

**ASPECTOS DA GERMINAÇÃO,  
ARMAZENAMENTO DE SEMENTES,  
CRESCIMENTO INICIAL E ANATOMIA DE  
PLANTAS JOVENS DE *Calophyllum brasiliense*  
Cambess.**

**FERNANDA CARLOTA NERY**

**2006**

**FERNANDA CARLOTA NERY**

**ASPECTOS DA GERMINAÇÃO, ARMAZENAMENTO DE SEMENTES,  
CRESCIMENTO INICIAL E ANATOMIA DE PLANTAS JOVENS DE  
*Calophyllum brasiliense* Cambess.**

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

Orientador

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2006

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

Nery, Fernanda Carlota

Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess / Fernanda Carlota Nery. -- Lavras: UFLA, 2006.

173 p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga

Dissertação (Mestrado) - UFLA

Bibliografia.

1. *Calophyllum brasiliense*. 2. Germinação. 3. Armazenamento. 4. Anatomia. 5. Crescimento. 6. Sombreamento I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-634.973163

**FERNANDA CARLOTA NERY**

**ASPECTOS DA GERMINAÇÃO, ARMAZENAMENTO DE SEMENTES,  
CRESCIMENTO INICIAL E ANATOMIA DE PLANTAS JOVENS DE  
*Calophyllum Brasiliense* Cambess.**

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

APROVADA em 24 de fevereiro de 2006.

Prof. Dr. Eduardo Alves

UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães

UFLA

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2006

A Deus e aos meus pais, Marivaldo Fiúza Nery e Jane Maria Carlota Nery,

**OFEREÇO.**

Aos meus irmãos, Marcela e Rodrigo.

Aos meus avós, Etelvina (*in memoriam*), Geraldo (*in memoriam*),

Juelita (*in memoriam*) e Sebastião.

Aos meus tios e tias.

Ao meu orientador, Prof. Amauri Alves de Alvarenga.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, aos meus irmãos e meus familiares, por todo amor e encorajamento.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização da pós-graduação.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Parque Quedas do Rio Bonito – Lavras/MG pela autorização para a coleta das sementes.

Ao meu orientador, professor Amauri Alves de Alvarenga, por toda atenção, apoio e amizade.

Aos membros da banca examinadora, professores Eduardo Alves e Renato Mendes Guimarães e aos membros do comitê de co-orientação, professores Evaristo Mauro de Castro e Renato Paiva.

Aos professores Luiz Edson Mota de Oliveira, Ângela Maria Soares e José Donizete Alves, por todos os conhecimentos transmitidos.

Ao Departamento de Ciência dos Alimentos, na pessoa da Profa. Joelma Pereira, pela valiosa convivência durante toda a graduação e por todos os conhecimentos transmitidos, meus profundos agradecimentos.

Ao Setor de Sementes, por sempre estar de portas abertas ao conhecimento.

Aos funcionários técnico-administrativos: Joel, Odorêncio, Lena, Evaristo, Ana Cristina, D'Artagnan e Izonel, por todo auxílio e pela simpatia sempre constante.

Aos amigos da Fisiologia Vegetal: Aline, Andréa Shan, Alessandro, Anderson, Antonio Augusto, Daniela, Evaristinho, Fernanda Grisi, Graciele,

Ivana, João Paulo, Karine, Larissa, Marilza, Paula e Sidnei, por tornarem os meus dias de trabalho mais felizes.

Aos amigos Hilton Morbeck de Oliveira, Carlos Vinício Vieira e Cristina Justo pela valiosa ajuda.

Às grandes companheiras: Vanessa Stein, Fernanda Soares, Franciane, Girlene, Samantha Lea, Tathiana Masetto, Neiva, Juliana Costa, Graziela, Janaína, Moema, Melissa, Giulliana, Patrícia e Grace pelo respeito e carinho com que cuidam dessa amizade sem tamanho que nos une.

Aos amigos do Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas e Laboratório de Cultura de Tecidos: Roberta, Douglas, Meline, Marcos, Euller, Sara, Rayris, Cristiano, Eduardo, Álvaro, Diogo e Rodrigo, pela ajuda e companheirismo durante todos os momentos.

Aos funcionários da Biblioteca da UFLA, por todo o auxílio prestado na busca de referências bibliográficas.

A todos que, de alguma maneira contribuíram para que eu conseguisse chegar até aqui, seja com um sorriso, um incentivo ou simplesmente com a força positiva do pensamento em mim. Agradeço a todos vocês, com muito carinho.

## **BIOGRAFIA**

FERNANDA CARLOTA NERY, filha de Marivaldo Fiúza Nery e Jane Maria Carlota Nery, nasceu em 26 de abril 1981 em Lavras, MG. Estudou na Escola Tiradentes e no Instituto Gammom, finalizando o ensino médio em 1998, no colégio CNEC. Em março de 1999, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônômica, na Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em dezembro de 2003. Durante este período, foi monitora da disciplina Bromatologia, no Departamento de Ciência dos Alimentos, sob orientação da Profa. Joelma Pereira e desenvolveu projetos de pesquisa, como bolsista de iniciação científica do CNPq e FAPEMIG. Em agosto de 2004, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia – Fisiologia Vegetal na UFLA, concluindo-o em fevereiro de 2006.



## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
<b>CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Importância e características da espécie.....	4
2.2 Aspectos fisiológicos da germinação de sementes.....	6
2.3 Aspectos da composição química de sementes.....	11
2.4 Armazenamento de sementes.....	21
2.5 Água e sensibilidade à dessecação de sementes.....	15
2.6 Fisiologia do crescimento e do desenvolvimento.....	26
2.6.1 Crescimento inicial de plantas jovens submetidas a diferentes níveis de sombreamento.....	26
2.6.2 Características anatômicas de espécies submetidas a diferentes níveis de sombreamento.....	29
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32
<b>CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....</b>	<b>45</b>
1 RESUMO.....	46
2 ABSTRACT.....	47
3 INTRODUÇÃO.....	48
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	50
4.1 Material vegetal.....	50
4.2 Teste histoquímico.....	51
4.3 Composição química.....	51
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
5.1 Morfologia das sementes.....	54
5.2 Composição química de sementes.....	56
6 CONCLUSÕES.....	60
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
<b>CAPÍTULO III: EFEITO DA TEMPERATURA E SECAGEM NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Calophyllum brasiliense</i> Cambess.....</b>	<b>63</b>
1 RESUMO.....	64

2 ABSTRACT.....	65
3 INTRODUÇÃO.....	66
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	69
4.1 Considerações gerais.....	69
4.2 Curva de embebição.....	69
4.3 Efeito da temperatura.....	70
4.4 Efeito da temperatura nas sementes com e sem tegumento.....	71
4.5 Verificação de ponto crítico de secagem das sementes.....	72
4.6 Análise estatística.....	73
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
5.1 Curva de embebição.....	73
5.2 Efeito da temperatura.....	76
5.3 Efeito da temperatura nas sementes com e sem tegumento.....	82
5.4 Verificação de ponto crítico de secagem das sementes.....	84
6 CONCLUSÕES.....	91
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91

**CAPÍTULO IV: ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE**  
*Calophyllum brasiliense* Cambess.....

<b>97</b>	
1 RESUMO.....	98
2 ABSTRACT.....	99
3 INTRODUÇÃO.....	100
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	103
4.1 Considerações gerais.....	103
4.2 Preparo do material.....	103
4.3 Análise estatística.....	104
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	105
6 CONCLUSÕES.....	116
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	116

**CAPÍTULO V: CRESCIMENTO INICIAL E ASPECTOS**  
**ANATÔMICOS DE FOLHAS DE PLANTAS JOVENS DE**  
*Calophyllum brasiliense* Cambess.....

