Genipa americana* L. em bancos de sementes induzidos e as alterações enzimáticas e síntese proteica durante a secagem.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Espécie estudada

O jenipapo (*Genipa americana* L.) (Rubiaceae) é uma árvore com altura média de vinte metros e com distribuição em toda a América tropical, sendo nativa do Brasil. É uma espécie geralmente encontrada em matas mais úmidas ou próximas a rios, mas pode ocorrer em matas de terra firme (LORENZI, 1992). Possui importância econômica, tanto pela sua madeira, quanto pela utilização de seus frutos na produção de alimentos (SILVA et al., 2009). A madeira é empregada na construção civil, marcenaria e carpintaria em geral. A casca é geralmente utilizada para tratar couro e apresenta grande quantidade de taninos. Seus frutos são comestíveis e quando estão verdes fornecem um corante utilizado em diversas finalidades (LORENZI, 1992).

Para atender a legislação, com relação à recuperação de áreas de preservação permanente e reserva legal, muitos agricultores vêm utilizando o jenipapeiro em programas de revegetação de matas ciliares (VALERI; PUERTA; CRUZ, 2003). Esta espécie apresenta ainda potencial madeireiro, e sob condições de cultivo possui boas características de crescimento, produção e adaptação ecológica, com elevada porcentagem de sobrevivência em campo (SANTOS; SOUZA; SILVA, 2012).

O jenipapo tem sido bastante estudado nos últimos anos em diversas áreas do conhecimento. São encontrados na literatura estudos sobre germinação, temperatura e desenvolvimento pós-seminal (ANDRADE et al., 2000; ANDRADE et al., 2003, 2007; QUEIROZ et al., 2012); restrição hídrica de sementes (SANTOS; SILVA-MANN; FERREIRA, 2011); valor nutricional (HAMACEK et al., 2013); relacionados a características de seu corante (RENHE et al., 2009), além de estudos direcionados à produção de mudas

(COSTA et al., 2007; SOARES et al., 2012; VIEIRA; GUSMÃO, 2006; VALERI; PUERTA; CRUZ, 2003).

Genipa americana é uma espécie que produz sementes com características de intermediária quanto à secagem e ao armazenamento, apresentando comportamento contrastante quanto à tolerância à dessecação em função do método de secagem (MAGISTRALI et al., 2013).

2.2 Comportamento fisiológico de sementes quanto à secagem e ao armazenamento

São muitos os fatores que podem afetar a qualidade inicial da semente antes do armazenamento. Entre eles, as condições de secagem podem resultar em perda de qualidade fisiológica, principalmente em espécies classificadas como recalcitrantes que são de difícil armazenagem por longos períodos de tempo (BEWLEY et al., 2013).

De acordo com a classificação de Roberts (1973), as sementes podem ser classificadas em ortodoxas e recalcitrantes. Espécies ortodoxas são aquelas que possuem grande longevidade natural de suas sementes, podendo ser armazenadas com conteúdo de água bastante baixo, em ambientes secos e temperaturas baixas. Porém as espécies que possuem sementes sensíveis à dessecação não podem ser secas a conteúdos muito baixos de umidade e não toleram armazenamento a temperaturas baixas, apresentando comportamento recalcitrante. Por outro lado, existem espécies que podem apresentar comportamento intermediário, apresentando características tanto de um como de outro grupo (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990). Na natureza, geralmente espécies que produzem sementes ortodoxas formam banco de sementes persistentes (SWAINE; WHITMORE, 1988).

A tolerância à dessecação afeta o método de armazenamento das sementes e tem impacto direto tanto na conservação em longo prazo quanto na utilização das sementes para produção de mudas. Araújo, Silva e Araújo (1994) verificaram que sementes de açai, classificadas como recalcitrantes, quando armazenadas com a umidade inicial (33%) conservam a viabilidade durante o armazenamento em curto prazo, porém, se as sementes são armazenadas em recipientes que permitem a troca de umidade com o ambiente para níveis de até 20%, as sementes perdem a viabilidade após o armazenamento por oito meses.

Quanto ao armazenamento, as sementes de *Genipa americana* são classificadas como tendo comportamento intermediário (MAGISTRALI et al. 2013) pois toleram a dessecação a baixo conteúdo de água (5%) mas não podem ser armazenadas em baixa temperatura (-20°C).

É de suma importância o conhecimento do potencial de armazenamento das espécies, principalmente espécies florestais direcionadas à implementação de reflorestamento, tendo-se em vista que o plantio na maioria das vezes é realizado no período chuvoso para minimização dos custos com irrigação (ARAÚJO et al., 2008) e que nem sempre há sincronia entre a produção de sementes e o início das atividades de produção de mudas.

Dessa forma, a utilização de espécies que possuem sementes sensíveis à dessecação é uma grande preocupação nos programas de recuperação ambiental, uma vez que o armazenamento dessas sementes por longos períodos de tempo é inviável. Davide et al. (2003) recomendam o aproveitamento imediato de sementes sensíveis à dessecação para a produção de mudas já que estas só podem ser armazenadas por períodos relativamente curtos.

Diante deste contexto, atualmente tem-se elaborado estratégias de conservação que possibilitem aumentar o tempo de armazenamento tanto em sementes que toleram dessecação quanto em sementes sensíveis. Porém para as espécies sensíveis à dessecação, a elaboração dessas estratégias tornou-se um

desafio, sendo difícil definir metodologias para o aumento da longevidade sem que ocorra perda significativa da viabilidade de sementes pertencentes a essa categoria (WESLEY-SMITH et al., 2001).

2.3 Taxas de secagem e deterioração de sementes

A partir da maturidade fisiológica, inicia-se o processo de deterioração das sementes. Esse processo é determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas que determinam a queda da qualidade das sementes e culminam com a sua morte (MARCOS FILHO, 2005). Vários são os trabalhos de pesquisa que verificam a deterioração de sementes associada às condições de armazenamento (ARAÚJO et al., 2008; FERREIRA; GENTIL, 2003).

Independentemente do ambiente de armazenamento, todas as sementes deterioram. Esse processo é determinado com o decorrer do tempo, determinando consequências significativas na percentagem, velocidade e uniformidade na emergência de plântulas. Porém, em sementes ortodoxas, a secagem a níveis baixos de umidade prolonga o armazenamento, diminuindo os processos deteriorativos, enquanto em sementes sensíveis à dessecação, a secagem afeta negativamente a longevidade e o período de armazenamento (BEWLEY et al., 2013; RADHAMANI; SINGH; SHARMA, 2003).

A velocidade de secagem em sementes pode ocorrer de diferentes maneiras. Esta pode ser controlada em condições laboratoriais (FERREIRA; GENTIL, 2003), ou não, quando em ambientes naturais. Na natureza, as sementes secam em velocidades diferenciadas devido a vários fatores, como exemplo, pode-se citar as variações ambientais como épocas de seca prolongada (NEDEVA; NIKOLOVA, 1997).

Sementes recalcitrantes e, portanto, sensíveis à dessecação não podem ter seu conteúdo de água diminuído sem que ocorram danos à sua estrutura (ROBERTS, 1973). Vários estudos em sementes recalcitrantes observam o declínio da viabilidade das sementes à medida que as sementes passam por processos de secagem (CHAITANYA; NAITHANI, 1994; LI; SUN, 1999).

Esse comportamento foi observado por Greggains et al. (2001) em sementes recalcitrantes de *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. Estas são dispersas com teor de água bastante elevado (65%) e começam a perder viabilidade com diminuição de apenas 5% do teor de água. Outros resultados relatados também verificam que altas taxas de secagem em sementes sensíveis à dessecação também afetam negativamente a porcentagem de germinação, como no caso da espécie *Inga vera*. (FARIA; VAN LAMMEREN; HILHORST, 2004).

Portanto, faz-se necessário o aprimoramento de métodos que condicionem maior armazenabilidade para sementes sensíveis à dessecação através do conhecimento científico sobre os mecanismos fisiológicos que estão relacionados a essa sensibilidade (FONSECA; FREIRE, 2003), atrelando esses mecanismos a condições ideais de armazenamento.

2.4 Alterações enzimáticas durante a secagem

A perda de água em sementes recalcitrantes desencadeia alguns processos deteriorativos, como a desnaturação de proteínas, alterações na atividade das enzimas peroxidases e danos no sistema de membranas, resultando na completa perda de sua viabilidade (NAUTIYAL; PUROHIT, 1985). Assim, a remoção da água pode acarretar injúrias físicas nos tecidos com alteração em seu metabolismo, como consequência, ocorre a perda da capacidade germinativa das sementes (PAMMENTER; BERJAK, 2000).

Resultados de Hendry et al. (1992) indicam que a perda da viabilidade decorrente da secagem resulta em aumento da peroxidação lipídica e acumulação de radicais livres.

Durante a secagem, as proteínas resistentes ao calor são de extrema importância, pois protegem as sementes contra os possíveis danos que podem ocorrer durante essa etapa (VIDIGAL et al., 2009). Tais proteínas são conhecidas como LEA (*Late embryogenesis is abundant*) e sua acumulação ocorre na fase final de maturação (BERJAK, 2006; VIDIGAL et al., 2009). Além das proteínas LEA, enzimas removedoras de produtos tóxicos também são importantes para neutralizar a atuação dos radicais livres na degradação de membranas. À medida que a deterioração evolui, ocorre a necessidade da atuação mais intensa de enzimas do complexo antioxidante. Dentre as várias enzimas destacam-se a peroxidase, superóxido dismutase (SOD) e catalase (BAILLY, 2004).

Segundo Kranner e Birtic (2005) os radicais livres são moléculas com um elétron desemparelhado que pode ser facilmente doado, tornando-o em sua maioria altamente reativo. Espécies moleculares que apresentam essa característica são denominadas de espécies reativas de oxigênio (ROS) (FINKEL; HOLBROOK, 2000).

Durante o processo de dessecação em sementes, é observada a perda de mecanismos de controle que mantém em baixas concentrações as ROS (KRANNER, 2002). Assim, o aumento das ROS nas células conduz a processos oxidativos que causam deterioração e morte nas sementes (BECKMANN; AMES, 1998).

Durante a dessecação, o aumento das ROS vai ser causado devido a desequilíbrios ocorridos no transporte de elétrons das cadeias respiratórias. Para combater a ação das ROS, as sementes apresentam um sistema antioxidante, sendo este essencial em organismos tolerantes à dessecação (KRANNER;

BIRTIC, 2005). Geralmente, parte do oxigênio utilizado na respiração pode ser convertida em superóxidos e peróxidos de hidrogênio. Dessa forma, a enzima superóxido dismutase tem a função de reagir com radicais superóxidos em peróxidos de hidrogênio e oxigênio enquanto a enzima catalase elimina o peróxido de hidrogênio transformando-o em água (BAILLY, 2004).

2.5 Estratégias de regeneração florestal

A chuva de sementes, o banco de sementes no solo e o banco de plântulas são algumas das estratégias utilizadas pela floresta para a regeneração de suas espécies (VIEIRA, 1996). O banco de sementes é formado a partir de propágulos de espécies do próprio local ou originadas de outros ambientes e este varia em quantidade de sementes por área, de acordo com as entradas, via dispersão, e as saídas após os eventos de germinação e morte de sementes (YOUNG; EWEL; BROWN, 1987). As sementes que se encontram estocadas no solo das florestas podem permanecer viáveis por muitos anos. Sementes que apresentam alta longevidade formam bancos de sementes denominados permanentes. Já aquelas que apresentam curta longevidade, formam bancos denominados transitórios (ALMEIDA-CORTEZ, 2004).

Vários são os fatores que influenciam o banco de sementes no solo, neste sentido, Santos, Budke e Muller (2012) observaram a regeneração de espécies arbóreas sob a influência de uma espécie de bambu (*Merostachys multiramea*) em uma floresta subtropical e concluíram que, após a morte dessa espécie, a estrutura de regeneração teve grande influência do banco de sementes no solo, havendo também rápido desenvolvimento das plântulas previamente estabelecidas no sistema. Assim, o estudo do comportamento de banco de sementes no solo pode dar informações importantes sobre o potencial regenerativo das sementes estocadas (WILLIAMS-LINERA, 1993). Além da

importância para o sucesso de conduções silviculturais em áreas de manejo (VENTUROLI; FELFILI; FAGG, 2007).

2.6 Banco de sementes

O banco de sementes pode ser definido como sendo o estoque de sementes viáveis que se encontram no solo, em uma área específica e em um dado momento (YOUNG; EWEL; BROWN, 1987). O estudo do banco de sementes pode fornecer informações importantes sobre a densidade de sementes, composição florística e fornecer uma indicação do potencial regenerativo das espécies com sementes estocadas nos solos (WILLIAMS-LINERA, 1993).

O banco de sementes do solo é composto pelas sementes que se encontram enterradas no solo, ou sobre a superfície misturadas à serapilheira. Segundo Garwood (1989), existem sete tipos de banco de sementes em florestas tropicais: banco de sementes transitório; banco de sementes transitório substituído pelo banco de plântulas; banco de sementes persistente; banco de sementes persistente com período de dormência estacional; banco de sementes pseudo-persistente de tamanho flutuante; banco de sementes transitório-estacional e banco de sementes transitório-atrasado.

A formação do banco de sementes está diretamente relacionado com as condições para a germinação. Sementes de espécies pioneiras (geralmente com algum grau de dormência) necessitam de luz direta para germinação e posterior crescimento da plântula, formando o banco de sementes como uma estratégia de regeneração. Porém algumas espécies de plantas com sementes sensíveis à dessecação não apresentam essa característica, podendo germinar sem a presença de luz direta e se desenvolvem sob o dossel das florestas, formando o banco de plântulas. Este comportamento corresponde ao comportamento de

espécies clímax tolerantes à sombra e elas dependem de luz direta apenas no período de reprodução (SWAINE; WHITMORE, 1988).

Segundo Pammenter e Berjak (2000), as sementes intolerantes à dessecação são típicas de espécies clímax. A regeneração dessas espécies ocorre por meio de banco de plântulas, podendo eventualmente apresentar sementes no solo da floresta (KAGEYAMA; VIANA, 1991).

A maioria dos estudos se direcionam a entender as estratégias de regeneração das espécies coletando o banco de sementes no solo para posterior germinação em casa de vegetação (WILLIAMS-LINERA, 1993). Estes estudos também podem ser utilizados para previsão de infestações futuras em áreas agrícolas, atendendo principalmente programas de gestão para uso racional de herbicidas (CHRISTOFFOLETI; CAETANO, 1998). Porém, alguns autores atualmente, estão induzindo o banco de sementes no solo para estudar suas estratégias de regeneração, manutenção e estabelecimento de plântulas (CHEIB; GARCIA, 2012; GONZÁLEZ-ZERTUCHE et al., 2001; OLIVEIRA; GARCIA, 2011; SRI-NGERNYUANG et al., 2003) podendo se fazer um acompanhamento mais preciso das variações de umidade e viabilidade das sementes estocadas no solo ao longo do tempo.

Kaesar e Kirkman (2012), em um ecossistema no sudeste dos Estados Unidos, realizaram um estudo de longo prazo enterrando em redes de náilon sementes de 12 espécies para estudar sua viabilidade após 1, 2, 4 e 8 anos. Inicialmente, foi feita uma avaliação do lote de sementes pelo teste de tetrazólio, determinando assim a qualidade das sementes levadas a campo. Houve diferença na viabilidade entre as espécies durante o experimento. Espécies leguminosas foram as que apresentaram maior viabilidade ao longo do tempo.

Sri-ngernyuang et al. (2003) estudando duas espécies de Lauraceae (*Lindera metcalfiana* e *Litsea cubeba*), ambas ortodoxas, em uma floresta montana no norte da Tailândia, verificaram comportamentos diferenciados

quanto à longevidade de sementes enterradas ao longo do tempo. A velocidade de germinação de *L. cubeba* foi mais lenta do que de *L. metcalfiana*. Ambas as espécies apresentaram os padrões de sementes de espécies pioneiras, com dormência profunda induzida após serem enterradas. Porém, esta fase dormente se encerrou dentro de um mês para *L. metcalfiana* e dentro de um ano para *L. cubeba*, apresentando assim estratégias diferenciadas de manutenção da viabilidade de suas sementes. Segundo os autores, provavelmente ambas as espécies entraram em um estado de dormência induzida, aumentando a probabilidade de sementes principalmente das sementes de *L. cubeba* serem encontradas em sítios onde ocorreram grandes distúrbios. Porém, mesmo nesta fase de dormência contínua, as sementes das duas espécies apresentaram germinação vigorosa sob condições de luz.