<b>120</b>	
1 RESUMO.....	121
2 ABSTRACT.....	122
3 INTRODUÇÃO.....	123
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	125
4.1 Considerações gerais.....	125
4.2 Material vegetal.....	125
4.3 Condições climáticas.....	127
4.4 Parâmetros avaliados.....	128
4.4.1 Crescimento e particionamento de biomassa.....	128

4.4.2 Área foliar.....	129
4.4.3 Teor de nitrogênio foliar.....	129
4.4.4 Teor de clorofila.....	129
4.4.5 Teor de carotenóides.....	130
4.4.6 Características anatômicas.....	131
4.4.6.1 Microscopia de luz (ML).....	131
4.4.6.2 Microscopia de transmissão (MET).....	132
4.5 Análises estatísticas.....	133
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	134
5.3.1 Crescimento e particionamento de biomassa.....	134
5.3.2 Teor de nitrogênio foliar.....	141
5.3.3 Teores de clorofila e carotenóides.....	142
5.3.4 Características anatômicas.....	145
6 CONCLUSÕES.....	158
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	158
ANEXOS.....	165

## RESUMO

NERY, Fernanda Carlota. **Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*** Cambess. 2006. 173 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

Com a crescente demanda por informações sobre espécies com potencial para serem implantadas em ambientes degradados, torna-se fundamental o conhecimento fisiológico da germinação e a performance da espécie frente às condições ecofisiológicas, particularmente no que se refere aos diferentes níveis de irradiância sobre o desenvolvimento inicial e suas características anatômicas foliares. Objetivou-se, com esta pesquisa, avaliar os aspectos da germinação e armazenamento de sementes em diferentes graus de umidade, embalagens e condições de armazenamento e o efeito de diferentes níveis de sombreamento sobre o crescimento inicial e anatomia foliar em plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*. As sementes contêm, em sua composição química, alto teor de extrato etéreo, sendo a presença de lipídeos confirmada por testes histoquímicos. A germinação das sementes é do tipo hipógea e a plântula criptocotiledonar. O endocarpo constitui impedimento à absorção de água pela semente. A maior porcentagem de germinabilidade das sementes foi a 30°C e 30°C/20°C e maior índice de velocidade de germinação (IVG) também a 30°C. Sementes incubadas a 10°C, 15°C e 40°C não germinaram. Menores valores de tempo médio de germinação foram obtidos para as sementes germinadas a 30°C, 30°C/20°C e 35°C. Não foram verificadas diferenças significativas quanto à germinabilidade de sementes com e sem tegumento, porém, o tegumento reduziu a velocidade de germinação. Quanto à secagem das sementes, a redução do grau de umidade de 46,4% a 28,18% não afetou a germinabilidade. O grau de umidade crítico foi de 20,9%, demonstrando que as sementes de *Calophyllum brasiliense* são sensíveis à dessecação. O acondicionamento das sementes em saco de polietileno e armazenamento em câmara fria (8°C/45%UR) foi a melhor condição para a conservação das sementes, mantendo essas viáveis por um período de nove meses. O melhor desempenho vegetativo das mudas de *Calophyllum brasiliense* ocorreu em 30% e 50% de sombreamento. A condição de pleno sol não deve ser recomendada para a formação de mudas. Características anatômicas evidenciam que a espécie desenvolve pouca plasticidade anatômica em relação aos diferentes níveis de sombreamento estudados.

---

\* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Dr. Renato Paiva – UFLA.

## ABSTRACT

NERY, Fernanda Carlota. **Aspects of germination, storage of seeds, initial growth and anatomy of young plants of *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. 173 p. Dissertation (Master Program in Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

There is a growing demand for information related with plants showing potencial to be used in degraded environment, it is important to understand the physiological aspects of germination and the specie performance in relation to ecophysiological conditions, mainly in the different levels of irradiance on initial development and their leaf anatomical characteristics. This paper aimed to evaluate the aspects of germination and the seed storage in different moisture contents, package and storage conditions and the effect of different levels of shading on initial growth and leaf anatomy in young plant of *Calophyllum brasiliense*. The seeds contain, in its chemical composition, high level of etereal extract, being the presence of lipids confirmed by histochemical test. The seed germination is hipogea and the plantlet is criptocotyledon. The endocarp has a hinder to water absorption by seed. The higher seed germination rate was 30°C and 30°C/20°C and the higher index of germination speed (IVG) was also at 30°C. Seeds incubated at 10°C, 15°C and 40°C did not germinate. The lowest values of mean time of germination were obtained by seeds germinated at 30°C, 30°C/20°C and 35°C. There were not verified significative differences in relation to germination of seeds with or without tegument, although the tegument reduced the speed of germination. Considering the seed drying, the reduction in moisture content from 46,4% to 28,18% did not affect germination. The critical moisture content was 20,9%, showing that seeds of *Calophyllum brasiliense* are sensitive to dessecation. When seed were stored in polyetilene bags and cold room (8°C/45%RH) was the best condition for seed conservation keeping these ones viable for a period of nine months. The best vegetative performance of *Calophyllum brasiliense* plantlet occurred in 30% and 50% of shading. The full sunlight condition can not be recommended to plantlets. Anatomical characteristics showed that specie developed a low anatomical plasticity in relation to different levels of studied shading.

---

\* Guidance Committee: Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Renato Paiva – UFLA.

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUÇÃO GERAL**

## 1 INTRODUÇÃO

A revegetação de matas ciliares tem sido empregada no Brasil com bons resultados quanto à implantação de florestas em curto período de tempo, com menor custo e maior número de espécies. Contudo, esta tecnologia ainda não se encontra totalmente estabelecida, pois necessita de mais estudos, com ênfase às características dos ecossistemas, a ecofisiologia da germinação de espécies nativas e aos sistemas de produção de mudas em larga escala.

O plantio de espécies nativas seja com finalidade econômica ou conservacionista, requer conhecimento de suas características fisiológicas e exigências ecológicas nas diversas etapas de seu biociclo. Dentre os principais aspectos necessários para a implantação e o manejo de florestas nativas, destaca-se o processo de germinação das sementes, que pode fornecer subsídio para a compreensão da regeneração natural e a tecnologia de produção de mudas.

A crescente necessidade no avanço do conhecimento dos principais processos que envolvem a germinação e a fisiologia do crescimento e o desenvolvimento de espécies nativas e exóticas tem se evidenciado no Brasil na última década e no início deste século. Vários programas de revegetação de ambientes degradados têm sido cobertos de insucessos devido à pouca atenção dada ao conhecimento auto-ecológico das espécies potencialmente importantes para estes programas.

Cada vez mais se compreende a importância de preservação das matas, sobretudo em locais considerados críticos, como margens de rios, nascentes e encostas. Nos locais onde as perturbações por desmatamentos, queimadas e mineração crescem em função do desenvolvimento econômico, é notório o desequilíbrio ecológico, o que justifica plenamente estudos que possibilitem a recuperação deste ecossistema, como uma forma de minimizar estes problemas, garantindo uma melhor qualidade de vida ao homem e a fauna.

A maioria dos projetos que visa à conservação e à exploração de espécies florestais nativas depende da formação de mudas. Assim, a renovação da vegetação e a recuperação de áreas degradadas, bem como o estabelecimento de bancos de germoplasma, são baseados na coleta e técnicas de armazenamento de sementes e na produção de mudas de espécies em potencial.

A espécie *Calophyllum brasiliense* Cambessedes é uma espécie clímax que apresenta regeneração abundante na sombra, sendo também uma espécie de ampla dispersão. Seus frutos são muito procurados pela fauna e suas sementes apresentam distribuição hidrocória. A espécie é indicada, principalmente, para reposição de mata ciliar em locais sujeitos a inundações periódicas de média a longa duração, bem como em solo encharcado. A casca e o látex do guanandi são usados na medicina popular e na veterinária (Carvalho, 1994).

Diante do exposto e da crescente demanda por informações sobre espécies com potencial para serem implantadas em ambientes degradados, torna-se importante o conhecimento das bases fisiológicas da germinação, e o conhecimento da performance da espécie em estudo frente às condições ecofisiológicas, particularmente no que se refere aos diferentes níveis de irradiância sobre o desenvolvimento inicial e as características anatômicas foliares. Estas repostas são de fundamental importância no estabelecimento de protocolo para a produção de mudas, visando uma exploração mais racional das potencialidades de *Calophyllum brasiliense* Cambess.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância e características da espécie

*Calophyllum brasiliense* Cambess., também conhecida como guanandi, guandi, mangue-galandim, gualambi, guanandi-carvalho, guandi-carvalho, guanandi-cedro, guarandi, gualande-carvalho, olandim, pau-de-mangue, landi, landim, jacareíba, jacareúba e cedro-d'água, é uma espécie arbórea da família *Guttiferae* (*Clusiaceae*). A palavra guanandi é proveniente do tupi *gwanã'di* que significa “o que é grudento”. É provável que o nome venha do látex pegajoso de coloração amarelo-esverdeada eliminado pela casca e devido os frutos possuírem uma polpa branca viscosa. O gênero *Calophyllum* significa “flor bonita” (Lorenzi, 1998; Característica, 2004).

A árvore apresenta copa oval e densa, de 10m a 20m de altura, com tronco cilíndrico e retilíneo de 30cm a 60cm de diâmetro, revestido por casca grossa e fissurada longitudinalmente, de cor acinzentada. As folhas são simples, coriáceas, glabras, com nervação secundária paralela e muito característica, de 7 a 18cm de comprimento. Flores reunidas em curtos racemos axilares de 2,5cm a 6cm de comprimento, brancas e duas formas: masculinas (com muitos estames) e hermafroditas ou bissexuais (com poucos estames), reunidas na mesma árvore. O fruto é uma drupa globosa, de 1cm a 2 cm de diâmetro, indeiscente, de cor verde-amarelada quando maduro, contendo uma única semente grande e igualmente esférica (Lorenzi, 1998; Carvalho, 1994).

A espécie *Calophyllum brasiliense* apresenta ampla distribuição natural, desde o México, através da América Central e Antilhas, até a América do Sul. É encontrada em altitudes de 1.500m, em regiões com precipitação média anual de 1.400mm a 3.500mm, e estação seca de até três meses, com déficit hídrico

moderado na região Centro-Oeste do Brasil. Tolerar temperaturas médias anuais de 18,1°C a 26,7°C, sendo a temperatura média do mês mais frio de 15,3°C a 26°C e a do mês mais quente de 20°C a 28,2°C, em diversos tipos climáticos. É encontrado em solos ricos em ferro e alumínio e pobres em potássio e fósforo, ocorrendo naturalmente nas latitudes 18° N a 28° 10'S (Carvalho, 1994).

A árvore fornece madeira de boa qualidade para a construção civil e naval. Em 1835, tornou-se a primeira madeira de lei do país. A goma-resina que exsuda da casca, as folhas e a própria casca são empregadas na medicina tradicional. A goma-resina é aromática, amarga, adstringente e reputada como anti-reumática, sendo empregada para apressar a maturação de tumores e no tratamento de úlceras e diabetes. Na medicina veterinária é usada para fortalecer os tendões dos animais. Estudos fitoquímicos desta planta demonstraram a presença de xantoninas em sua parte lenhosa, além de guanandina, jacareubina e derivados de guanandina (Lorenzi, 1998).

A espécie apresenta floração variável, em virtude de sua ampla área de dispersão, florescendo de setembro a dezembro. Os frutos maduros são encontrados de maio a novembro e muito procurados pela fauna (tucanos, veados e morcegos são seus principais dispersores). Suas sementes apresentam distribuição hidrocória, sendo indicadas, principalmente, para reposição de mata ciliar em locais sujeitos a inundações periódicas de média a longa duração, bem como em solo encharcado por períodos que variam entre três e quatro meses anualmente e plantio em áreas com o solo permanentemente encharcado. Do ponto de vista ecofisiológico, a espécie é clímax tolerante à sombra (Tropical flora reflorestadora..., 2004).

*Calophyllum brasiliense* está na lista de espécies florestais tropicais amazônicas que devem ser consideradas em programas de conservação de recursos genéticos *in situ* e *ex situ* (Tropical flora reflorestadora..., 2004).

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

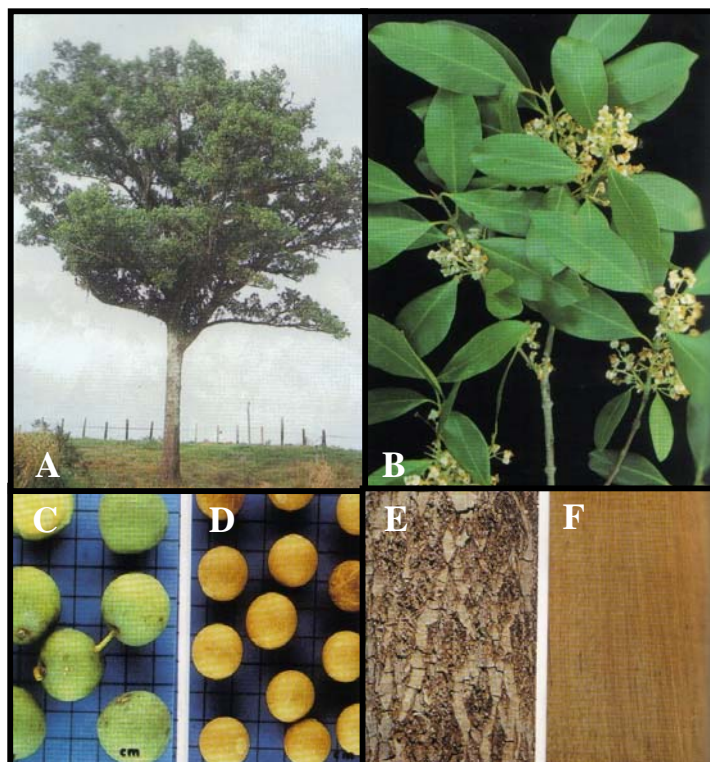


FIGURA 1. Aspecto geral da planta adulta (A), da inflorescência (B), de frutos (C), de sementes (D), da casca (E) e da madeira (F) de *Calophyllum brasiliense*. Fonte: Lorenzi, 2002.