Os padrões de dormência observados nestas espécies pioneiras podem reduzir perda das sementes após soterramento, aumentando as chances de germinação quando expostas a ambientes abertos. Diferenças significativas ocorreram com relação à mortalidade de sementes no primeiro mês de soterramento, como foi o caso de *L. metcalfiana*, que apresentou elevada mortalidade no primeiro mês, com aumento rápido de germinação após esse período, mantendo uma taxa de sobrevivência de 65% durante os 25 meses de avaliação. Já *Litsea cubeba* não demonstrou nenhuma mortalidade de sementes durante o experimento, apresentando aumento gradual de sementes germináveis após um ano de soterramento, evidenciando a importância de entender as diferentes estratégias de regeneração utilizadas pelas espécies em seu ambiente natural (SRI-NGERNYUANG et al., 2003).

A persistência de sementes em condições experimentais é utilizada para representar o potencial que uma espécie possui para formar bancos de sementes do solo (NICHOLA; KLOET, 2005). Esses mesmos autores observaram que existem diferenças no tempo de persistência de sementes de diferentes espécies

de *Vaccinium* enterradas no solo, verificando que as regiões que apresentam maior número de espécies com sementes de grande longevidade potencial, possuem um banco de sementes de menor densidade.

A maioria das espécies características de paisagens abertas produzem sementes persistentes e os fatores climáticos apresentaram grande influência para explicar a variação na longevidade das sementes, contribuindo com cerca de 40% da variação na longevidade das sementes de espécies deste gênero (NICHOLA; KLOET, 2005).

Segundo Nichola e Kloet (2005), o clima do centro de distribuição de uma determinada espécie pode estar relacionado com a longevidade de suas sementes. O intervalo entre a faixa de temperatura anual mínima e máxima é responsável por quase metade na variação da longevidade das sementes, o que representa uma adaptação à imprevisibilidade climática. Os fatores reprodutivos também apresentaram fortes correlações com a longevidade de sementes e correlaciona-se com o *habitat*. À medida que os *habitats* ficam mais secos, existe uma diminuição na proporção de espécies que apresentam sensibilidade à dessecação. Assim, a sensibilidade à dessecação é mais comum em espécies de ambientes úmidos e a maior frequência ocorre em espécies não pioneiras (TWEDDLE et al., 2003)

Estudos de bancos de sementes induzidos podem proporcionar uma melhor compreensão das estratégias de história de vida utilizadas pelas espécies para o seu estabelecimento e permanência nos seus ecossistemas de origem. Esses estudos demonstram que espécies são capazes de formar, a curto e longo prazo, bancos de sementes persistentes, com importantes implicações para a restauração de ecossistemas florestais e recuperação de áreas degradadas. Assim, o banco de sementes representa uma confiável fonte de revegetação, podendo ser observado, ainda, nas espécies que apresentam características de tolerância a condições adversas do ambiente, como seca prolongada e fogo, propiciando

indicações mais adequadas de espécies para serem introduzidas e recomprem ambientes perturbados (KAESER; KIRKMAN, 2012).

O estudo do comportamento de germinação de sementes sensíveis à dessecação é de fundamental importância para ajudar a obter informações sobre o potencial regenerativo dessas espécies, além de ser significativo para o entendimento e a condução da regeneração em florestas que atualmente encontram-se sob diferentes formas de manejo (VENTUROLI; FELFILI; FAGG, 2007).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-CORTEZ, J. S. de. Dispersão e banco de sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F.(Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.p. 226-235.
- ANDRADE, A. C. S. de 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.
- ANDRADE, S. A. C. et al. Desidratação osmótica do jenipapo (*Genipa americana* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 2, n. 2, p. 276-281, maio/ago. 2003.
- ANDRADE, S. A. C. et al. Evaluation of water and sucrose diffusion coefficients during osmotic dehydration of jenipapo (*Genipa americana* L.). **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 78, n. 2, p. 551-555, Jan. 2007.
- ARAÚJO, E. C. de et al. Efeito da dessecação sobre a qualidade fisiológica de sementes de *Syzygium jambolanum* LAM. **Revista Ciências Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 3, p. 455-462, jul./set. 2008.
- ARAÚJO, E. F.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, R. F. Avaliação da qualidade de sementes de açaí armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 76-79, 1994.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 93-107, May 2004.
- BECKMAN, K.; AMES, B. N. The free radical theory of aging matures. **Physiological Reviews**, Baltimore, v. 78, n. 2, p. 547-581, Apr.1998.
- BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 16, n. 1, p. 1-15, Mar. 2006.
- BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2013. 376 p.

BOUDET, J. et al. Comparative analysis of the heat stable proteome of radicles of *Medicago truncatula* seeds during germination identifies late embryogenesis abundant proteins associated with desiccation tolerance. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 140, n. 4, p. 1418-1436, Apr. 2006.

BRAGA, A. J. T. et al. Composição do banco de sementes de uma floresta semidecidual secundária considerando o seu potencial de uso para recuperação ambiental. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 32, n. 6, p. 1089-1098, nov./dez. 2008.

BUITINK, J. et al. Transcriptome profiling uncovers metabolic and regulatory processes occurring during the transition from desiccation sensitive to desiccation-tolerant stages in *Medicago truncatula* seeds. **The Plant Journal**, Oxford, v. 47, n. 5, p. 735-750, Sept. 2006.

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**, Jabotical, v. 22, n. 1, p. 53-56, abr. 2000.

CHAITANYA, K. S. K.; NAITHANI, S. C. Role of superoxide, lipid peroxidation and superoxide dismutase in membrane perturbation during loss of viability in seeds of *Shorea robusta* Gaertn. f. **New Phytologist**, Cambridge, v. 126, n. 4, p. 623-627, Apr. 1994.

CHEIB, A. L.; GARCIA, Q. S. Longevity and germination ecology of seeds of endemic Cactaceae species from high-altitude sites in south-eastern Brazil. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 22, n. 1, p. 45-53, Mar. 2012.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; CAETANO, R. S. X. Soil seed banks. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 74-78, 1998.

COSTA, M. C. da et al. Substrato para produção de mudas de jenipapo (*Genipa americana* L.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 1, p. 19-24, jan. 2007.

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.

ELLIS, R. H.; HONG, B.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 9, p. 1167-1174, Sept. 1990.

FARIA, J. M.; VAN LAMMEREN, A. A. M.; HILHORST, H. W. M. Desiccation sensitivity and cell cycle aspects in seeds of *Inga vera* subsp. *Affinis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v.14, n. 2, p. 165-178, May 2004.

FERREIRA, S. A. do N.; GENTIL, D. F. de. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jabotical, v. 25, n. 3, p. 440-442, dez. 2003.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature Insight Review Articles**, London, v. 408, n. 6809, p. 239-247, Nov. 2000.

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

GARWOOD, N. C. Tropical soil seed banks: a review. In: LECK, M.; PARKER, V.; SIMPSON, R. (Ed.). **Ecology of soil seed banks**. San Diego: Academic Press, 1989. chap. 9, p.149-209.

GONZÁLEZ-ZERTUCHE, L. et al. Natural priming of *Wigandia* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 1, p. 27-34, Mar.2001.

GREGGAINS, P. et al. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 235-242, Sept. 2001.

HAMACEK, F. R. et al. Valor nutricional, caracterização física e físico-química de jenipapo (*Genipa americana* L.) do cerrado de minas gerais. **Brazilian Journal of Food Nutrition**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 73-77, jan./mar. 2013.

HARPER, J. L. **Population biology of plants**. San Diego: Academic Press, 1977. 892 p.

HENDRY, G. A. F. et al. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. **New Phytologist**, Cambridge, v. 122, n. 2, p. 273-279, Oct. 1992.

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, Sept. 2001.

KAESER, M. J.; KIRKMAN, L. K. Seed longevity of 12 native herbaceous species in a fire-maintained pine savanna after 8 years of burial. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 281, p. 68-74, Oct. 2012.

KAGEYAMA, P. Y.; VIANA, V. M. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p. 197-215.

KRANNER, I.; BIRTIC, S. A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance. **Integrative and Comparative Biology**, McLean, v. 45, n. 5, p. 734-740, Nov. 2005.

KRANNER, I. Glutathione status correlates with different degrees of desiccation tolerance in three lichens. **New Phytologist**, Cambridge, v. 154, n. 2, p. 451-460, May 2002.

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.

LI, C.; SUN, W. Q. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 209-217, Mar. 1999.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368 p.

MAGISTRALI, P. R. et al. Physiological behavior of *Genipa Americana* L. seeds regarding the capacity for desiccation and storage tolerance. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 495-500, 2013.

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

NAUTIYAL, A. R.; PUROHIT, A. N. Seed viability in sal: II. physiological and biochemical aspects of ageing in seeds of *Shorea robusta*. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 13, n. 1, p. 69-76, 1985.

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

NICHOLASM.H.; KLOET, S. P. V. Longevity of experimentally buried seed in *Vaccinium*: relationship to climate, reproductive factors and natural seed banks. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 93, n. 6, p. 1167-1176, Dec.2005.

OLIVEIRA, P. G.; GARCIA, Q. S. Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in campos rupestres vegetation in south-eastern Brazil. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 21, n. 1, p.39-45, Mar.2011.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Evolution ary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 301-306, Sept.2000.

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.

RADHAMANI, J.; SINGH, A. K.; SHARMA, A. Exploring conventional seed storage in some tropical species. In: SMITH, R. D. et al. (Ed.). **Seed conservation: turning science into practice**. London: The Royal Botanic Gardens, 2003. chap. 39, p. 775-784.

RENHE, I. R. T. et al. Obtenção de corante natural azul extraído de frutos de jenipapo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 6, p. 649-652, jun. 2009.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 3, p. 499-514, 1973.

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. dos; 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, P. de A.; SOUZA, D. R. de; SILVA, S. A. Crescimento do jenipapeiro (*Genipa americana* L.) para produção madeireira sob diferentes espaçamentos. **Magistra**, Cruz das Almas, v.24, n.4, p.380-383, out./ dez.2012.

SANTOS, S. C.; BUDKE, J. C.; MULLER, A. Regeneração de espécies arbóreas sob a influência de *Merostachys multiramea* Hack. (Poaceae) em uma floresta subtropical. **Acta Botanica Brasílica**, Feira de Santana, v. 26, n. 1, p. 218-229, jan./mar.2012.

SILVA, A. V. C. da et al. **Caracterização físico-química de jenipapo**. Aracaju: EMBRAPA, 2009. 4 p.(EMBRAPA. Comunicado técnico, 99).

SOARES, A. C. et al. Fungos micorrízicos arbusculares no crescimento e nutrição de mudas de jenipapeiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 43, n. 1, p. 47-54, jan./mar. 2012.

SRI-NGERNYUANG, K. et al. Survival and germination of an experimental seed bank population of two species of Lauraceae in a tropical montane forest in Thailand. **Journal of Forest Research**, Tokyo, v. 8, n. 4, p. 311-316, Nov.2003.

SWAINE, M. D.; WHITMORE, T. C. On the definition of ecological species groups in tropical rainforests. **Vegetation**, Dordrecht, v. 75, n. 1/2, p. 81-86, May1988.

TWEDDLE, J. C. et al. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 91, n. 2, p. 291-304, Apr.2003.

VALERI, S. V.; PUERTA, R.; CRUZ, M. C. P. da. Efeitos do fósforo do solo no desenvolvimento inicial de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 69- 67, dez. 2003.

VENTUROLI, F.; FELFILI, J.; FAGG, C. W. Dinâmica de regeneração natural em capoeira de floresta estacional semidecidual sob manejo florestal de baixo impacto. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 435-437, jul. 2007. Suplemento 1.

VIDIGAL, D. S. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, v. 37, p. 129-136, 2009.

VIEIRA, F. A.; GUSMÃO, E. Efeitos de giberelinas, fungicidas e do armazenamento na germinação de sementes *Genipa americana* L.(RUBIACEAE). **Cerne**, Lavras, v.12, n. 2,p. 137-144, abr./jun.2006.

VIEIRA, I. C. G. **Forest succession after shifting cultivation eastern Amazonia**. 1996. 205 f. Thesis (Doctor of Philosophy) –University of Stirling, Stirling, 1996.

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

WILLIAMS-LINERA, G. Soil seed banks in four lower montane forests of Mexico. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 9, n. 3, p. 321-337, Aug.1993.

YOUNG,K. R.;EWEL,J. J.;BROWN,B. J. Seed dynamics during forest succession in Costa Rica. **Vegetation**, Dordrecht, v. 71, n. 3,p. 157-173, Aug.1987.

ZHANG, Z. Q. et al. Soil seed banks as an input of seed source in revegetation of lead/zinc mine tailings. **Restoration Ecology**, Washington, v. 9, n. 4, p. 378-385, Dec. 2001.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

**ARTIGO 1 Comportamento de sementes sensíveis à dessecação em
banco de sementes induzidos**

FRANCESCA SALLA*

**ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM A NBR 6022(ABNT, 2003),
conforme orientação do Manual de Normalização da UFPA.**

* Engenheira Florestal pela Universidade Federal do Acre.

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o comportamento de sementes de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em bancos de sementes induzidos. A pesquisa foi realizada no município de Lavras-MG em áreas experimentais da Universidade Federal de Lavras. Sementes coletadas na região de Lavras foram beneficiadas e caracterizadas fisiologicamente (conteúdo de água, viabilidade e tolerância à dessecação). Foram instalados no sub-bosque de uma floresta estacional semidecídua em duas áreas distintas (topo de morro e mata ciliar) um banco de sementes induzido. As sementes foram acondicionadas em redes de náilon e cobertas com camada de serapilheira previamente removida para instalação das redes. Foi realizada avaliação mensal da germinação, emergência das plântulas, conteúdo de água das sementes e do solo e a caracterização do crescimento inicial das plântulas. Foi observado que sementes de *Genipa americana* formam banco de sementes transitório, com manutenção de sua viabilidade somente até o quarto mês após dispostas em ambiente natural. De modo geral, o banco de sementes na área de mata ciliar foi o que apresentou melhores condições para o estabelecimento de plântulas em ambiente natural o que está de acordo com as características ecológicas dessa espécie.

Palavras-chave: *Genipa americana*. Banco de sementes. Germinação.

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre a ecologia da germinação e o crescimento de plântulas em ambiente natural, é imprescindível por duas razões: primeiramente para a compreensão dos processos comunitários de recrutamento e de sucessão, e também para o desenvolvimento de estratégias de conservação da biodiversidade (KHURANA; SINGH, 2001). Ademais, sua importância também direciona-se às espécies que apresentam problemas no armazenamento de suas sementes, como é o caso de sementes sensíveis à dessecação. Assim, a importância de estudar o banco de sementes de espécies que apresentam baixa longevidade natural pode nos fornecer informações de como essas espécies se comportam na natureza e como proceder em suas estratégias de conservação *in situ*.

As sementes que apresentam baixa longevidade não formam bancos de sementes ou formam bancos de sementes transitórios. Contudo, aquelas que apresentam maior longevidade podem formar banco de sementes persistentes (ALMEIDA-CORTEZ, 2004). A maioria dos estudos sobre a indução de banco de sementes utiliza espécies que apresentam maior longevidade, identificando geralmente os padrões de bancos persistentes, sendo pouco estudado o comportamento das sementes sensíveis à dessecação que formam bancos transitórios. Entretanto, verifica-se que em locais que apresentam clima estacional, algumas espécies que possuem sementes sensíveis à dessecação dispersam as sementes em períodos não favoráveis à germinação e ao desenvolvimento das plântulas. Isto sugere que as mesmas sejam capazes de se manter viáveis por algum tempo antes que ocorra a germinação.

A espécie jenipapo (*Genipa americana* L.) (Rubiaceae) apresenta potencial para a recuperação de matas ciliares, e possui potencial econômico

devido também à sua utilização na produção de alimentos e corante (VALERI; PUERTA; CRUZ, 2003).