## 2.2 Aspectos fisiológicos da germinação de sementes

A propagação de um grande número de espécies florestais de importância social, econômica e cultural encontra sérias limitações, em razão do

pouco conhecimento que se dispõe sobre as características fisiológicas, morfológicas e ecológicas de suas sementes (Machado, 2002).

Os diversos métodos e procedimentos utilizados para a avaliação da qualidade de sementes se baseiam-se na análise dos componentes da qualidade de uma amostra representativa que retrata o perfil de determinado lote. O teste mais tradicionalmente utilizado para a avaliação da qualidade de lotes de sementes é o teste de germinação (Oliveira, 2004).

A germinação da semente é considerada como a retomada das atividades metabólicas do eixo embrionário, o qual se encontrava paralisado nas fases finais do processo de maturação; porém, quando estimulado por condições ambientais, desenvolve-se, ocorrendo, então, o rompimento do tegumento pela radícula. Essa é uma etapa crítica do biociclo vegetal pelo fato do processo estar associado a vários fatores de natureza extrínseca (fatores do ambiente físico) e intrínseca, ou seja, a processos fisio-metabólicos (Laboriau, 1983; Popinigis, 1985; Andrade & Damiano-Filho, 1989; Bianchetti, 1991; Borges & Rena, 1993; Bewley & Black, 1994; Santos, 1999).

Por ser considerada uma fase crítica no contexto geral do desenvolvimento vegetal, inúmeros estudos têm sido conduzidos abrangendo os mais diferentes aspectos ligados à fisiologia e à bioquímica da germinação, associados à dormência, temperatura, luz e reguladores de crescimento (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1982; Bewley & Black, 1994; Labouriau et al., 1995; Hermansen et al., 2000; Pandey et al., 2000; Naidu et al., 2000; Patanè, 2000).

Ao considerar o processo germinativo de uma semente, alguns fatores extrínsecos e intrínsecos devem ser considerados. Entre vários, a dormência assume papel relevante, de um lado por sua função ecológica e, por outro, por constituir-se num impedimento à pronta germinação (Popinigis, 1985).

Tendo-se uma semente viável em repouso, por quiescência ou dormência, quando é satisfeita uma série de condições externas (do ambiente) e

internas (intrínsecas do indivíduo), ocorrerá o crescimento do embrião, o qual conduzirá à germinação. Por isso, do ponto de vista fisiológico, germinar é simplesmente sair do repouso e entrar em atividade metabólica (Nassif et al., 1998).

O processo germinativo tem início com a embebição de água pelos tecidos da semente, seguida da retomada das atividades metabólicas, sobretudo da síntese de novas enzimas e do aumento de atividades das hidrolases pré-existentes, visando à mobilização dos compostos de reserva para a retomada de crescimento do eixo embrionário (Sales, 2002).

O ambiente exerce um papel fundamental na fisiologia da germinação. A sensibilidade da semente à luz, ao estresse hídrico e à temperatura são determinantes na germinação da semente em uma situação particular (Bewley & Black, 1994).

Existe uma ampla variação nas respostas germinativas em função da sensibilidade a luz para as diferentes espécies. No início do século XX, foi descoberto que a germinação de algumas espécies era inibida pela luz, enquanto que, em outras, a germinação era promovida, apesar de muitas se apresentarem indiferentes à luminosidade. Em muitos casos, os fatores luz e temperatura têm ação dependente sobre a germinação de sementes (Nassif et al., 1998).

A água exerce determinante influência sobre o processo de germinação. De sua absorção resulta a reidratação dos tecidos com a conseqüente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário. Além disso, a absorção de água desempenha outros efeitos, como o aumento de volume da semente, provocando o rompimento do tegumento, o que vem, posteriormente, facilitar a emergência do eixo embrionário (ou outra estrutura qualquer) do interior da semente (Carvalho & Nakagawa, 2000).

Para que ocorra a germinação é necessário que as sementes absorvam água, desencadeando os processos metabólicos. O processo de absorção de água pelas sementes evolui de acordo com um padrão trifásico, proposto por Bewley & Black (1978).

A Fase I é caracterizada pela rápida transferência de água do substrato para a semente, mediante a diferença acentuada entre os potenciais hídricos. Nesta fase, surgem os primeiros sinais da reativação do metabolismo, com o aumento acentuado da atividade respiratória e liberação de energia para a germinação, ativação de enzimas e síntese de proteínas a partir do RNAm armazenado ao final do processo de maturação. As partes constituintes da semente absorvem água com velocidades distintas. As reduções drásticas da velocidade de hidratação e da intensidade de respiração caracterizam a Fase II, cuja ocorrência e duração são variáveis de acordo com a espécie considerada. Esta fase, caracterizada por atividades constituintes do processo bioquímico preparatório, pode ser necessária para a síntese de enzimas, de DNA e de RNAm, exauridos durante a Fase I. O início da Fase III, tornando visível a retomada de crescimento do embrião, é identificado pela protrusão da raiz primária, tratando-se de uma etapa alcançada apenas por sementes vivas e não dormentes. Deve ser enfatizado que o início das Fases II e III não implica em paralisação da(s) anterior(es), de modo que a semente pode apresentar, simultaneamente, as três fases, dependendo de fatores como a permeabilidade da cobertura e composição química dos tecidos de reserva (Bewley & Black, 1978).

Quanto ao fator temperatura sobre as sementes, Carvalho & Nakagawa (2000) relatam que esta afeta o processo germinativo de três maneiras distintas: sobre o total de germinação, sobre a velocidade de germinação e sobre a uniformidade de germinação. A germinação só ocorrerá dentro de certos limites de temperatura acima ou abaixo dos quais a germinação não ocorrerá. Dentro desses limites, existe uma faixa de temperaturas na qual o processo ocorre com a

máxima eficiência, ou seja, obtém-se o máximo de germinação no menor período de tempo possível; os limites extremos e a temperatura ótima se constituem nas chamadas temperaturas cardeais. O conceito de temperaturas cardeais foi introduzido por Sachs em 1860.

Os limites extremos de temperatura de germinação fornecem informações de interesse biológico e ecológico, em que sementes de diferentes espécies apresentam faixas distintas de temperatura para a germinação (Dau & Labouriau, 1974; Labouriau & Pacheco, 1978). Dentro dessas faixas, pode ser considerada como temperatura ótima aquela na qual a mais alta porcentagem de germinação é obtida, dentro do menor período de tempo. Seriam consideradas, ainda, a mínima e a máxima, respectivamente, como a mais baixa e a mais alta temperatura em que não ocorre germinação (Varela et al., 2005).

A temperatura ótima para a maioria das espécies vegetais está entre 20°C a 30°C e a máxima entre 35°C e 40°C (Marcos Filho, 1986). A faixa de 20°C a 30°C também foi considerada por Borges & Rena (1993) como a mais adequada para a germinação de um grande número de espécies florestais subtropicais e tropicais.

Um grande número de espécies apresenta uma reação germinativa favorável a uma alternância de temperatura, à semelhança do que acontece ao natural, em que as temperaturas diurnas são mais altas que as noturnas (Medeiros, 2001). Essa necessidade pode estar associada à dormência das sementes, embora a alternância de temperatura possa acelerar a germinação de sementes não dormentes (Copeland & McDonald, 1995).

Sementes de diferentes espécies e classificação ecológica apresentam respostas diferenciais à temperatura do meio de germinação (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1982; Vasquez-Yanes & Orosco-Segóvia, 1987; Laura et al., 1994; Benvenuti et al., 2001; Castelani & Aguiar, 2001; Tigabu & Oden, 2001; Rajput & Tiwari, 2001).

Apesar do aumento considerável de conhecimentos relativos à análise de sementes de espécies florestais, gerado pelas pesquisas nestas duas últimas décadas, a maioria delas carece ainda de subsídios básicos referentes às exigências quanto às condições ótimas de germinação (Varela et al., 2005).

Assim, como as sementes constituem o principal veículo de multiplicação de espécies, justifica-se a prioridade dirigida à concentração de esforços para elucidar ou aprimorar os conhecimentos sobre o processo de germinação e os efeitos de fatores que possam beneficiá-lo ou prejudicá-lo. Essas informações são fundamentais para o estabelecimento de diagnósticos e o fornecimento de bases para a adoção de práticas de manejo do solo, da técnica cultural adequada e de cuidados durante a colheita, processamento, armazenamento e transporte das sementes, permitindo a manifestação do potencial fisiológico após a semeadura.

### **2.3 Aspectos da composição química de sementes**

O conhecimento da composição química das sementes é fundamental para o estabelecimento de diretrizes visando à sua utilização como fontes de alimentos para homens e animais ou como matérias-primas de ampla aplicação industrial; paralelamente, vem crescendo a atenção dirigida à obtenção de produtos essenciais à manutenção da qualidade de vida, como vários medicamentos, bebidas e produtos de uso diário (higiene pessoal, condimentos).

Por outro lado, sob o ponto de vista fisiológico e considerando-se as práticas de manejo pré e pós-colheita, as reservas acumuladas são responsáveis pelo fornecimento de nutrientes e energia necessários à plena manifestação das funções vitais das sementes, além de afetar diretamente o potencial de armazenamento e determinar o direcionamento de procedimentos adotados durante a secagem artificial pós-colheita. Portanto, as variações na composição



química estão relacionadas ao desempenho das sementes, inclusive durante as etapas de indução e superação da dormência (Marcos Filho, 2005).

Apesar de sua importância, a maioria dos conhecimentos disponíveis sobre a composição química das sementes se restringe ao processo de acúmulo de reservas em espécies utilizadas para alimentação e indústrias de transformação, com maior destaque para aquelas mais contempladas em programas de melhoramento genético (cereais, leguminosas e oleaginosas). Todavia, as descobertas de novos e variados usos têm provocado interesse dos consumidores e constituído mais um desafio para os pesquisadores. É o que vem ocorrendo principalmente nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, envolvendo a utilização de sementes de espécies menos conhecidas ou ainda pouco contempladas pelo cultivo em escala comercial (Marcos Filho, 2005).

As reservas das sementes têm basicamente duas funções que se relacionam com a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula que apresente a capacidade de se manter de forma autotrófica. Os compostos de carbono normalmente acumulados em sementes podem ser utilizados tanto para produzir energia como para construir fisicamente as células (Ferreira & Borghetti, 2004).

Há enorme variação na composição de sementes, mas as substâncias armazenadas em grande quantidade constituem os carboidratos, os lipídeos e as proteínas. Os dois primeiros servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, enquanto as proteínas têm como função armazenar principalmente nitrogênio e enxofre, essenciais para a síntese de proteínas, ácidos nucléicos e compostos secundários na plântula em crescimento (Ferreira & Borghetti, 2004).

Os principais compostos derivados de carboidratos que atuam como reservas em sementes são a sacarose e os oligossacarídeos da série rafínósica, o amido e os polissacarídeos de parede celular. Enquanto a sacarose é

praticamente universal, os oligossacarídeos da série rafínosica ocorrem em um grande número de sementes de dicotiledôneas. O amido é um dos compostos de reserva de mais larga ocorrência nos vegetais superiores e os polissacarídeos de parede celular ocorrem em alguns grupos taxonômicos em que geralmente atuam como reserva, mas preservando funções secundárias importantes como o controle de absorção e de distribuição da água nos diferentes tecidos das sementes. Esses oligossacarídeos são degradados logo no início da germinação e, acredita-se, assim, que sejam compostos de reserva. Porém, sua principal função tem sido atribuída à propriedade das sementes ortodoxas de estabilizarem suas membranas e, com isso, poderem permanecer secas por um longo período, após o qual germinam normalmente. Essa hipótese encontra suporte no fato de haver uma tendência maior de acúmulo de oligossacarídeos da série rafínosica em sementes ortodoxas em relação às recalcitrantes (Ferreira & Borghetti, 2004).

Os lipídeos não são depositados sob a forma de ácidos graxos livres, mas sob a forma de triglicérides. Quando sementes oleaginosas com alto conteúdo de lipídios estão germinando, há um rápido desaparecimento de lipídios com um concomitante aumento no conteúdo de sacarose. Ao mesmo tempo, há um aumento da atividade das lipases para promover uma gradual hidrólise dos triglicerídios para diglicerídios, monoglicerídeos e, finalmente, glicerol livre e ácido graxo livre (Ferreira & Borghetti, 2004).

Os lipídios são considerados fontes de energia mais eficientes que os carboidratos, durante a germinação e também podem ter função de reserva e estrutural (Marcos Filho, 2005).

Além dos lipídios de reserva, são também importantes os fosfolipídios polares, constituintes essenciais do sistema de membranas celulares, incluindo as de organelas. A organização das membranas afeta diretamente a normalidade dos processos fisiológicos em sementes, como a germinação, a dormência, a

manifestação do vigor, a tolerância à dessecação e o condicionamento fisiológico. São os principais alvos do processo de deterioração pós-maturidade, de modo que a manutenção de sua integridade beneficia o desempenho das sementes (Marcos Filho, 2005).

Uma observação interessante nos componentes da semente é que as proteínas sempre têm uma menor proporção que os carboidratos ou os lipídios, com exceção da soja. A maior concentração de proteínas encontradas na semente se situa no embrião. Já em sementes de cereais, as maiores concentrações são encontradas no embrião e na camada de aleurona, do que no endosperma, pericarpo e tegumento, sendo que, no endosperma, as concentrações diminuem da periferia para o centro. Como, nestas sementes, o endosperma representa a maior parte em peso da semente, a maior contribuição da proteína é dada por esta parte, diferindo das espécies em que os materiais de reserva são acumulados nos cotilédones.

As sementes de diferentes espécies geralmente se comportam de maneira distinta quando mantidas em ambientes com a mesma umidade relativa do ar. Sementes ricas em lipídios têm grau de umidade inferior àquelas ricas em amido, ou melhor, um ponto de equilíbrio higroscópico inferior, sob a mesma umidade relativa do ar e temperatura. Isso ocorre porque os lipídios são hidrófobos, não apresentando afinidade com a água; como o amido pode se combinar com a água, as sementes amiláceas podem captar maior quantidade de água no mesmo ambiente. As proteínas apresentam a maior afinidade com a água. É importante ressaltar que as sementes oleaginosas apresentam menor potencial de armazenamento que as amiláceas, devido à menor estabilidade química dos lipídios em relação ao amido. O teor elevado de proteínas também pode contribuir para a redução do potencial de armazenamento, devido à elevada afinidade dessa substância com a água (Marcos Filho, 2005).