As sementes de jenipapo não podem ser secas a níveis muito baixos de água para seu armazenamento, sendo consideradas intolerantes à dessecação. A sensibilidade à dessecação de sementes de algumas espécies impede a conservação *ex situ* por meio de banco de sementes.

Para estudos de bancos de sementes, as pesquisas se direcionam ao entendimento das estratégias de regeneração das espécies, coletando-se o banco de sementes no solo para posterior germinação em casa de vegetação (SANTOS; BUDKE; MULLER, 2012; WILLIAMS-LINERA, 1993). Porém, induzir banco de sementes no solo favorece o estudo das suas estratégias de regeneração, manutenção e estabelecimento de plântulas (CHEIB; GARCIA, 2012; GONZÁLEZ-ZERTUCHE et al., 2001; OLIVEIRA; GARCIA, 2011; SRINGERNYUANG et al., 2003), visto que permite um acompanhamento mais preciso das variações de umidade, viabilidade e longevidade das sementes estocadas no solo ao longo do tempo.

O conhecimento das estratégias das espécies florestais para o seu estabelecimento é de fundamental importância para o planejamento de ações de recuperação e determinação de estratégias de conservação e preservação. Assim, o estudo do comportamento de sementes sensíveis à dessecação, em bancos de sementes induzidos, contribui para obter informações sobre o potencial regenerativo dessas espécies. Além de significativo para entendimento e condução da regeneração em florestas sob o regime de algum tipo de manejo (VENTUROLI; FELFILI; FAGG, 2007).

Diante deste contexto, o objetivo desta pesquisa foi estudar o comportamento de sementes de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) em banco de sementes induzidos em dois ambientes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

O presente estudo foi conduzido no município de Lavras-MG, em áreas experimentais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório de Semente Florestais (LSF) do Departamento de Ciências Florestais desta Universidade.

O Campus da UFLA conta com alguns fragmentos florestais localizados em gradientes topográficos. Assim, foi escolhida uma área situada em topografia mais elevada (topo de morro), com as seguintes coordenadas geográficas: 21°13.690' S 44°58.223' W e altitude de 912 metros e outra localizada em uma área de baixada caracterizada como mata ciliar (área com influência do lençol freático e do curso d'água), nas coordenadas: 21°13.836' S 44°58.793' W e altitude de 892 metros, para indução dos bancos de sementes no solo (Figura 1).



Figura 1 Localização das unidades experimentais (Mata de topo de morro e Mata ciliar no campus da Universidade Federal de Lavras) no município de Lavras – MG

2.2 Seleção de Matrizes

As matrizes de jenipapo foram identificadas em fragmentos localizados dentro do campus da Universidade Federal de Lavras. No total, foram selecionadas sete matrizes, estas foram visitadas periodicamente para determinação do ponto de maturidade para coleta dos frutos. Os frutos de jenipapo foram coletados no mês de maio e junho de 2013, durante a estação seca.

2.3 Coleta e beneficiamento das sementes

Diariamente, os frutos de jenipapo foram coletados no chão, manualmente, logo após sua queda natural. Estes foram levados para o Viveiro Florestal da Universidade Federal de Lavras e despulpados manualmente com a finalidade de retirada das sementes dos frutos. Devido à presença de mucilagem nas sementes, estas foram lavadas em peneira de malha fina, adicionando-se areia à massa de sementes, de forma que apenas parte da mucilagem fosse retirada. As sementes passaram por uma secagem, em laboratório, para eliminar a umidade superficial adquirida durante o beneficiamento.

Após a coleta, beneficiamento e secagem superficial, as sementes foram armazenadas em câmara fria ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$ e UR60%) em embalagem semipermeável por no máximo sete dias.

2.4 Caracterização inicial do lote de sementes

Após a coleta e beneficiamento, foi determinado o conteúdo de água das sementes e realizado um teste de germinação no Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras.

Para determinar o conteúdo de água das sementes, foram utilizadas quatro repetições de cinco sementes. Estas foram colocadas em recipientes de alumínio e pesadas em balança de precisão para a determinação do peso úmido. Em seguida foram levadas à estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas para determinação do peso seco. Para a determinação do conteúdo de água, foi utilizada a fórmula da determinação da umidade em base úmida:

$$\text{Umidade} = \frac{\text{Peso úmido} - \text{Peso seco}}{\text{Peso úmido}} \times 100$$

O teste de germinação das sementes de jenipapo foi realizado em placa de Petri de 8mm de diâmetro contendo duas folhas de papel filtro como substrato, umedecido com água destilada (volume correspondente a 2,5 vezes o peso do papel), utilizando-se quatro repetições de 25 sementes. O experimento foi conduzido em câmara de germinação a 25°C com luz constante e as avaliações ocorreram diariamente. Foi utilizado como critério de germinação a protrusão da radícula ($\geq 2,0\text{mm}$).

2.5 Curva de secagem

Para a caracterização da tolerância à dessecação do lote, as sementes foram submetidas à secagem em diferentes conteúdos de água (30, 20, 15, 10 e 5%). A secagem foi realizada em recipientes hermeticamente fechados, contendo solução de cloreto de sódio para controle da umidade relativa do ar. A solução salina (NaCl) foi colocada no fundo do recipiente e as sementes colocadas acima da solução e protegidas do contato direto por uma tela. Quando não foi mais possível a diminuição do conteúdo de água nos recipientes contendo cloreto de sódio, as amostras foram transferidas para recipientes

contendo sílica gel. Para estimar o conteúdo de água das sementes durante a secagem, foi utilizada a fórmula proposta por Hong e Ellis (1996):

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

Em que:

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).

As amostras foram pesadas até que o conteúdo de água desejado fosse alcançado nos pontos de interesse (30, 20, 15, 10 e 5%). Em seguida, foi realizado um teste de umidade, pelo método da estufa, e germinação para avaliação da viabilidade.

2.6 Banco de sementes induzido

Após a caracterização do lote de sementes, foi instalado no sub-bosque de uma floresta estacional semidecídua em duas áreas distintas (topo de morro S 21°13.690' W 44°58.223' e mata ciliar S 21°13.836' W 44°58.793) um banco de sementes induzido (Figura 2). Para isto, as sementes foram acondicionadas em redes de náilon em quatro repetições contendo 200 (duzentas) sementes cada. As sementes foram distribuídas uniformemente nas redes sobre o solo, e, posteriormente, cobertas com camada de serapilheira que foi previamente removida para instalação das redes.

Para avaliação mensal da germinação foi feita a contagem da emergência das plântulas sem a movimentação da camada de serrapilheira. Foram contabilizadas como germinadas as plântulas emergidas da cobertura vegetal e verificada a mortalidade daquelas plântulas emergidas ao longo do tempo.

Também foram colocadas no campo, 18 amostras contendo 250 sementes cada. As sementes foram alocadas de forma homogênea, dentro de redes de náilon e cobertas por aproximadamente 3 cm de serrapilheira. Cada amostra foi individualizada para retirada mensal em cada ambiente de uma quantidade conhecida de sementes. Estas foram levadas para o LSF/UFLA para determinação do conteúdo de água, contagem do número de sementes germinadas (protrusão radicular), sementes viáveis (não germinadas) e mortas.

Para a determinação da viabilidade, foi utilizado o teste do tetrazólio. Para isso, as sementes quando não caracterizadas como germinadas ou mortas (podres ou predadas) foram submetidas à retirada dos embriões e estes colocados em recipientes protegidos da luz em solução de 1% de tetrazólio durante 24 horas em câmara B.O.D. a 20°C. Quando apresentavam os embriões com 75 a 100% de coloração vermelha, foram considerados como viáveis.

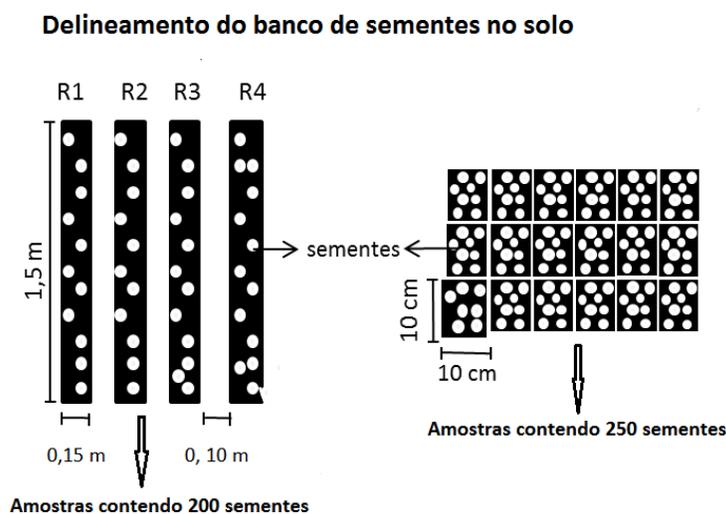


Figura 2 Delineamento experimental do banco de sementes induzido no solo, disposição amostral e números de sementes por amostras

No momento da retirada das sementes para análises no laboratório, amostras de solo também foram retiradas aleatoriamente nas duas áreas para determinação da variação mensal da umidade do solo. Para isso, quatro amostras do solo localizado no entorno do experimento foram coletadas, acondicionadas em saco plástico e levadas para o Laboratório de Sementes Florestais. A determinação da umidade foi realizada em estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas de acordo com a metodologia proposta pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA (1997).

2.7 Análises estatísticas

Todos os experimentos foram montados em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Para as análises de umidade do solo e conteúdo de água das sementes, foi utilizado um esquema fatorial. A umidade do solo foi analisada em esquema

fatorial 2 x 13 no qual dois equivale a dois ambientes e treze equivale aos períodos de avaliação. Para análise da variação do conteúdo de água das sementes ao longo do tempo, foi utilizado um fatorial 2 x 5 (dois ambientes e períodos de avaliação). Os dados de umidade do solo e da semente foram submetidos ao teste de variância pelo teste F a 5% de probabilidade.

Para os demais dados foi realizada análise descritiva do comportamento das sementes ao longo do tempo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de *Genipa americana*, logo após a coleta, apresentaram conteúdo de água de 56% e uma germinação de 94%, com germinação iniciando em 10 dias e encerrando após 16 dias. De acordo com o estudo realizado por Andrade et al. (2000), foram encontrados os mesmos níveis de umidade em sementes recém-colhidas, porém, a germinação nesse estudo foi mais baixa (88%).

A secagem proporcionou a redução do conteúdo de água para 30 e 20%, com pouco efeito na germinação (Figura 3), entretanto, quando o conteúdo de água foi reduzido para 15, 10 e 5% a viabilidade foi reduzida para 58%, 41% e 1%, respectivamente.

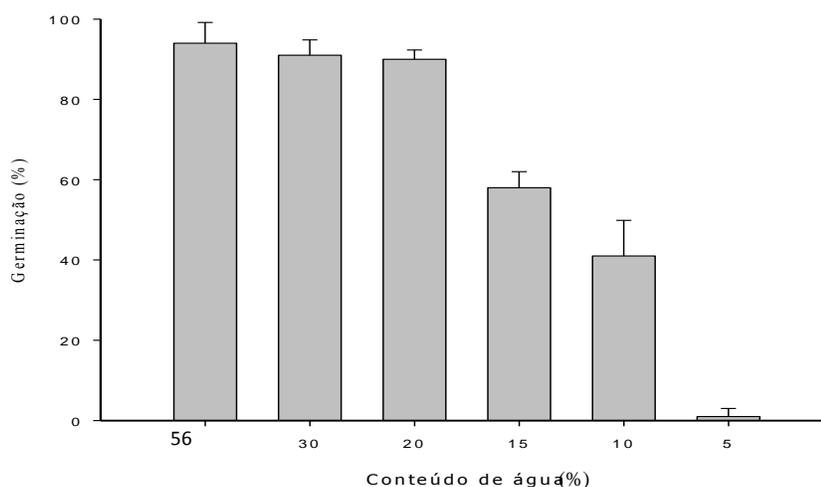


Figura 3 Efeito da secagem na germinação de sementes de *Genipa americana*

Vários autores estudando sementes de *G. americana* verificaram porcentagens diferentes de umidade em sementes frescas (CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; OLIVEIRA et al., 2011; PRADO NETO et al., 2007;

QUEIROZ, 2009; SALOMÃO, 2004) com elevada porcentagem de germinação (em torno de 90%). Os resultados encontrados neste estudo são semelhantes ao de Oliveira et al. (2011), apresentando tolerância à dessecação em sementes secas próximas a 15% de umidade. Porém, são contrastantes aos trabalhos de Carvalho e Nascimento (2000), Magistrali et al. (2013), Salomão (2004), que observam que essas sementes iniciam a perda da tolerância à dessecação com teor de água abaixo de 10% de umidade. Abaixo deste ponto, a germinação é reduzida para 50%, sendo determinado o teor de água crítico de sementes desta espécie.

Segundo Yu et al. (2008) o desempenho germinativo durante a secagem de sementes de espécies sensíveis à dessecação varia consideravelmente. Contudo, os resultados desta pesquisa confirmam que sementes de *G. americana* apresentam comportamento intermediário, verificado por alguns autores (MAGISTRALI et al., 2013; SALOMÃO, 2004).

Verificou-se neste estudo que durante o período avaliado (julho/2013 a julho/2014) a temperatura máxima ocorrida foi de 31,5°C. A temperatura mínima foi de 11,9°C, ocorrendo no mês de agosto de 2013. A menor precipitação observada entre os períodos avaliados foi no mês de agosto de 2013, com apenas 1,9mm. Enquanto a maior precipitação mensal verificada foi correspondente ao mês de janeiro de 2014, com 249mm (Figura 4).

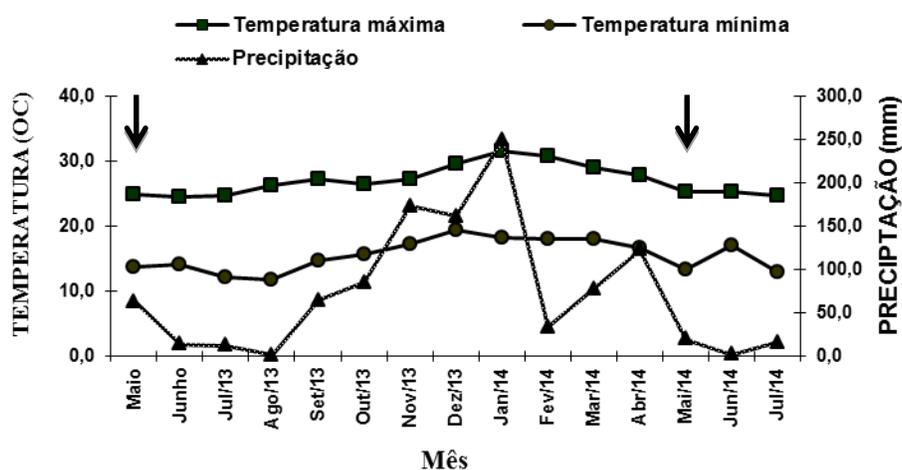


Figura 4 Variações climatológicas mensais (temperatura máxima, mínima e precipitação) no período de desenvolvimento do experimento. A seta indica o momento da dispersão das sementes de *Genipa americana*

Os valores de precipitação, com exceção para o mês de fevereiro, estão de acordo com os observados por Beijo, Muniz e Castro (2005), que estudando dados de precipitação do município de Lavras/MG, verificaram que 81% das precipitações máximas no município ocorrem nos meses de novembro, dezembro, janeiro e fevereiro.

A variação da umidade do solo nos dois ambientes, de maneira geral, pode ser explicada pela variação pluviométrica registrada para o período. Observando-se aumento na umidade nos meses com maior precipitação e diminuição à medida que os índices pluviométricos foram mais baixos. Neste contexto, verificou-se diferenças altamente significativas para a umidade do solo entre os ambientes estudados nos diferentes meses avaliados (Tabela 1 – ANEXO A).

A umidade do solo no ambiente de topo de morro apresentou valores ligeiramente superiores quando comparados aos do solo da mata ciliar (Figura

5). A umidade do solo verificada no mês de julho foi de 26% em ambos os ambientes, com diminuição no mês de agosto, comportando-se de forma similar quando comparado aos índices pluviométricos do mesmo período.

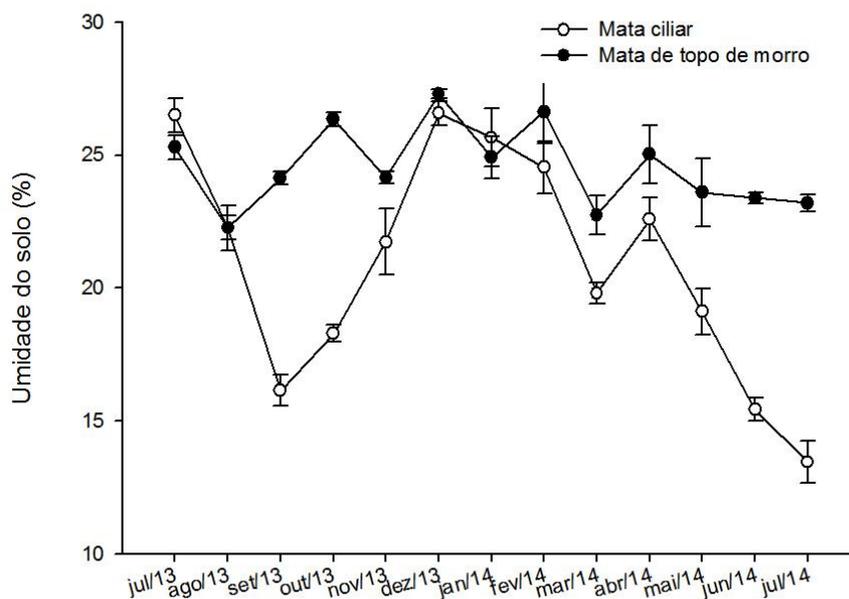


Figura 5 Variação da umidade do solo nos ambientes várzea e topo de morro no período de julho de 2013 a julho de 2014. As barras representam o desvio padrão

Entre os ambientes estudados, os meses mais contrastantes com relação à umidade do solo foram: setembro e outubro de 2013 e julho de 2014, com 8% de diferenças entre as umidades em outubro e novembro e em torno de 10% de umidade em julho.

Verifica-se ao longo dos meses, nos dois ambientes estudados, uma variação da umidade do solo proporcionada pelo aumento ou redução dos

valores de precipitação registrados para cada mês. As unidades do solo apresentaram menor variação na mata de topo de morro em comparação com a mata ciliar ao longo do ano.

Foram encontradas diferenças significativas nos dados para o conteúdo de água das sementes ($p < 0,0008$) que foram dispostas abaixo da camada de serrapilheira no ambiente de mata ciliar e topo de morro ao longo dos períodos avaliados (Tabela 2 – ANEXO A).

Em ambos os ambientes as sementes foram colocadas no solo, no momento da indução do banco de sementes, com conteúdo de água de 56%. Após a indução do banco de sementes, o conteúdo de água variou durante os períodos avaliados, sendo que as amostras colocadas na mata ciliar apresentaram ao longo do tempo, conteúdo de água superior quando comparadas as que foram alocadas na floresta de topo de morro (Figura 6). Entre os meses de julho e agosto, houve redução na umidade das sementes dispostas na mata ciliar. Porém, esta redução foi de apenas 10%. Já a umidade das sementes alocadas no topo de morro apresentaram uma redução mais pronunciada (29%) para o mesmo período, entretanto, em nenhum desses locais o conteúdo de água da semente ficou abaixo do valor crítico, visto que somente abaixo de 20% (figura 3) foram observados efeitos negativos da secagem sobre as sementes.

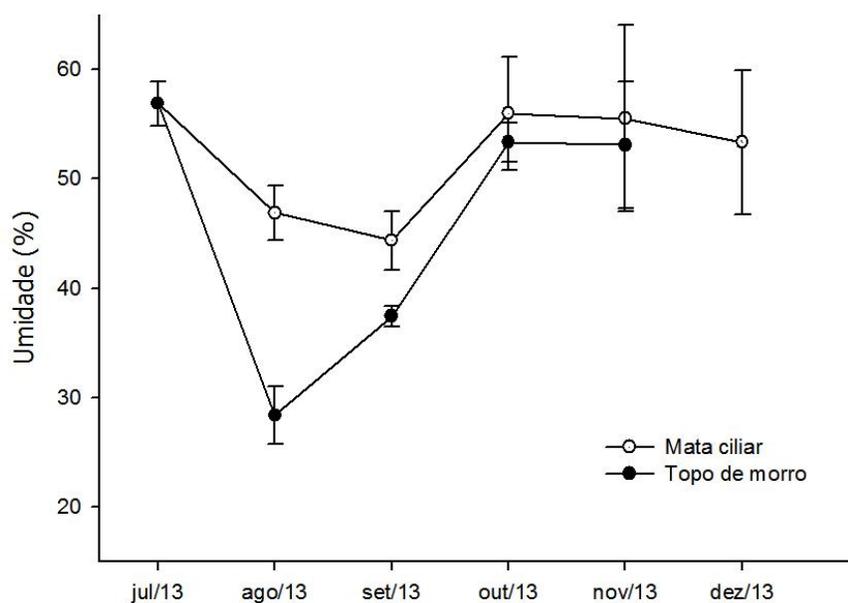


Figura 6 Variação da umidade das sementes nos ambientes Mata de topo de morro e Mata ciliar no período de julho a dezembro de 2013

A absorção de água pelas sementes é um passo inicial e essencial para que ocorra a germinação. Vários fatores interferem nessa absorção. Em ambiente natural, particularmente importantes, são as relações hídricas da semente e do solo. O movimento da água ocorre sempre através de um gradiente de energia, da região de maior para de menor potencial. Sementes secas apresentam um potencial hídrico muito baixo (-50 a -350 Mpa). Em contrapartida, solos próximos à capacidade de campo, drenados apenas devido à ação da gravidade, possuem potencial hídrico de aproximadamente -0,03 Mpa. Assim, o potencial hídrico de um solo úmido possui, em comparação a sementes secas, um gradiente de potencial hídrico de até cinco ordens de grandeza. À medida que as sementes absorvem água, seu potencial hídrico se eleva e o potencial hídrico do

solo diminui à medida que a água é retirada. Vale salientar também que a disponibilidade continuada de água para a semente depende das zonas do solo imediatamente em contato com elas (BEWLEY et al., 2013).

Assim, fazendo uma correlação com o estudo em questão, podemos verificar que no mês de julho (data de início do experimento), tanto a umidade do solo da mata ciliar quanto da mata de topo de morro apresentaram valores semelhantes, de aproximadamente 26%. As sementes enterradas nesses dois ambientes também apresentaram conteúdo de água semelhantes nesse período. No mês seguinte, em ambos os ambientes, houve redução da umidade do solo decorrente das baixas precipitações ocorridas neste mês e a consequente diminuição da umidade das sementes. Neste contexto, se o solo está com pouca umidade, as sementes tendem consequentemente também a ter redução em sua umidade.

Independente do ambiente em que as sementes de *Genipa americana* foram dispostas, verificou-se que a sua viabilidade se manteve somente até o quarto mês de avaliação (novembro). Verificando-se redução da viabilidade das sementes ao longo do período estudado. A viabilidade das sementes, nos ambientes estudados, evidenciou tendência de redução ao longo dos períodos avaliados. Foi observado no mês de agosto redução de 31% na viabilidade das sementes, tanto na mata ciliar, quanto no topo de morro, sendo o número de sementes viáveis similar.

Ao longo de todos os meses, a partir de agosto, a floresta de topo de morro apresentou as maiores porcentagens de sementes viáveis quando comparada às sementes alocadas na área de mata ciliar. No mês de setembro, na floresta de topo de morro, a viabilidade das sementes foi cerca de 60% e em outubro teve redução para 30%. Enquanto que na mata ciliar a porcentagem de sementes viáveis em setembro foi de 26% com redução no mês de outubro para 20% (Figura 7).

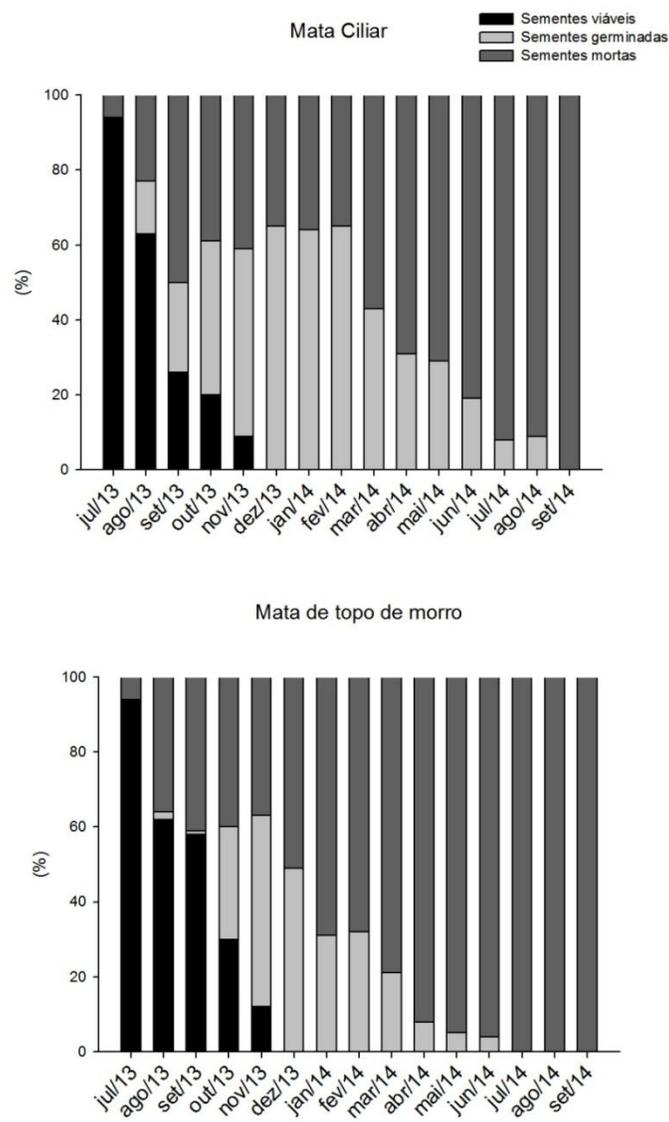


Figura 7 Viabilidade de sementes de *Genipa americana* em bancos de sementes induzidos em duas áreas (Mata ciliar e Mata de topo de morro) entre os meses de julho e dezembro de 2013)

Verifica-se que após um mês da indução do banco de sementes (agosto/2013) houve germinação das sementes, porém em baixas porcentagens. Observou-se uma tendência de aumento da germinação compreendida entre os períodos de agosto a dezembro de 2013 em ambos os ambientes. Período em ocorre aumento das precipitações na região. No entanto, nos meses posteriores de avaliação (dezembro/2013 a agosto/2014), no topo de morro houve redução acentuada na porcentagem de sementes germinadas, enquanto na mata ciliar a germinação permaneceu constante até o período de fevereiro de 2014 com posterior redução (Figura 7).

Com exceção apenas do mês de novembro de 2013, que apresentou a mesma porcentagem de sementes germinadas em ambos os ambientes, verificou-se maior porcentagem de sementes germinadas na mata ciliar quando comparadas com o topo de morro. Foram observadas na mata de topo de morro amostras contendo sementes germinadas até junho de 2014, enquanto na mata ciliar as sementes germinadas foram observadas até agosto de 2014.

Nos primeiros meses de avaliação, o número de sementes germinadas na mata de topo de morro respondeu de forma diferenciada quando comparada às sementes da mata ciliar, o qual foi observado apenas 2,6% de germinação em agosto e 1,4% no mês de setembro. Enquanto que na mata ciliar estes valores foram 14% em agosto e 24% em setembro.

No mês de setembro de 2013, na mata ciliar a porcentagem de sementes viáveis e germinadas é de aproximadamente 50%, enquanto os valores em outubro são em torno de 60%. Teoricamente os valores no mês de outubro deveriam ser iguais ou menores aos encontrados em setembro, porém, as amostras de cada mês são individuais, apresentando o mês de setembro um alto desvio padrão nas amostras. Isso pode ter ocorrido devido às condições do local em que essa amostra estava disposta, proporcionando maior mortalidade, além da possibilidade de alta predação da amostra em questão.

A germinação, em ambos os ambientes, ocorreu logo após as sementes estarem dispostas em ambiente natural. Isso pode ter sido provocado pela umidade inicial em que as sementes foram levadas a campo, em torno de 56% e pela alta umidade do solo (acima de 20%). Bewley ET al. (2013) afirmam que sementes frescas com teores de água em torno de 40% apresentam aumento da respiração e já começam a sintetizar proteínas e ácidos nucleicos, importantes no processo de germinação, e teores de água acima de 50% já são capazes de promover divisão celular, germinação e crescimento. Assim, provavelmente, as sementes que foram dispostas no campo já estavam suficientemente hidratadas para iniciarem o processo germinativo.

As diferenças verificadas no percentual de sementes viáveis e germinadas ao longo do tempo nas duas áreas estudadas podem ter sido determinadas por causa das diferenças micro ambientais existentes. Segundo Fenner e Thompson (2005), as condições microambientais podem variar significativamente de um ponto para outro dentro de um mesmo ambiente florestal, diferenciando-se quanto a variações de iluminação, umidade e temperatura. Yu et al. (2008) verificam que em ambientes de clareira e de sub-bosque as variações de luz interferem no comportamento germinativo de sementes de algumas espécies, enquanto em outras a diferença de luz nos ambientes não interferiu sobre a germinação.

Sri-ngernyuang et al. (2003) também verificaram que a germinação das sementes em seus estudos foi provavelmente desencadeada por sinais ambientais associados a ambientes abertos, sendo os principais sinais relacionados a condições de luz e, ou, temperaturas elevadas e variadas. Esses estudos indicam a importância de se verificar as condições micro ambientais dos locais de estudos em ambientes naturais, por apresentarem variações importantes que determinam respostas diferentes na viabilidade, germinabilidade e mortalidade em sementes.

No geral as sementes de *Genipa americana* apresentaram baixa variação na porcentagem de mortalidade nos primeiros meses avaliados (agosto a novembro de 2013), independente dos ambientes estudados. Porém, foi evidenciado aumento de 59% na mortalidade das plântulas nos meses posteriores (dezembro de 2013 a junho de 2014) para o ambiente topo de morro. Enquanto que no ambiente de mata ciliar a variação na mortalidade de sementes continuou baixa, mantendo-se até o mês de fevereiro de 2013, com aumento nos meses posteriores (figura 7).

Em setembro de 2013, houve uma mortalidade acentuada na mata ciliar, em torno de 50%. Porém, houve redução no mês posterior (39%), mantendo-se com pouca variação nos quatro meses seguintes com mortalidade em torno de 37%. A partir de março de 2014, é observado o aumento da mortalidade da mesma forma que as amostras das sementes localizadas no topo de morro.

A germinação do banco de sementes induzido, nos ambientes de mata ciliar e topo de morro, teve início logo após a indução do banco, entretanto, apresentou concentração próximo aos 114 dias após início do experimento. Yu et al. (2008) verificando em banco de sementes de seis espécies plantadas em clareiras e sub-bosque de florestas observaram uma alta variação no padrão de germinação entre as espécies, variando de cinco dias para *Pometia tomentosa* a 207 dias para *Litsea pierrei*.

Na mata de topo de morro, a emergência (emergência do hipocótilo com os cotilédones ainda dentro do tegumento das sementes) ocorreu ao longo de cinco meses, enquanto que na mata ciliar, a emergência das sementes ocorreu ao longo de sete meses (Figura 8).