Essas informações são muito importantes porque fundamentam os procedimentos básicos para a secagem e o armazenamento das sementes. Por outro lado, o armazenamento sob condições inadequadas pode prejudicar o potencial fisiológico das sementes, pois o grau de umidade superior ao considerado seguro pode incentivar o processo respiratório delas, a mobilização de reservas e liberação de energia, acelerando a deterioração. A energia liberada nesse processo poderá faltar quando as sementes dela necessitarem ao iniciarem a germinação (Marcos Filho, 2005).

#### **2.4 Armazenamento de sementes**

A propagação de espécies florestais ocorre, principalmente, por meio de sementes e vários estudos têm sido realizados nos últimos anos sobre a tecnologia de sementes de espécies florestais nativas do Brasil, devido à crescente necessidade de reabilitação de ecossistemas florestais e de conservação de germoplasma. No entanto, diante da grande diversidade de espécies das nossas matas, as informações relativas ao comportamento fisiológico dessas sementes durante o armazenamento ainda são deficientes.

O armazenamento das sementes deve ser iniciado na maturidade fisiológica e o maior desafio é conseguir que as sementes, após certo período, ainda apresentem elevada qualidade fisiológica. Assim sendo, o objetivo é manter a qualidade das sementes durante o período em que ficam armazenadas, visto seu melhoramento não ser possível, mesmo sob condições ideais (Ferreira & Borghetti, 2004).

A longevidade das sementes é variável de acordo com o genótipo, mas, o período de conservação do potencial fisiológico depende, em grande parte, do grau de umidade, da temperatura e das condições do ambiente de armazenamento (Marcos Filho, 2005; Ferreira & Borghetti, 2004).

Roberts (1973) sugeriu a classificação fisiológica de armazenamento para sementes em duas categorias: as que podem ser armazenadas por longos períodos com baixos teores de água, em baixas temperaturas e são denominadas ortodoxas, e as que não toleram o dessecamento e o armazenamento em baixas temperaturas, as recalcitrantes, as quais perdem sua viabilidade mesmo quando armazenadas por curtos períodos. Uma terceira categoria foi proposta por Ellis et al. (1990), as intermediárias, cuja definição está baseada na resposta de longevidade ao ambiente de armazenamento, as quais apresentam tendência para longevidade crescente, quanto menor o grau de umidade da semente no armazenamento (sob condição de ar seco). Mas, esta condição é invertida a um grau de umidade relativamente alto e, a partir deste ponto, a redução do grau de umidade implica em redução da longevidade.

Desde então várias outras classificações foram sugeridas. A classificação de Bonner (1990) é considerada a mais adequada para as sementes de espécies florestais (Carvalho, 2000), compreendendo 4 grupos: 1) ortodoxas verdadeiras: sementes que toleram a secagem abaixo de 10% de umidade e, quando submetidas a temperaturas abaixo de zero, podem ser armazenadas por período relativamente longos, ou seja, durante 50 anos ou mais; 2) subortodoxas: são sementes que podem ser armazenadas sob as mesmas condições do grupo anterior, mas, no máximo, por 6 meses; 3) temperadas recalcitrantes: são sementes sensíveis à dessecação a baixos níveis de umidade, mas podem ser armazenadas por vários anos, em temperaturas próximas do congelamento e 4) tropicais recalcitrantes: são sementes que também devem ser armazenadas em condições de alta umidade relativa e com troca de gases, porém, apresentam maior sensibilidade a baixas temperaturas e à dessecação.

Grande número de espécies frutíferas e florestais possuem sementes recalcitrantes, o que complica a conservação do germoplasma pela dificuldade de armazenamento. Essas sementes podem apresentar alta ou baixa

recalcitrância. Sementes de alta recalcitrância apresentam tolerância à retirada de poucos pontos percentuais de água e muita sensibilidade às baixas temperaturas, como é o caso das sementes comuns de plantas de florestas tropicais úmidas. Já as de baixa recalcitrância exibem tolerância à retirada de elevados pontos percentuais de água, reduzida sensibilidade a baixas temperaturas e baixa germinação quando não umedecidas. São exemplos as sementes de determinadas plantas de clima temperado e subtropical, como araucária e sementes da espécie *Coffea arabica* (Ferreira & Borghetti, 2004).

As sementes que apresentam comportamento ortodoxo quando armazenadas com teor de água entre 9% e 13%, mas que, ao serem secas a 7%, perdem significativamente a viabilidade são classificadas como subortodoxas ou intermediárias. Segundo Ellis et al. (1990, 1991 a, b), sementes de mamão, café e dendê, quando desidratadas entre 8% e 10% graus de umidade e armazenadas sob temperaturas próximas e abaixo de zero, apresentaram perda do poder germinativo durante armazenagem, mesmo sendo classificadas como “intermediárias” quanto ao comportamento.

Díaspores de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) perdem a viabilidade ao serem secos a teores de água inferiores a 37%. Não podem ser secos pelos métodos tradicionais de secagem e, quando armazenados com elevado teor de água, perdem a viabilidade em curto período de tempo (Ferreira & Borghetti, 2004).

O alto grau de umidade das sementes é uma das principais causas da perda do poder germinativo durante o armazenamento (Desai et al., 1997). O alto grau de umidade causa aumento da taxa respiratória e ação de microrganismos, sendo que graus de umidade acima de 20% podem promover o aquecimento da massa de sementes a uma temperatura letal (Harrington, 1972).

A temperatura, dentro de limites, influencia todas as atividades biológicas. O aumento da temperatura do ambiente de armazenamento provoca

aumento da taxa respiratória da semente, de fungos e de insetos que a acompanham (Popinigis, 1985).

A incidência de microrganismos em sementes recalcitrantes com graus de umidade acima de 10% a 13% pode comprometer a viabilidade (Harrington, 1972). Diversos fungos, principalmente do gênero *Fusarium* (Boyce, 1989), têm sido encontrados em associação com sementes recalcitrantes armazenadas. A ação prejudicial desses microrganismos pode requerer o tratamento com fungicidas (Fu et al., 1990).

Sementes com elevados teores de água, ortodoxas ou recalcitrantes, são suscetíveis a danos causados por baixas temperaturas, devido à formação de cristais de gelo nos tecidos, provocando perda da viabilidade (Fonseca & Freire, 2003).

As sementes ortodoxas podem ser secas até baixos teores de água (5% a 7%) e armazenadas em ambientes com baixas temperaturas. Após a colheita, podem sofrer secagem artificial e serem armazenadas por longos períodos, preferencialmente a baixas temperaturas; são resistentes às adversidades no período de latência e, em condições adequadas, germinam. São facilmente armazenadas em regiões de clima temperado e exigem intenso controle das condições de armazenamento em regiões tropicais.

O armazenamento de sementes recalcitrantes com teores de água relativamente altos, mas ainda insuficientes para promover a germinação, tem permitido a obtenção de resultados favoráveis, embora haja dificuldades para a manutenção desses graus de umidade durante período prolongado. Essa condição representa proteção contra a desorganização das membranas, permite a atuação de mecanismos de reparo, a atividade de enzimas importantes, a menor ocorrência de danos por embebição e, conseqüentemente, o prolongamento da conservação. Ao mesmo tempo, proporciona condições favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos (Marcos Filho, 2005).

A deterioração das sementes envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e físicas que, eventualmente, causam a morte da semente. As alterações são progressivas e determinadas por fatores genéticos, bióticos e abióticos (clima, insetos e microrganismos), procedimento de colheita, de secagem, de beneficiamento de manuseio e de armazenamento (Ferreira & Borghetti, 2004).