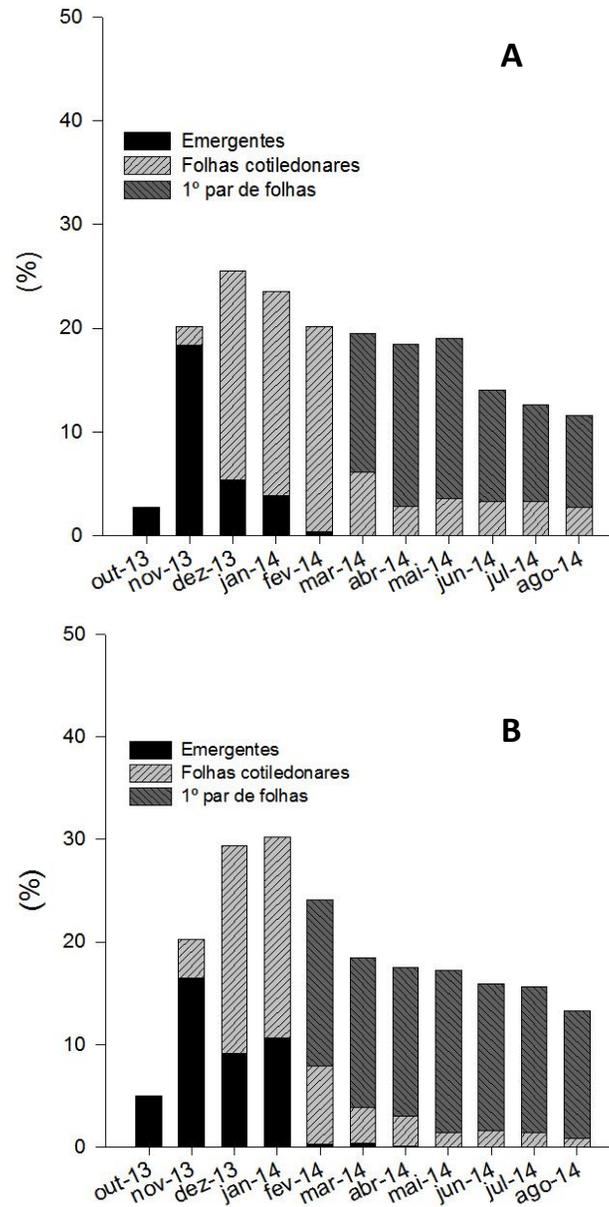


Figura 8 Emergência e estabelecimento de plântulas em dois ambientes florestais distintos, topo de morro (A), mata ciliar (B) de uma floresta estacional semidecidual do município de Lavras, MG

Em outubro de 2013, iniciou-se com apenas 2,7% a emergência de plântulas no ambiente de topo de morro, elevando-se para 18,3% no mês de novembro, seguida de queda nos meses posteriores até sua finalização em fevereiro com apenas 0,3% de emergência. As folhas cotiledonares tiveram sua abertura no segundo mês (novembro) após a emergência, ou seja, quatro meses após a sementeira, crescendo o número de plântulas com folhas cotiledonares nos três meses seguintes. O primeiro par de folhas das plântulas ocorreu seis meses após a emergência, correspondendo a 13,4% das amostras na floresta de topo de morro e 16,3% na mata ciliar. A partir de julho, houve uma queda do número de plântulas estabelecidas com o primeiro par de folhas na floresta.

Na mata ciliar, a emergência foi verificada no mês de outubro (5%), com pico de germinação no mês de novembro (16,5%). A partir de novembro houve redução do número de sementes emergentes na mata ciliar, porém, a porcentagem de plântulas nesta categoria foi maior em todos os meses quando comparada à floresta de topo de morro. A proporção de plântulas com cotilédones abertos apresentou valores no primeiro mês de ocorrência de 3,8%, seguida de aumento no mês de dezembro e janeiro e decrescendo a partir de então. As primeiras folhas tiveram sua abertura um mês antes das amostras do topo de morro, com valores correspondentes a 16% no primeiro mês e 12% no último mês de avaliação.

O comportamento das sementes de *Genipa americana* que foram induzidas no banco de sementes adequou-se ao modelo definido por Garwood (1996), como um banco de sementes transitório, de forma que aos sete meses no ambiente de mata ciliar e cinco meses no ambiente topo de morro, ainda havia emergência de plântulas, mas após esse período todo o banco de sementes foi substituído pelo banco de plântulas.

Na maioria das experiências de campo, pesquisadores verificam o aparecimento da plântula na superfície do solo (emergência) como o primeiro

sinal que efetiva a germinação, não verificando, portanto, as sementes germinadas que não tiveram sucesso na emergência. Sementes que estão na superfície do solo, não enterradas, possuem as chances de sucesso do estabelecimento de plântulas determinado de acordo com o grau de sombreamento da vegetação circundante. Assim, uma das causas de mortalidade de sementes está relacionada com a profundidade em que se encontram no solo, fazendo com que a mortalidade entre a germinação e a emergência seja provavelmente bastante elevada (FENNER; THOMPSON, 2005). Diante disso, o banco de sementes instalado no interior da floresta sob camada de serrapilheira pode ter favorecido à emergência de plântulas, pois estas não se encontravam-se enterradas no solo e sim sob sua superfície, por conseguinte não precisaram gastar energia para ultrapassar camadas de solo nem passaram por falta de iluminação por decorrência do seu posicionamento no solo.

Garwood (1996) determina cinco fases ontogenéticas em espécies lenhosas tropicais. Sendo a fase 1 (semente); a fase 2 de alongamento da plântula que ocorre logo que se verifica a germinação e termina com a emissão do primeiro tecido fotossintetizante; fase 3 que se caracteriza pela utilização dos tecidos fotossintetizantes, em casos em que a plântula já utilizou totalmente as reservas contida na semente; fase 4, chamada de juvenil em que as plântulas não utilizam mais as reservas dos cotilédones, mesmo eles ainda estando presentes na plântula e a fase 5, adulto. Assim, observando o comportamento das sementes de *Genipa americana* ao longo do tempo, verifica-se que as fases 1 e 2 ocorrem desde a germinação (sob camada de serrapilheira e foi não visualizada neste estudo), continua com emergência dos cotilédones acima da serrapilheira, sendo que no caso desta espécie, os cotilédones ainda encontram-se dentro do tegumento das sementes (fase 2) e termina com a exposição dos cotilédones ao ambiente. Nesse momento, as sementes passam a ser reconhecidas estando na fase 3, provavelmente apresentando cotilédones fotossintetizantes. Conforme

aferido neste trabalho, a fase 3 das sementes de *Genipa americana* dura pelo menos 3 meses antes que o primeiro par de folhas se desenvolva e esta passe a ser independente dos cotilédones, determinando a fase juvenil. Segundo Andrade et al. (2000), a classificação mais adequada para a espécie *Genipa americana* seria a proposta por Duke e Polhill (1981), em que a germinação é considerada faneroepígea, com características de acordo com as citadas acima e, ainda, por serem dependentes dos cotilédones até que ocorra o surgimento das primeiras folhas.

Segundo Fenner e Thompson (2005), o último estágio no processo de regeneração é indicado com o estabelecimento de plântulas no interior das florestas. Existe uma transição gradual da dependência da semente do meio interno para utilização dos recursos externos como verificado acima e corroborado por Garwood (1996). O melhor método para a definição do ponto final da fase de plântula para a fase juvenil é a identificação de um reconhecível ponto de mudança no seu crescimento inicial (FENNER; THOMPSON, 2005). Porém essa característica de crescimento não foi aferida neste estudo, possibilitando apenas verificações morfológicas que possibilitaram diferenciar os estágios ontogenéticos até a fase juvenil.

Entre os principais fatores que interferem no crescimento das plântulas estão a umidade, luz e temperatura. A radiação fotossinteticamente ativa compõe-se de comprimento de ondas entre 400 e 700nm. Tanto a quantidade quanto a qualidade da luz que chega ao solo, portanto nas sementes e plântulas, podem ser alterados ao passar pelo dossel das florestas. Assim, diante dessas variações de luminosidade, as plântulas mantidas sob sombreamento ampliam a eficiência da captação da luz possuindo mudanças morfofuncionais, aproveitando, assim, o pouco da luz disponível em seu sub-bosque. Diante deste contexto, a luz pode ter influenciado as diferenças observadas entre os ambientes até fevereiro de 2014.

4 CONCLUSÕES

Sementes de *Genipa americana* formam banco de sementes transitório, com manutenção de sua viabilidade somente até o quarto mês após dispostas em ambiente natural.

A germinação de sementes de *G. americana* em ambiente natural tem início logo após a indução do banco de sementes, entretanto, quando sob camada de serrapilheira, a emergência só é verificada após três meses.

O banco de sementes na área de mata ciliar apresentou maior potencial para o estabelecimento de plântulas.

BEHAVIOR OF SEEDS SENSITIVE TO DESICCATION IN INDUCED SEED BANK

ABSTRACT

This work was conducted with the objective of studying the behavior of *Genipa americana* L. (Rubiaceae) seeds in induced seed banks. This research was performed in the municipality of Lavras-MG, Brazil, in experimental areas of the Universidade Federal de Lavras. Seeds collected in the region of Lavras were benefited and physiologically characterized (water content, viability and tolerance to desiccation). We installed an induced seed bank in the understory of a seasonal semideciduous forest in two distinct areas (hill top and riparian forest). The seeds were conditioned in nylon nets and covered with a layer of litter previously removed for the installation of the nets. We performed a monthly evaluation of germination, seedling emergence, water content of the seeds and of the soil, and the characterization of the initial seedling growth. We observed that *Genipa americana* seeds form a transitory seed bank, maintaining its viability only up to the fourth month after disposed in the natural environment. In general, the seed bank in the riparian forest area presented the best conditions for seedling establishment in a natural environment, which is in accordance to the ecological traits of this specie.

Keywords: *Genipa americana*. Seed Bank. Germination.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-CORTEZ, J. S. de. Dispersão e banco de sementes. In: FERREIRA, A. G. BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 226-235.
- ANDRADE, A. C. S. de 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.
- BEIJO, L. A.; MUNIZ, J. A.; CASTRO NETO, P. Tempo de retorno das precipitações máximas em Lavras (MG) pela distribuição de valores extremos do Tipo I. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, n. 3, v. 29, p. 657-667, maio/jun. 2005.
- BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2013. 376 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**, Jabotical, v. 22, n. 1, p. 53-56, abr. 2000.
- DUKE, J. A.; POLHILL, R. M. Seedlings of Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legume systematics**. Kew: Royal Botanical Gardens, 1981. v. 2, p. 941-949.
- CHEIB, A. L.; GARCIA, Q. S. Longevity and germination ecology of seeds of endemic cactaceae species from high-altitude sites in south-eastern Brazil. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 22, n.1, p. 45-53, Mar. 2012.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análise de solo**. Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Solos, 1997. 212 p.
- FENNER M.; THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. Cambridge: University Press, 2005. 250 p.
- GARWOOD, N. C. Functional morphology of tropical tree seedlings. In: SWAINE, M. D. (Ed.). **The ecology of tropical forest tree seedlings**. Paris: UNESCO/Parthenon, 1996.p.59-129.

GONZÁLEZ-ZERTUCHE, L. et al. Natural priming of *Wigandia urens* seeds during burial: effects on germination, growth and protein expression. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 1, p. 27-34, Mar.2001.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behavior**. Rome: IPGRI, 1996. 62 p. (IPGRI. Technical Bulletin, n. 1).

KHURANA, E.; SINGH, J. S. Ecology of tree seed and seedlings: implications for tropical forest conservation and restoration. **Current Science**, Bangalore, v.80, n.6, p. 748-757, Mar.2001.

MAGISTRALI, P. R. et al. Physiological behavior of *Genipa americana* L. seeds regarding the capacity for desiccation and storage tolerance. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 495-500, 2013.

OLIVEIRA, L. M. de 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.

OLIVEIRA, P. G.; GARCIA, Q. S. Germination characteristics of *Syngonanthus* seeds (Eriocaulaceae) in campos rupestres vegetation in south-eastern Brazil. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 21, n. 1, p.39-45, Mar. 2011.

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. **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.

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, S. C.; BUDKE, J. C; MULLER, A. Regeneração de espécies arbóreas sob a influência de *Merostachys multiramea* Hack.(Poaceae) em uma floresta subtropical. **Acta Botanica Brasílica**, Feira de Santana, v.26, n. 1, p. 218-229, jan./mar.2012.

SRI-NGERNYUANG, K. et al. Survival and germination of an experimental seed bank population of two species of Lauraceae in a tropical montane forest in Thailand. **Journal of Forest Research**, Tokyo, v. 8, n. 4, p. 311-316, Nov.2003.

VALERI, S. V.; PUERTA, R.; CRUZ, M. C. P. da. Efeitos do fósforo do solo no desenvolvimento inicial de *Genipa americana* L. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 64, p. 69-67, dez. 2003.

VENTUROLI, F.; FELFILI, J.; FAGG, C. W. Dinâmica de regeneração natural em capoeira de floresta estacional semidecidual sob manejo florestal de baixo impacto. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 435-437, jul. 2007. Suplemento 1.

WILLIAMS-LINERA, G. Soil seed banks in four lower montane forests of Mexico. **Journal of Tropical Ecology**, Cambridge, v. 9, n. 3, p. 321-337, Aug.1993.

YU, Y. et al. Ecology of seed germination of eight non-pioneer tree species from a tropical seasonal rain forest in southwest China. **Plant Ecology**, Amsterdam, v. 197, n. 1, p. 1-16, July 2008.

ARTIGO 2 Alterações enzimáticas e de proteínas em sementes de *Genipa americana* L. submetidas a dois métodos de secagem

FRANCESCA SALLA*

**ARTIGO FORMATADO DE ACORDO COM A NBR 6022(ABNT, 2003),
conforme orientação do Manual de Normalização da UFPA.**

* Engenheira Florestal pela Universidade Federal do Acre.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar os perfis proteicos, proteínas resistentes ao calor e atividade de enzimas antioxidantes no desempenho fisiológico de sementes de *Genipa americana* submetidas a duas velocidades de secagem. Para isso, sementes de *G. americana* passaram por secagem lenta (888 horas) e secagem rápida (156 horas). Após a secagem pelos diferentes métodos foi feita extração para análise da atividade enzimática de catalase e superóxido dismutase e para análise de proteínas totais e proteínas resistentes ao calor em géis SDS-PAGE. Foi observado o efeito das taxas de secagem na viabilidade das sementes de *G. americana*, havendo manutenção da qualidade fisiológica de sementes submetidas à secagem lenta até o grau de umidade de 10%. Não houve efeito das taxas de secagem e da redução do conteúdo de água das sementes no padrão eletroforético de proteínas totais e proteínas resistentes ao calor. A diminuição da tolerância à dessecação coincidiu com a redução da atividade da enzima catalase e superóxido dismutase.

Termos para indexação: Enzimas antioxidantes. Proteínas resistentes ao calor. Secagem lenta e rápida.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, houve um aumento na demanda de sementes de espécies florestais devido à necessidade deste insumo para a utilização em programas de conservação, recuperação e de produção florestal (DAVIDE et al., 2003). Assim, vários estudos foram desenvolvidos com sementes de espécies florestais objetivando o entendimento dos seus aspectos fisiológicos, tanto para entender processos que ajudam a manter sua qualidade fisiológica e longevidade quanto àqueles relacionados aos processos deteriorativos (ARAÚJO et al., 2008; FERREIRA; GENTIL, 2003).

Muitos trabalhos estão relacionados ao armazenamento determinando as condições adequadas que irão manter a máxima qualidade fisiológica das sementes até serem utilizadas para semeadura (ANDRÉO; NAKAGAWA; BARBEDO, 2006, TONIN; PERES, 2006). Porém, existem grandes diferenças quanto ao comportamento fisiológico de sementes florestais durante o armazenamento, sendo estas, portanto, classificadas em ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes. Sementes ortodoxas não são sensíveis à dessecação. Porém, sementes intermediárias e recalcitrantes possuem essa característica e não podem ser armazenadas com conteúdos muito baixos de umidade (ELLIS; HONG; ROBERTS, 1990; ROBERTS, 1973).

É de conhecimento que sementes sensíveis à dessecação são típicas de espécies clímax (PAMMENTER; BERJAK, 2000). Dessa forma, a utilização de espécies que possuem sementes sensíveis à dessecação é uma grande preocupação em programas de recuperação ambiental, uma vez que o armazenamento dessas sementes por longos períodos de tempo é inviável, tornando-se difícil definir a elaboração de estratégias para o aumento do tempo de armazenamento sem que ocorra perda significativa da viabilidade de sementes pertencentes a essa categoria (WESLEY-SMITH et al., 2001). Portanto

são necessários estudos sobre os mecanismos fisiológicos que estão relacionados a essa sensibilidade (FONSECA; FREIRE, 2003),

São muitos os fatores que podem afetar a qualidade inicial das sementes antes do armazenamento. Entre eles, as condições de secagem podem resultar em perda de qualidade fisiológica, principalmente em espécies sensíveis à dessecação (BEWLEY et al., 2013). Podendo ser destacada a temperatura e a velocidade de secagem entre os fatores que podem influenciar a resposta fisiológica das sementes neste processo (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002).