Dentre as principais alterações envolvidas na deterioração das sementes, destacam-se o esgotamento das reservas alimentares, a alteração da composição química, como a oxidação dos lipídeos e a quebra parcial das proteínas, a alteração das membranas celulares, com redução da integridade, aumento da permeabilidade e desorganização, as alterações enzimáticas e as alterações de nucleotídeos (Ferreira & Borghetti, 2004).

É importante ressaltar que sementes de tegumento duro podem ser armazenadas por mais tempo comparativamente às de tegumento brando. Sementes imaturas geralmente sofrem, no armazenamento, redução de qualidade mais rapidamente do que sementes maduras (Ferreira & Borghetti, 2004).

Uma regra prática, conhecida por “Regra de Harrington”, afirma que o período para o armazenamento seguro duplica para cada redução de 1,0% no grau de umidade da semente (base úmida) ou decréscimo de 5,5°C na temperatura ambiente; ambas as reduções, quando efetuadas simultaneamente, teriam efeitos aditivos (Harrington, 1963). Para Hilhorst (1997), deveria ser considerada uma queda de 2,0% no grau de umidade, para que o período de conservação duplicasse (Marcos Filho, 2005).

Usualmente, as espécies que apresentam sementes recalcitrantes são conservadas *ex situ*, isto é, em campo ou em casa-de-vegetação, o que é extremamente caro e laborioso (Fonseca & Frerei, 2003).

Dentre os sistemas de conservação em ambiente controlado artificialmente, destacam-se a câmara-fria, a câmara-seca e a câmara-fria-seca. A



primeira destina-se à conservação de sementes sob temperatura controlada, geralmente inferior a 10°C. Apresenta elevada umidade relativa do ar, o que pode ocasionar aumento da umidade das sementes caso não sejam acondicionadas em embalagens impermeáveis (Ferreira & Borghetti, 2004).

No entanto, não deve ser esperada a conservação de sementes recalcitrantes durante períodos tão longos quanto os verificados para as ortodoxas; mesmo assim, têm sido obtidos resultados interessantes mediante o armazenamento de sementes com teores de água relativamente elevados, em embalagens resistentes a trocas de vapor d'água com a atmosfera e ou temperaturas amenas (Marcos Filho, 2005).

A preservação da qualidade fisiológica de sementes sob determinadas condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar é influenciada pelo tipo de embalagem utilizada (Ferreira & Borghetti, 2004). A escolha da embalagem depende da espécie, do grau de umidade das sementes, das condições e do período de armazenamento (Marcos Filho, 2005). As embalagens, quanto à permeabilidade ao vapor d'água, podem ser classificadas em permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis (Ferreira & Borghetti, 2004).

As embalagens permeáveis permitem a troca de vapor entre as sementes e o ambiente externo circundante. Por isso, o teor de água das sementes sofre flutuações com as variações de umidade relativa do ar. Os principais materiais empregados comercialmente na confecção de embalagens permeáveis de sementes são papel, algodão, juta e polipropileno trançado (Ferreira & Borghetti, 2004).

As embalagens semipermeáveis mostram-se resistentes à troca de vapor d'água entre as sementes e o ambiente externo circundante. Para a conservação de sementes em embalagens semipermeáveis, o teor de água das sementes deve ser de 2 a 3 pontos percentuais inferior ao empregado nas embalagens permeáveis. Os materiais utilizados nesse tipo de embalagem são polietileno de

baixa espessura e combinações de lâminas de papel e outro material, como é o caso dos papéis alumizados, plastificados e com película de asfalto (Ferreira & Borghetti, 2004).

As embalagens impermeáveis impedem o intercâmbio de vapor d'água entre as sementes e o meio externo. Geralmente, são empregados sacos de polietileno espesso, de média e alta densidades, envelopes de alumínio, embalagens metálicas de alumínio e folhas de flandres com sistema de regravação e recipientes de vidro com gaxera de vedação na tampa.

O emprego de sacos de polietileno, com 0,1mm de espessura, para permitir troca gasosa suficiente entre as sementes e o ambiente externo, minimizando a perda de água das sementes, apresentou resultados satisfatórios no armazenamento de semente de abacateiro e de seringueira (Bonner, 1978).

No armazenamento de sementes úmidas, o suprimento de oxigênio é essencial à respiração, que produzirá energia metabólica necessária à ativação e sustentação de mecanismos de reparo e de substituição celular, tendo como consequência a ampliação do período de conservação (King & Roberts, 1979). Paralelamente, deve-se evitar o acúmulo de gás carbônico, por ser prejudicial à qualidade fisiológica das sementes (Toledo & Marco Filho, 1977).

## **2.5 Água e sensibilidade à dessecação**

O conteúdo final de água em sementes secas, juntamente com a temperatura, parece ser importante na determinação da sobrevivência por longos períodos de armazenamento (Roberts & Ellis, 1989). Além disso, propriedades da água em tecidos de sementes secas parecem ser de fundamental importância na tolerância à dessecação. Diversos estudos sobre a termodinâmica de hidratação em sementes secas têm documentado a função das ligações hídricas como um componente de tolerância à dessecação. Diferentes conceitos têm sido

usados para caracterizar propriedades da água associada à matriz celular; ela é fortemente estruturada e sua termodinâmica e ou propriedades motoras diferem da água livre (Vertucci & Leopold, 1987; Leopold & Vertucci, 1989).

Segundo Guimarães (2000), existe evidência de que a tolerância à dessecação não pode ser interpretada tendo em vista a proporção de água não congelável, mas, preferivelmente, considerando as diferentes respostas à remoção deste tipo de água. Berjak et al. (1992) e Pammenter et al. (1991) observaram que, em sementes recalcitrantes de *Landolphia kirkii*, os diferentes tipos de água exibiram similaridades com aquelas de sementes tolerantes à dessecação.

O teor de água é um fator determinante do comportamento das sementes recalcitrantes durante o armazenamento. Nessas sementes, a água subcelular está fortemente associada às superfícies macromoleculares, assegurando, em parte, a estabilidade de membranas e macromoléculas. A perda de água estrutural durante o processo de secagem causaria alteração de sistemas metabólicos e de membranas, resultando no início do processo de deterioração (Farrant et al., 1988).

A partir da década de 1960, passou-se a identificar sementes de algumas espécies que perdiam sua viabilidade quando dessecadas a um determinado teor de água. Bacchi (1961), com sementes de *Inga edulis*, observou uma extrema sensibilidade destas quando dessecadas a menos de 35%, perdendo completamente a viabilidade.

Embora a secagem de sementes recalcitrantes resulte no declínio da viabilidade (Roberts, 1973), a literatura tem reportado, entre as espécies, considerável variação na sensibilidade à dessecação. Farrant et al. (1988), admitindo esta variação, propuseram a separação das sementes recalcitrantes nas categorias altamente recalcitrantes (pequena tolerância à dessecação),

moderadamente recalcitrantes (moderada tolerância à dessecação) e minimamente recalcitrantes (elevada tolerância à perda de água).

A secagem parcial pode contribuir para a conservação de sementes recalcitrantes (Chin, 1988), mesmo naquelas que toleram dessecação a valores ligeiramente inferiores ao grau de umidade original. Porém, pode ocorrer perda de viabilidade em função dessa desidratação, podendo ser atribuída a duas causas principais: como consequência de metabolismo desequilibrado durante a desidratação e, possivelmente, também quando são armazenadas na condição hidratada ou, então, em função de danos causados pela desidratação, quando a água é essencial para a integridade de estruturas intracelulares (Berjak & Pammenter, 2003).