Diante deste contexto, alguns autores verificam diminuição da viabilidade das sementes a partir de um determinado ponto de secagem. Em sementes de *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh, por exemplo, as sementes começam a perder sua viabilidade com diminuição de apenas 5% do seu conteúdo de água, que inicialmente é de 65% de umidade (GREGGAINS et al., 2001), enquanto Araújo, Silva e Araújo (1994) verificaram que sementes de açaí perdem a viabilidade após o armazenamento se houver redução do conteúdo de água durante o mesmo.

Têm-se observado que altas taxas de secagem em sementes sensíveis à dessecação afetam negativamente a porcentagem de germinação. Diferentes velocidades de secagem também apresentam comportamentos distintos quanto à qualidade fisiológica das sementes. Em alguns estudos comparando-se secagem rápida e lenta, observa-se que a secagem rápida é menos indicada, devido a maior perda da viabilidade das sementes, enquanto que a secagem lenta favorece a manutenção da qualidade fisiológica em níveis mínimos de água (JOSÉ et al., 2011; ROSA et al., 2005). Em sementes de *G. americana* a secagem rápida provoca mudanças ultraestruturais, havendo uma compactação das células de armazenamento e aumento nos espaços intracelulares devido ao deslocamento de suas paredes, reduzindo, assim, a viabilidade das sementes submetidas ao processo (MAGISTRALI, 2013).

Durante o processo de secagem podem ocorrer danos às sementes como: desnaturação de proteínas, comprometimento da integridade de membranas e perda da composição química (NEVEDA; NIKOLOVA, 1997). Além desses fatores, pode ser observado também em sementes submetidas ao processo de secagem, acumulação de metabólitos tóxicos nas células que comprometem a estrutura celular, indicando que a desidratação induz a um metabolismo desequilibrado (LEPRINCE et al., 2000).

Para evitar o comprometimento da integridade celular, as sementes possuem mecanismos de tolerância à dessecação. Assim, alguns fatores de proteção como as proteínas resistentes ao calor, merecem destaque no combate a processos comprometedores da funcionalidade de suas estruturas (GREGGAINS et al., 2000), protegendo as sementes contra os possíveis danos que podem ocorrer durante essa etapa (VIDIGAL et al., 2009). Dentre as proteínas resistentes ao calor, as conhecidas como LEA (Late embryogenesis abundant), com acumulação na fase final de maturação (BERJAK, 2006, VIDIGAL et al., 2009) possuem relação com o mecanismo de proteção celular contra danos causados pela dessecação (ROSA et al., 2005).

Além das proteínas LEA, enzimas removedoras de produtos tóxicos também são importantes para neutralizar a atuação dos radicais livres na degradação de membranas. À medida que a deterioração evolui, ocorre a necessidade da atuação mais intensa de enzimas do complexo antioxidante. Dentre as várias enzimas destacam-se a peroxidase, superóxido dismutase (SOD) e catalase (LEPRINCE et al., 2000).

Diante deste contexto o objetivo deste estudo foi avaliar a alteração nas proteínas totais e proteínas resistentes ao calor e na atividade de enzimas antioxidantes no desempenho fisiológico de sementes de *Genipa americana* submetidas a duas velocidades de secagem.

2 METODOLOGIA

O estudo foi conduzido no município de Lavras-MG, no Laboratório de Semente Florestais (LSF) do Departamento de Ciências Florestais e no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras.

As matrizes de jenipapo foram identificadas em fragmentos localizados dentro do campus da Universidade. No total foram selecionadas sete matrizes, estas foram visitadas periodicamente para determinação do ponto de maturidade para coleta dos frutos. Os frutos de jenipapo foram coletados no mês de julho e agosto de 2014. A coleta dos frutos foi realizada no chão, manualmente, logo após sua queda natural. Estes foram levados para o Viveiro Florestal da Universidade Federal de Lavras e despoldados manualmente com a finalidade de retirada das sementes dos frutos. Devido à presença de mucilagem nas sementes, estas foram lavadas em peneira de malha fina, adicionando-se areia à massa de sementes, de forma que apenas parte da mucilagem fosse retirada. As sementes passaram por uma secagem, em laboratório, para eliminar a umidade superficial adquirida durante o beneficiamento.

Após a coleta, beneficiamento e secagem superficial, as sementes foram armazenadas em câmara fria ($5\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60%) em embalagem semipermeável por dois dias.

2.1 Determinação do conteúdo de água

Após a coleta e o beneficiamento das sementes, foi determinado o conteúdo de água das mesmas e realizado um teste de germinação em laboratório.

Para determinar o conteúdo de água das sementes, foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes. Estas foram colocadas em recipientes de alumínio e pesadas em balança de precisão para a determinação do peso úmido. Em seguida foram levadas à estufa a $105 \pm 3^\circ\text{C}$ por 24 horas para determinação do peso seco. Para a determinação do conteúdo de água, foi utilizada a fórmula da determinação da umidade em base úmida.

$$\text{Umidade} = \frac{\text{Peso úmido} - \text{Peso seco}}{\text{Peso úmido}} \times 100$$

2.2 Curvas de secagem

Após a determinação da umidade inicial das sementes, estas foram submetidas a duas metodologias de secagem: secagem lenta (SL) e secagem rápida (SR). Em ambos os métodos, as sementes foram secas a diferentes conteúdos de água (30, 20, 15, 10 e 5%).

A secagem lenta foi realizada em recipientes hermeticamente fechados, contendo solução de cloreto de sódio para controle da umidade relativa do ar. A solução salina foi colocada no fundo do recipiente e as sementes colocadas acima da solução e protegidas do contato direto através de uma tela. Quando não foi mais possível a diminuição da água das sementes nessa condição, a solução de cloreto de sódio foi trocada por solução saturada de carbonato de potássio, na qual a umidade da semente foi reduzida para até 10% de conteúdo de água. Para atingir o conteúdo de água de 5%, a solução de carbonato de sódio foi substituída por sílica gel ativada. Os períodos que as sementes ficaram expostas em cada condição e a umidade relativa obtidas com as diferentes soluções salinas são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 Tratamentos utilizados para a secagem lenta de sementes de *Genipa americana* e o conteúdo de água obtido após a secagem em ambientes com diferentes umidades relativas obtidas pela exposição a soluções salinas saturadas e sílica gel ativada por diferentes períodos

Solução Salina	Concentração	Umidade Relativa	Tempo de exposição	Conteúdo de água após secagem
NaCl	Solução saturada	75%	150 horas	30%
NaCl	Solução saturada	75%	192 horas	20%
NaCl	Solução saturada	75%	460 horas	15%
K ₂ CO ₃	Solução saturada	44%	213 horas*	10%
Sílica gel	-	10%	61 horas**	5%

* após 614 horas em solução de NaCl, ** após 614 horas em solução de NaCl + 213 horas em solução de K₂CO₃.

A secagem rápida foi realizada utilizando a mesma metodologia descrita acima, porém, utilizando-se em todo o processo de secagem, a sílica gel para manter a umidade relativa no interior do recipiente de secagem o mais baixo possível (5%).

Para estimar a umidade das amostras de sementes durante a secagem foi utilizada a fórmula proposta por Hong e Ellis (1996):

$$M = \frac{(100 - CA_i)}{(100 - CA_d)} \times M_i$$

Em que:

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

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

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

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

Durante a secagem, amostras foram pesadas periodicamente até que o conteúdo de água desejado fosse alcançado. Em seguida, foi realizada a determinação do conteúdo de água pelo método da estufa conforme descrito acima e o teste de germinação com quatro repetições de 25 sementes. A germinação foi conduzida em câmara de germinação a 25°C com luz constante. A germinação foi avaliada diariamente, utilizando-se como critério a protrusão da radícula ($\geq 2,0\text{mm}$).

2.3 Determinação das proteínas totais e resistentes ao calor

As sementes, submetidas aos diferentes métodos de secagem, foram maceradas em nitrogênio líquido e as amostras armazenadas em “*deep-freezer*” a -80°C, até a realização das análises. Para a quantificação das proteínas totais e proteínas resistentes ao calor, foram utilizados 100mg das amostras trituradas nas quais foi adicionado 1 mL do tampão de extração contendo 500mM Tris HCl pH 7,5, 5mM NaCl, 5mM MgCl₂, 0,001M de inibidor de protease inibidora e 1μLβ-mercaptoetanol. As amostras após homogeneização foram centrifugadas com velocidade de 13.200rpm durante 30 minutos na temperatura de 4°C. O sobrenadante foi coletado e dividido em duas alíquotas. Sendo uma alíquota utilizada para análise das proteínas totais e a outra para a análise das proteínas resistentes ao calor.

Para a extração das proteínas resistentes ao calor, as amostras foram submetidas ao aquecimento em temperatura de 85°C por 15 minutos em banho-maria. Após esse período, foi realizada a centrifugação por 30 minutos a 4°C e 13.200rpm.

A concentração de proteína nas amostras de proteína total e resistente ao calor foi determinada pelo método de Bradford (1976).

As amostras de proteínas (40 µg) foram aplicadas em gel de poliacrilamida (1,5mm) contendo gel separador (10%) e gel concentrador (5%). Antes de aplicar as amostras no gel foi adicionado o tampão da amostra (20 µL) e incubação a 95°C por 5 minutos. A eletroforese foi realizada a 160 V por 7 horas a 15°C. Após a corrida, o gel foi fixado em uma solução de fixação (40% metanol, 7% ácido acético) por 30 minutos e corado por 48 horas em solução com 0,08% (p/v) de Azul de Coomassie G-250, 1,6% (v/v) de ácido ortofosfórico e 12% (p/v) de sulfato de amônia. Em seguida, foi realizada a descoloração dos géis em solução 0,26% (p/v) Trizma BasepH 6,5 e lavagem final em solução de metanol 40% (v/v). Os géis foram mantidos por dois dias imersos em água ultrapura até a aquisição da imagem em escâner. A imagem obtida foi analisada no *software* GelAnalyzer, fazendo a comparação das bandas por diferença de intensidade. Os géis foram realizados em duplicata.

2.4 Determinação da atividade de enzimas antioxidantes

Para a extração das enzimas catalase, superóxido dismutase e peroxidase foram utilizados 1,0 mL do tampão fosfato de potássio 100mM, pH 7,0, 15µL de EDTA 100mM, 15µL de ácido ascórbico 100mM, 6µL de DTT 500mM e 12µL PMSF 100mM. Assim, foram adicionados ao tampão de extração 0,05g de sementes trituradas em moinho e os extratos centrifugados a 14.000rpm, durante 30 minutos, a 4°C. Os sobrenadantes foram retirados e colocados em alíquotas que foram utilizadas para determinação das atividades enzimáticas e quantificação das proteínas.

2.4.1 Atividade da catalase

A atividade da enzima catalase foi determinada pelo ensaio contendo 10 μ L do extrato enzimático bruto e 190 μ L de um meio de reação constituído de: 100 μ L de tampão fosfato 200mM pH 7,0, 80 μ L de água e 10 μ L de H₂O₂ 250mM. A leitura foi realizada em espectrofotômetro em placas de ELISA e a atividade enzimática foi determinada através das médias referentes às triplicatas.

2.4.2 Atividade da superóxido dismutase

A atividade da enzima superóxido dismutase foi determinada pelo ensaio contendo 20 μ L do extrato enzimático bruto e 180 μ L de um meio de reação constituído de: 100 μ L de tampão de fosfato 100mM, pH 7,8, 40 μ L de metionina 70mM, 2 μ L EDTA 10 μ M, 31 μ L de água, 15 μ L de azul de p-nitro tetrazólio NBT 1mM, 2 μ L riboflavina 0,2mM.

A reação foi conduzida a 20°C em câmara de reação sob iluminação de uma lâmpada fluorescente de 15W. Após sete minutos de exposição à luz, esta iluminação foi interrompida e a forma azul produzida pela fotorredução do NBT foi medida a 560nm em espectrofotômetro em placas de ELISA (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977) e a atividade enzimática foi determinada através das médias referentes às triplicatas.

2.4.3 Atividade da peroxidase

A atividade da enzima peroxidase foi determinada pelo ensaio contendo 10 μ L do extrato enzimático bruto e 190 μ L de um meio de reação constituído de: 120 μ L de tampão fosfato de potássio 100mM, pH 7,0, 40 μ L do guaiacol 50mM,

40 μ L do H₂O₂ 125Mm, em espectrofotômetro em placas de ELISA e a atividade enzimática foi determinada através das médias referentes às triplicatas.

2.5 Análise dos dados

Os experimentos foram montados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial de 2 (velocidades de secagem) x 6 (graus de umidade) com quatro repetições de 25 sementes em cada tratamento (para os testes fisiológicos). Para as análises moleculares, foram maceradas 50 sementes para cada tratamento sendo feitas duas replicatas para as análises de proteínas e três para as de enzimas.

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk e uma vez que foi constatada normalidade dos dados, os mesmos foram analisados por meio de ANOVA e teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo *software* R for Windows (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes recém coletadas apresentaram conteúdo de água de 47% e 99% de germinação. Resultados semelhantes foram obtidos por Magistrali et al. (2013), em que as sementes coletadas na mesma região apresentaram, após o beneficiamento, o mesmo conteúdo de água e 98% de germinação. Segundo Yu et al. (2008), essas variações existentes na umidade das sementes recém dispersas podem variar consideravelmente em sementes de espécies sensíveis à dessecação. Diante disto, vários autores estudando sementes de *G. americana* verificam porcentagens diferentes de umidade em sementes frescas, variando de 35 a 58% sua umidade e germinação variando entre 90 e 98% (CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; OLIVEIRA et al., 2011; PRADO NETO et al., 2007; QUEIROZ, 2009; SALOMÃO, 2004). As sementes de *Genipa americana* iniciaram a germinação a partir do 8º dia após a sementeira, apresentando o mesmo padrão no tempo de germinação encontrado por Queiroz (2009).

Sementes submetidas à secagem rápida demoraram 168 horas para atingir 5% de conteúdo de água enquanto sementes secas lentamente levaram 37 dias, quase cinco vezes (888 horas) para alcançar o mesmo conteúdo de água (Figura 1).

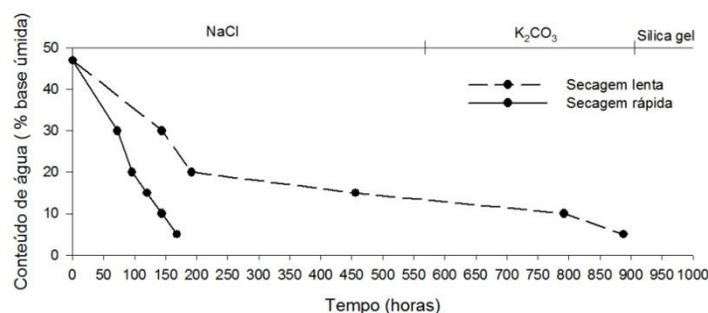


Figura 1 Curvas de secagem das sementes de *Genipa americana* em diferentes velocidades de secagem

Em trabalho realizado por Magistrali (2013) com a mesma espécie, foi necessário o dobro do tempo para a secagem rápida das sementes de *G. americana* e 193 horas a mais para atingir conteúdo de água próximo de 5% durante a secagem lenta.

Foi verificada diferença significativa no estudo da interação dos fatores conteúdo de água e velocidade de secagem das sementes tanto na porcentagem de germinação quanto no IVG. Assim, houve efeito significativo da velocidade de secagem sobre a viabilidade das sementes.

Sementes secas lentamente mantiveram a viabilidade alta mesmo quando secas até 10% de conteúdo de água, enquanto que sementes que passaram pela secagem rápida, a redução do conteúdo de água para 15% já acarretou redução significativa da viabilidade em comparação com sementes frescas (sem secagem). Entretanto, a secagem até 5% de conteúdo de água reduziu a viabilidade para 30 e 21% de viabilidade nas secagens lenta e rápida, respectivamente, não havendo diferença significativa entre os métodos de secagem nesse ponto (Tabela 2).

Tabela 2 Efeito da secagem lenta e rápida na germinação e índice de velocidade de germinação de sementes de *G. americana*

Conteúdo de água (%)	Germinação(%)		IVG	
	Secagem lenta	Secagem rápida	Secagem lenta	Secagem rápida
47*	99 Aa	99 Aa	0,72 Aa	0,72 Aa
30	98 Aa	95 Aa	0,51 Ba	0,60 Ab
20	95 Aa	94 Aa	0,50 Ba	0,50 Bca
15	92 Aa	59 Bb	0,49 Ba	0,40 CD
10	79 Aa	52 Bb	0,31 Ca	0,30 Da
5	30 Ba	21 Ca	0,03 Da	0,10 Ea
CV (%)	14,77		18,54	

Letras maiúsculas comparam os valores de germinação e IVG entre os graus de umidade dentro da secagem (colunas). Letras minúsculas comparam os valores de germinação e IVG entre as secagens dentro do mesmo grau de umidade (linhas). * Conteúdo de água inicial após o beneficiamento.

Vários estudos realizados com sementes de *G. americana* também constataram alto percentual germinativo em sementes frescas e diminuição da germinação dessas sementes quando submetidas à secagem (CARVALHO; NASCIMENTO, 2000; OLIVEIRA et al., 2011; SALOMÃO, 2004).

Sementes de *G. americana* submetidas à secagem apresentam um ponto crítico de umidade no qual ocorre a perda da viabilidade (SALOMÃO, 2004). Em sementes sensíveis à dessecação, a secagem a partir desse ponto pode causar danos à estrutura das células, comprometendo a integridade das membranas celulares, essencial ao bom funcionamento do metabolismo celular e da manutenção da qualidade fisiológica das sementes (SILVA et al., 2007). Salomão (2004) determinou que o teor de água crítico para *G. americana* está entre 9 e 6%, momento em que a viabilidade das sementes é reduzida para 50%. No presente trabalho, o ponto crítico foi determinado, em ambas as velocidades

de secagem, em sementes secas abaixo de 10% de umidade, corroborando os resultados encontrados por Salomão (2004) para o ponto crítico de umidade para essa espécie. Porém, sementes submetidas à secagem lenta com conteúdo de água de 10% apresentaram 79% de germinação, enquanto sementes secas rapidamente apresentaram viabilidade de 52%. Verificando maior manutenção da viabilidade em sementes submetidas à secagem lenta (Tabela 2).

Da mesma forma que foi observado o efeito das taxas de secagem sobre a porcentagem final de germinação, houve efeito sobre o índice de velocidade de germinação. A secagem rápida também afetou negativamente a velocidade com a qual ocorreu a protrusão da radícula. Observou-se redução dos valores de IVG em sementes com umidade abaixo de 30%, confirmando os resultados de Magistrali et al. (2013). Esses autores verificaram diminuição da qualidade fisiológica de sementes secas rapidamente e indicam a realização da secagem lenta para a manutenção da qualidade fisiológica das sementes quando submetidas a esse processo. A perda da viabilidade foi atribuída, dentre outros fatores, à ocorrência de modificações ultraestruturais decorrentes das taxas de secagem utilizadas. Essas modificações podem provocar danos celulares em sementes submetidas a secagem e são letais para as sementes quando estas iniciam a fase de embebição.

José et al. (2011) também verificaram que diferentes taxas de secagem afetam o comportamento fisiológico de *Magnolia ovata* (espécie sensível à dessecação de comportamento intermediário), sobrevivendo ao armazenamento com baixos conteúdos de água apenas aquelas sementes secas lentamente. Rosa et al. (2005) também observaram diminuição do potencial germinativo de sementes de *Coffea canefora* (espécie de comportamento intermediário) submetidas à secagem rápida. Embora Luo et al. (2012) não verificarem efeitos óbvios das taxas de secagem sobre a germinação, a maioria dos estudos

observam que sementes submetidas à secagem rápida tiveram seu potencial germinativo diminuído corroborando os resultados observados neste estudo.

Os resultados deste estudo estão de acordo com os encontrados por Carvalho e Nascimento (2000) que verificaram que a secagem até 8,4% de conteúdo de água não compromete a viabilidade das sementes de *G. americana*, apresentando germinação em torno de 70% em sementes que não foram armazenadas em temperatura subzero.

Sementes de *G. americana* não suportam secagem abaixo de 5% de umidade, apresentando perda total da viabilidade nos estudos dos autores supracitados e confirmado por Oliveira et al. (2011). Neste trabalho, porém, as sementes após secagem até esse ponto ainda apresentaram viabilidade de 30 e 21% após secagem lenta e rápida, respectivamente.

Na análise do efeito dos tratamentos (velocidade de secagem) e conteúdo de água que as sementes foram secas sobre o perfil proteico, não foram verificadas diferenças significativas para as proteínas totais e resistentes ao calor.

Na análise do perfil de proteínas totais e resistentes ao calor, independentemente da velocidade de secagem, a concentração de proteínas diminui quando as sementes são secas de 47% para 5% de conteúdo de água (Figura 2). Assim, para proteínas totais, houve efeito do conteúdo de água ($p < 0,001$), não havendo efeito dos tipos de secagem nem da interação entre os fatores. Mesmo padrão foi observado para as proteínas resistentes ao calor.

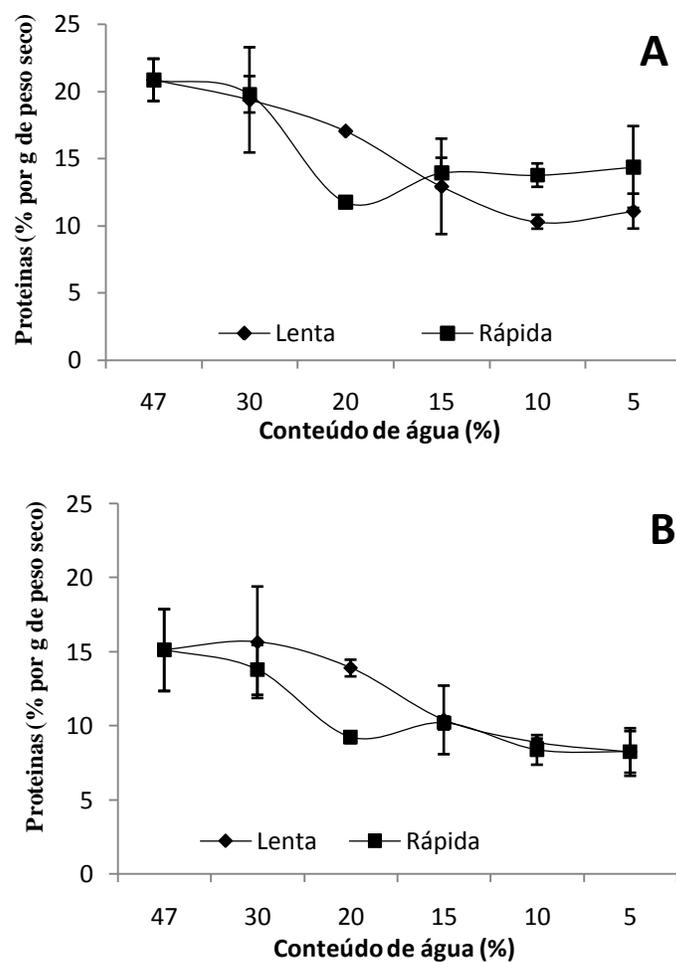


Figura 2 Mudanças na quantidade de proteínas totais (% de proteína por g de peso seco) (A) e resistentes ao calor (B) em sementes de *Genipa americana* em diferentes conteúdos de água submetidas à secagem rápida e lenta

Ao longo dos tratamentos durante a secagem rápida e lenta não foi possível observar alteração no perfil proteico associada com os diferentes

conteúdos de umidade e com as diferentes velocidades de secagem (Figuras 3 e 4).

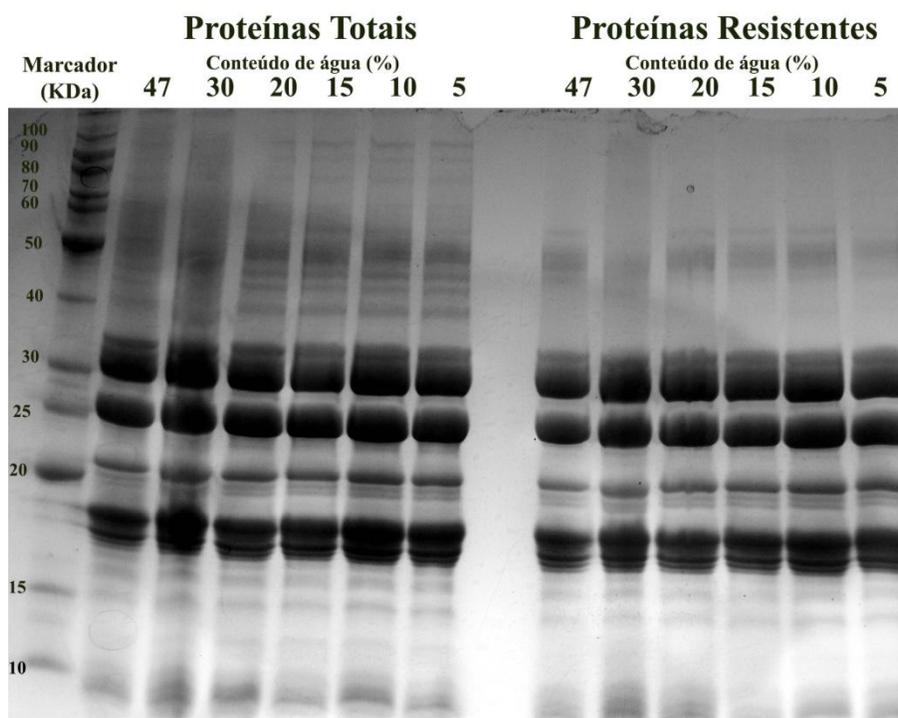


Figura 3 Padrão eletroforético de sementes de *Genipa americana* em diferentes conteúdos de água, durante a secagem lenta

As proteínas totais e resistentes ao calor verificadas neste estudo estão localizadas predominantemente em pesos moleculares acima de 15 e abaixo de 40 KDa. Vierling (1991) verifica que nessa região, em plantas, são encontradas várias proteínas resistentes ao calor de baixo peso molecular. Proteínas resistentes ao calor de baixo peso molecular também foram observadas por Almoguera e Jordano (1992) em sementes secas com embriões em maturação. Porém, nos estudos de Castro (2013) sementes secas de *Anadenanthera*

colubrina apresentaram maior concentração das proteínas resistentes ao calor em pesos moleculares maiores, acima de 40 KDa. As proteínas resistentes ao calor, em espécies com sementes ortodoxas, estão associadas com a aquisição de tolerância à dessecação, sendo relacionadas à proteção de danos causados por estresse (FARRANT; MOORE, 2011; VIERLING, 1991).

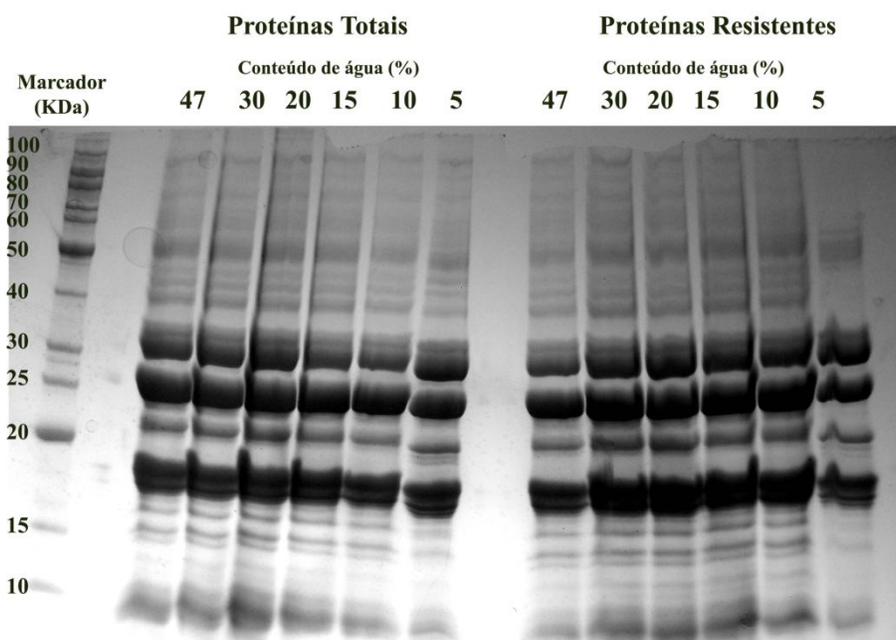


Figura 4 Padrão eletroforético de sementes de *Genipa americana* em diferentes conteúdos de umidade, durante a secagem rápida

Diante disso, pelo padrão eletroforético, tanto durante a secagem rápida quanto na lenta, não existe indicação que há contribuição desse tipo de molécula para responder sobre a diminuição da viabilidade em sementes de *Genipa americana* ao longo da secagem nem para explicar a diferença entre as taxas de secagem. Segundo Blackman, Obendorf e Leopold (1992), proteínas de

maturação sozinhas não puderam conferir tolerância à dessecação em embriões imaturos de soja submetidos à secagem lenta. Estes autores observaram um papel importante dos oligossacarídeos que se acumularam durante a secagem e fornecem proteção ao estresse durante o processo. Porém, as proteínas de maturação podem estar relacionadas à “resposta inicial do sistema” quando submetidas à secagem até que os oligossacarídeos atinjam níveis elevados. Essas proteínas podem ainda estar atuando em conjunto com esses açúcares para aquisição da tolerância à dessecação. Diante deste contexto, as proteínas totais e resistentes ao calor presentes em sementes de *G. americana* podem estar relacionadas à “resposta inicial do sistema” quando submetidas a estresse, além de poderem atuar em conjunto com outros sistemas de proteção.

Foi observado nos resultados da atividade da enzima CAT nos diferentes conteúdos de água, efeito da umidade ($p < 0,0001$), taxa de secagem ($p < 0,0001$) e da interação entre os dois fatores ($p < 0,0015$). Assim, dentro de uma mesma taxa de secagem, observou-se variação na atividade da CAT em diferentes conteúdos de água. Observou-se também variação na atividade da CAT comparando-se os mesmos conteúdos de água obtidos por taxas de secagem diferentes (Tabela 3).

Tabela 3 Atividade das enzimas Catalase e Superóxido dismutase em diferentes conteúdos de umidade e em diferentes métodos de secagem

Conteúdo de água (%)	Atividade da catalase (µg proteína/mgMF)		Atividade da SOD (µg proteína/mgMF)	
	Secagem Lenta	Secagem Rápida	Secagem Lenta	Secagem Rápida
47	369,0Ea	369,0Fa	163,0Ea	163,0Ea
30	343,0Fb	574,5Ca	297,6Ba	180,9Db
20	439,2Bb	640,7Aa	290,0Ca	216,6Cb
15	429,0Cb	631,7Ba	320,5Aa	261,1Ab
10	402,3Db	533,3Da	263,1Da	231,2Bb
5	510,7Aa	396,9Eb	261,3Da	224,5Bb

Letras maiúsculas iguais comparam os valores de CAT e SOD entre os conteúdos de água dentro da secagem (colunas). Letras minúsculas comparam os valores de CAT e SOD entre as secagens dentro do mesmo conteúdo de água (linhas).

Observou-se no estudo da atividade da catalase, que de forma geral, durante a secagem rápida, houve aumento de atividade enzimática comparando-se as mesmas umidades decorrentes da secagem lenta, exceto quando as sementes foram secas a 5% de conteúdo de água.

Na análise da atividade da SOD, observa-se que existe efeito da umidade e da secagem ($p < 0,0001$), porém não existe interação entre os fatores ($p < 0,63$) com padrão de expressão muito similar (Figura 5).

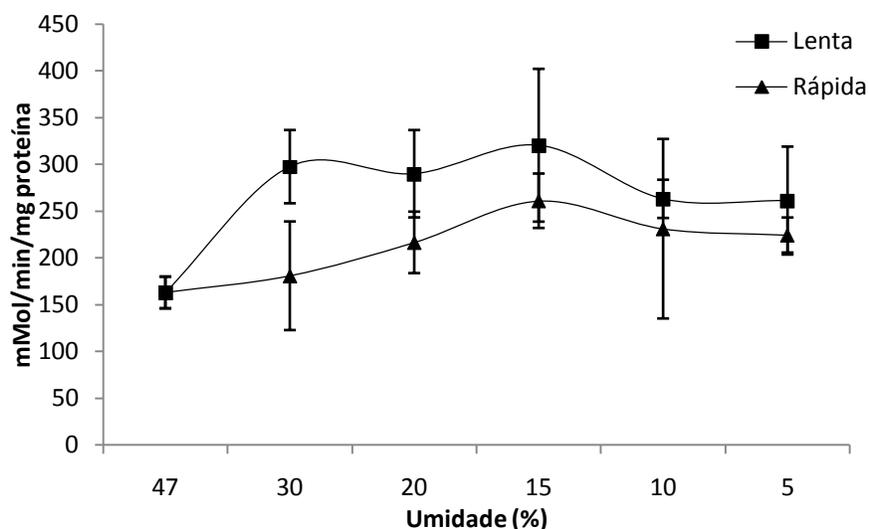


Figura 5 Atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) em sementes de *Genipa americana* após secagem a diferentes conteúdos de água e sob dois métodos de secagem (lenta e rápida)

Em sementes de *Mimusops elengi* (comportamento intermediário) também houve efeito das taxas de secagem sobre a germinação, foi observado que a dessecação causou alteração na atividade das enzimas antioxidantes, demonstrando que a secagem rápida conduziu a uma maior mobilização de SOD, APX e CAT. Entretanto, no presente trabalho apenas foi similar os resultados da CAT que apresentou maior atividade durante a secagem rápida, enquanto a enzima SOD apresentou maior mobilização durante a secagem lenta (LUO et al., 2012). A maior atividade da enzima CAT em sementes que foram secas pelo método rápido pode ser um indicativo de maior estresse presente durante a secagem, visto que embora a atividade da CAT aumente durante a secagem lenta, somente quando as sementes foram secas a 5% de conteúdo de água, a atividade da CAT atingiu valores absolutos próximos dos encontrados para as sementes secas rapidamente (Figura 6). Neste contexto, a redução da

atividade da enzima entre 10 e 5% de conteúdo de água durante a secagem rápida também pode estar associada à perda da viabilidade e consequente falha do sistema enzimático.

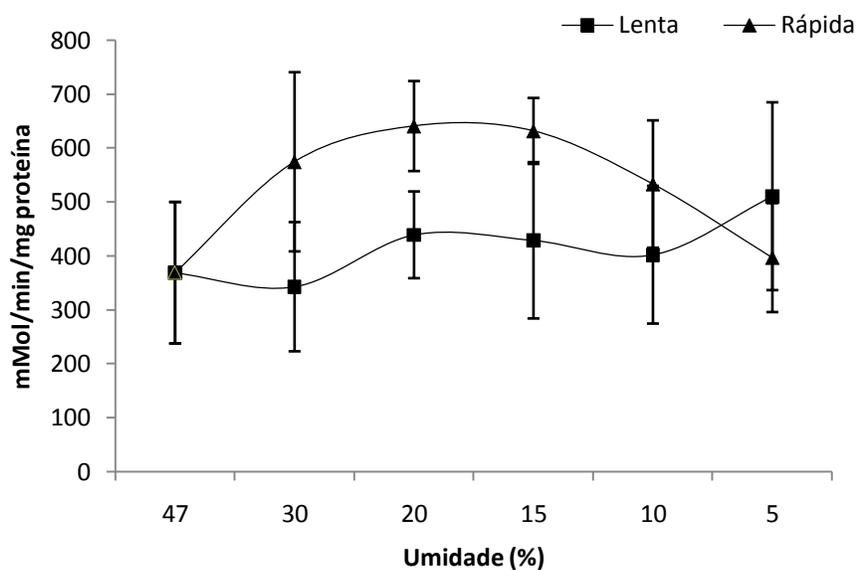


Figura 6 Atividade da enzima Catalase (CAT) em sementes de *Genipa americana* após secagem a diferentes conteúdos de água e sob dois métodos de secagem (lenta e rápida). As barras verticais representam o desvio padrão

Vários estudos têm procurado explicar as relações existentes entre a baixa viabilidade de sementes recalcitrantes e o estresse oxidativo decorrente da dessecação (HENDRY et al., 1992; LUO et al., 2012; ROSA et al., 2005).

Segundo os estudos de Luo et al. (2012), sementes de *Mimusops elengi*, espécie intermediária, apresentaram padrão diferente dos encontrados neste estudo para a atividade da enzima CAT. Os autores observaram diminuição dessas enzimas ao longo da secagem enquanto sementes de *G. americana*

possuem um aumento nessa atividade com redução apenas quando a porcentagem de água das semente atinge valores menores que 15% de umidade. Entretanto Rosa et al. (2005) verificam aumento da atividade da enzima CAT em sementes tolerantes à secagem a 50°C, atribuindo a esta enzima a possível remoção de compostos tóxicos das células das sementes. Estes autores observaram ainda que sementes intolerantes à secagem a 50°C possuíam baixo desempenho fisiológico e também apresentaram menor intensidade de atividade da enzima catalase.

Estudando-se o efeito dos métodos de secagem das sementes de *Genipa americana* na atividade da enzima SOD observou-se um aumento na atividade até o conteúdo de água correspondente a 15% de umidade. A partir deste conteúdo de água as sementes apresentaram uma ligeira redução da atividade desta enzima, mantendo valores superiores aos das sementes que não foram secas (Figura 6). Observou-se efeito significativo do método de secagem sobre a atividade da SOD. Sementes secas lentamente apresentaram maior atividade enzimática quando comparadas com àquelas secas rapidamente (Tabela 3).

A atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) aumentou com a dessecação em sementes de *Mimusops elengi* (LUO et al., 2012), corroborando os resultados encontrados por Chaitanya e Naithani (1994) em sementes de *Shorea robusta* que verificaram baixa atividade da enzima superóxido dismutase em eixos embrionários de sementes frescas com aumento em sementes viáveis na medida em que ocorre o processo de secagem, porém com redução à medida que as sementes atingem níveis de umidade inferiores a 40%. Nesse estudo é verificado com a secagem um aumento da atividade de peroxidação lipídica e radicais superóxidos e com umidade de aproximadamente 37% ocorre perda de conteúdo celular devido à ruptura de células. Diminuindo conseqüentemente a viabilidade das sementes de *Shorea robusta*. Esses resultados apresentam

semelhança com os resultados encontrados para sementes de *G. americana*, que apresentam declínio da atividade da SOD a partir de 15% de umidade.

Em contrapartida, as sementes durante o processo de embebição em estágios de intolerância à dessecação diminui a atividade da SOD enzima (LEPRINCE et al., 1990). De acordo com Rosa et al. (2005) a tolerância à secagem sob alta temperatura está pouco associada a esta enzima, sendo verificada a importância da CAT para a aquisição da tolerância à dessecação. Entretanto, os estudos em sementes de *Shorea robusta* verificam que a SOD parece desempenhar um papel ativo na tolerância à dessecação atuando contra o ataque de radicais livres (CHAITANYA; NAITHANI, 1994).

Rápidas diminuições nas atividades da superóxido dismutase e peroxidases foram determinantes para responder à sensibilidade à dessecação de sementes de cacau. A diminuição da proteção enzimática está associada à peroxidação lipídica nos tecidos das sementes sugerindo a presença de um aumento de radicais oxidativos e aumento também no vazamento de eletrólitos durante a dessecação (LI; SUN, 1999).

Nkang, Omokaro e Egbe (2000) observam que em sementes de *Telfairia occidentalis* ocorre decréscimo das atividades de CAT e SOD à medida que ocorre a secagem, e esta redução está associada com o aumento dos níveis de hidroperóxidos. Assim, a peroxidação pode ocorrer durante o processo de secagem e esta é afetada pela temperatura e taxas de dessecação comprometendo o desempenho fisiológico das sementes. Isso pode explicar a redução na atividade de CAT aos 10 e 5% de conteúdo de água durante a secagem rápida, pois nesses conteúdos de água é verificado uma queda acentuada da viabilidade das sementes de *G. americana*.

Diante deste contexto, a queda da qualidade fisiológica decorrente da dessecação de sementes de *G. americana* pode ser explicada pela diminuição da atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT. Demonstrando a importância

dessas enzimas para combater o estresse oxidativo decorrente do processo de secagem. Assim, a sensibilidade à dessecação das sementes de *G. americana* foi correlacionada com a diminuição na proteção enzimática contra o ataque oxidativo, uma vez que foi verificada resposta diferencial sob leve comportamento dessas enzimas em relação às taxas de secagem.

4 CONCLUSÕES

Existe efeito das taxas de secagem na viabilidade das sementes de *G. americana*, havendo manutenção da qualidade fisiológica de sementes submetidas à secagem lenta até 10% de conteúdo de água.

Não houve efeito das taxas de secagem e da redução do conteúdo de água das sementes no padrão eletroforético de proteínas totais e proteínas resistentes ao calor.

A diminuição da tolerância à dessecação coincidiu com a redução da atividade da enzima catalase durante a secagem rápida.

A secagem lenta promove maior atividade da enzima superóxido dismutase comparada à secagem rápida, enquanto que na secagem rápida é observada maior atividade da enzima catalase.

**ENZYME AND PROTEIN CHANGES IN *Genipa Americana* L. SEEDS
SUBMITTED TO TWO DRYING METHODS**

ABSTRACT

With this study, we aimed at evaluating the protein profiles, heat resistant proteins and the activity of antioxidant enzymes in the physiological performance of *Genipa americana* seeds submitted to two drying rates. In order to do this, *G. americana* seeds underwent slow drying (888 hours) and fast drying (156 hours). After drying by the different methods, we performed extraction in order to analyze the activities of enzymes catalase and superoxide dismutase and to analyze total and heat resistant proteins in SDS-PAGE gels. We observed an effect of the drying rates over the viability of *G. americana* seeds, where the physiological quality of seeds was maintained when they were submitted to slow drying until reaching humidity of 10%. There was no effect of the drying rates and of the reduction in water content of the seeds over the electrophoretic pattern of total and heat resistant proteins. The decrease in tolerance to desiccation coincided with the reduction of the activities of enzymes catalase and superoxide dismutase.

Indexation terms: Antioxidant enzymes. Heat resistant proteins. Slow and fast drying.

REFERÊNCIAS

ALMOGUERA, C.; JORDANO, J. Developmental and environmental concurrent expression of sunflower dry-seed-stored low-molecular weight heat shock protein and Lea mRNAs. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.19, n. 5, p. 781-792, Ago. 1992.

ANDRÉO, Y.; NAKAGAWA, J.; BARBEDO, C. J. Mobilização de água e conservação da viabilidade de embriões de sementes recalcitrantes de ingá (*Inga vera* Willd. subsp. *affinis* (DC.)T. D. Pennington). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 309-318, abr./jun. 2006.

ARAÚJO, E. C. de et al. Efeito da dessecação sobre a qualidade fisiológica de sementes de *Syzygium jambolanum* LAM. **Revista Ciências Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 3, p. 455-462, jul./set. 2008.

ARAÚJO, E. F.; SILVA, R. F.; ARAÚJO, R. F. Avaliação da qualidade de sementes de açaí armazenadas em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 16, n. 1, p. 76-79, 1994.

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

BEWLEY, J. D. et al. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2013. 376 p.

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.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n.7, p. 248-254, May 1976.

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**, Jabotical, v. 22, n. 1, p. 53-56, abr. 2000.

CASTRO, L. E. **Aspectos fisiológicos, celulares e moleculares da tolerância à dessecação em sementes de *Anadenanthera colubrina* durante a germinação.** 2013. 63 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

CHAITANYA, K. S. K.; NAITHANI, S. C. Role of superoxide, lipid peroxidation and superoxide dismutase in membrane perturbation during loss of viability in seeds of *Shorea robusta* Gaertn. f. **New Phytologist**, Cambridge, v. 126, n. 4, p. 623-627, Apr. 1994.

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.

ELLIS, R. H.; HONG, B.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 9, p. 1167-1174, Sept. 1990.

FARRANT, J. M.; MOORE, J. P. Programming desiccation-tolerance: from plants to seeds to resurrection plants. **Current Opinion in Plant Biology**, Inglaterra, v. 14, n. 3, p. 340-345, June 2011.

FERREIRA, S. A. do N.; GENTIL, D. F. de. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jabotical, v. 25, n. 3, p. 440-442, dez. 2003.

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

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 59, n. 2, p. 309-314, Feb. 1977.

GREGGAINS, P. et al. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 235-242, Sept. 2001.

GREGGAINS, V. et al. Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. **New Phytologist**, Cambridge, v. 148, n. 2, p. 267-276, Nov. 2000.

HENDRY, G. A. F. et al. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. **New Phytologist**, Cambridge, v. 122, n. 2, p. 273-279, Oct. 1992.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behavior**. Rome: IPGRI, 1996. 62 p. (IPGRI. Technical Bulletin, n. 1).

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

KERMODE, A. R.; FINCH-SAVAGE, W. 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**. Wallingford: CABI, 2002. chap. 5, p. 149-184.

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. et al. The role of free radicals and radical processing systems in loss of desiccation tolerance in germinating maize (*Zea mays* L.). **New Phytologist**, Cambridge, v. 116, n. 4, p. 573-580, Dec. 1990.

LI, C.; SUN, W. Q. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 209-217, Mar. 1999.

LUO, Y. L. et al. Storage behaviour and antioxidant activities of *Mimusops elengi* seeds subjected to different drying rates. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 40, n. 3, p. 354-364, Oct. 2012.

MAGISTRALI, P. R. **Efeito de taxas secagem na tolerância à dessecação e o armazenamento de sementes de *Genipa americana* L.** 2013. 91 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

MAGISTRALI, P. R. et al. Physiological behavior of *Genipa americana* L. seeds regarding the capacity for desiccation and storage tolerance. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 495-500, 2013.

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

NKANG, A.; OMOKARO, D.; EGBE, A. Effects of desiccation on the lipid peroxidation and activities of peroxidase and polyphenoloxidase in seeds of *Telfairia occidentalis*. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2000.

OLIVEIRA, L. M. de 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. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 301-306, Sept.2000.

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. **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.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 20nov. 2014.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 1, n. 3, 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, abr./jun. 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.

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

TONIN, G. A.; PEREZ, S. C. J. G. A. Qualidade fisiológica de sementes de *Ocotea porosa* após diferentes condições de armazenamento e semeadura. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 26-33, 2006.

VIDIGAL, D. S. et al. Alterações fisiológicas e enzimáticas durante a maturação de sementes de pimenta (*Capsicum annuum* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, v. 37, p. 129-136, 2009.

VIERLING, E. The roles of heat shock proteins in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 579-620, June 1991.

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

YU, Y. et al. Ecology of seed germination of eight non-pioneer tree species from a tropical seasonal rain forest in southwest China. **Plant Ecology**, Amsterdam, v. 197, n. 1, p.1-16, July 2008.

ANEXOS

ANEXO A - Quadro auxiliar da análise de variância para umidade do solo e da semente em dois ambientes ao longo do tempo.

Tabela 1. Quadro auxiliar da análise de variância para umidade do solo nos ambientes de várzea e topo de morro nos diferentes meses (** - significativo a 1% de probabilidade). CV% (%) = 8,96

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	P – valor
Meses	12	680,555929	56,712994	13,683**	0,0001
Ambientes	1	338,365463	338,365463	81,637**	0,0001
Erro	90	373,026000	4,144733		
Total corrigido	103	1391,947391			

Tabela 2. Quadro auxiliar da análise de variância para umidade das sementes nos ambientes de várzea e topo de morro nos diferentes meses (**- significativo a 1% de probabilidade). CV% (%) = 10,72.

Fonte de Variação	GL	SQ	QM	Fc	P – valor
Meses	4	2535,643265	633,910816	23,099**	0,0001
Ambientes	1	372,283022	372,283022	13,565**	0.0008
Erro	34	933,075990	27,443411		
Total corrigido	39	3841,002277			