Na secagem das sementes que toleram dessecação parcial devem ser considerados, além do menor grau de umidade de segurança (correspondente ao nível de umidade que pode ser atingido sem prejuízos à viabilidade das sementes) (Hong & Ellis, 1992), o grau de umidade crítico (abaixo do qual a semente não suporta a secagem) e o grau de umidade letal para cada espécie, já que a variação na sensibilidade à dessecação pode ocorrer, ocasionalmente, entre diferentes lotes da mesma espécie (King & Roberts, 1979; Eira et al., 1994). Roberts (1973) menciona que a variação do teor de água crítico, para sementes recalcitrantes, está entre 12% e 31%.

Em função da inevitável deterioração das sementes e da grande variação existente entre as espécies, entre lotes da mesma espécie e entre unidades do mesmo lote, buscam-se no armazenamento, estratégias para manter as sementes íntegras e viáveis por períodos prolongados logo após a sua dispersão. Para as espécies florestais, na maioria das vezes, torna-se difícil preservar a viabilidade e o vigor das sementes; por isso, fatores, como temperatura e umidade, devem ser considerados durante o armazenamento, visando prolongar a longevidade e a sua viabilidade (Ramos, 1980; Alvarenga, 1987; Corrêa, 1997; Oladiran &

Agunbiade, 2000). Embora haja algumas discordâncias ou dificuldades na diferenciação entre causas e conseqüências da deterioração, a seqüência provável de eventos envolve redução na velocidade de germinação, redução do potencial de armazenamento, desuniformidade e retardamento do crescimento e desenvolvimento inicial de plântulas, aumento na sensibilidade a adversidades ambientais, redução de emergência de plântulas no campo e aumento de plântulas anormais com conseqüente morte (Delouche & Baskin, 1973).

O conhecimento da capacidade que uma espécie tem em tolerar a perda de água é de grande importância nos processos de secagem e armazenamento. A secagem deve ser de modo que não promova uma retirada brusca de água do interior da semente, provocando desorganização e descompartimentalização cada vez maiores de todo o sistema de membranas da semente. Essa desorganização continua durante o armazenamento, mas, será retardada se as condições forem ideais (Costa, 2003). Segundo Delouche (1975), a temperatura e o teor de umidade são fatores mais importantes no armazenamento, ambos em função da umidade relativa do ar.

Dependendo da secagem, do armazenamento e da tolerância à dessecação, as sementes irão embeber água em quantidades e velocidades distintas durante a germinação (Popinigis, 1977).

Geralmente, um menor conteúdo de água na semente pode ser tolerado em taxa de secagem rápida. Ainda há de se considerar que, em sementes de menor tamanho, a semente não permite uma rápida secagem, o que é particularmente visível quando eixos isolados são secos (Pammenter, et al. 1991; 1993). Não é considerado que essa secagem rápida induza a alguma forma de tolerância à dessecação. No entanto, sabe-se que a rápida secagem não permite tempo suficiente para que se processem reações deletérias que causem a perda da viabilidade (Pammenter et al., 1991; Berjak et al., 1993; Pammenter et al., 1998). É necessário que a secagem artificial seja conduzida com os devidos

cuidados, com rapidez suficiente para remover a água capaz de acelerar o metabolismo destrutivo, sem promover distúrbios à semente, normalmente causados pela utilização de temperaturas elevadas e por injúrias mecânicas durante a secagem. As características da semente, de comportamento ortodoxo ou recalcitrante, devem ser priorizadas nesse planejamento, pois, a desidratação excessiva pode, em ambos os casos, incentivar a velocidade e a intensidade de deterioração (Marcos Filho, 2005).

Martins et al. (1999) verificou que as sementes de *Euterpe espirosantensis* Fernandes são recalcitrantes, apresentando porcentagem alta de germinação (90,0% a 87,5%) quando não desidratadas (teor inicial de água de 51,4% a 46,6%). Quando sementes dessa espécie foram desidratadas em sílica gel abaixo de uma faixa de teor de água situada entre 40,7% e 51,4%, os valores de vigor e germinação foram significativamente reduzidos e a mortalidade total das sementes foi observada, com a redução do teor de água das sementes a uma faixa situada entre 13,4% e 15,8%.

As sementes recalcitrantes têm sua viabilidade reduzida quando o teor de água atinge valores inferiores àqueles considerados críticos; quando iguais ou inferiores àqueles considerados letais, há perda total de viabilidade (Probert & Longley 1989, Pritchard 1991, Hong & Ellis 1992). A sensibilidade das recalcitrantes à dessecação depende da espécie, sendo os teores crítico e letal de água relativamente altos, respectivamente, de 27% a 38% e de 12% a 22% (Bovi & Cardoso 1978, Priestley & Williams 1985, Chin 1988, Ferreira & Santos 1992, Eira et al. 1994, Andrade & Pereira 1997). O conhecimento dos teores crítico e letal de água de uma espécie é indispensável para o planejamento e a execução da secagem e do armazenamento das sementes.

## **2.6 Fisiologia do crescimento e do desenvolvimento**

### **2.6.1 Crescimento inicial de plantas jovens submetidas a diferentes níveis de sombreamento**

A utilização de espécies nativas para a recuperação de áreas degradadas ou perturbadas tem crescido. O estudo da luminosidade é fundamental para a avaliação do potencial dessas espécies em programas de revegetação, pois a disponibilidade de luz constitui um dos fatores críticos para o seu desenvolvimento (Gajego et al., 2001). Em virtude da carência de conhecimentos, os estudos básicos para a produção de mudas são de extrema importância para o desenvolvimento da atividade florestal e para programas de conservação (Monteiro & Ramos, 1997).

Scalon & Alvarenga (1993), em sua revisão sobre árvores nativas, observaram que, geralmente, há grande diversidade de respostas das plantas à luminosidade, principalmente quanto ao desenvolvimento vegetativo da parte aérea e à sobrevivência das mudas. Dessa forma, a eficiência do crescimento da planta pode ser relacionada à habilidade de adaptação das plântulas às condições luminosas do ambiente. O crescimento satisfatório de algumas espécies em ambientes com diferentes disponibilidades luminosas pode ser atribuído à capacidade de ajustar, eficaz e rapidamente, seu comportamento fisiológico para maximizar a aquisição de recursos nesse ambiente (Dias Filho, 1997).

Em geral, os diferentes graus de luminosidade causam mudanças morfológicas e fisiológicas na planta, e o grau de adaptação é ditado por características genéticas da planta em interação com o seu meio ambiente (Moraes Neto et al., 2000). Amo (1985), analisando essas mudanças no processo de regeneração e crescimento de mudas, concluiu que as diferenças de luz, quanto à sua intensidade, possuem, nas condições naturais, efeito mais

significativo no crescimento das plantas do que a sua qualidade, principalmente no que se refere ao acúmulo de matéria seca. Diversas variáveis de crescimento têm sido utilizadas para avaliar o comportamento das mudas de espécies florestais em relação à luz, sendo a altura e o diâmetro de caule usados com maiores freqüências. O maior diâmetro de caule é uma característica desejável em mudas porque garante maior sustentação da muda. A produção de matéria seca, a área foliar e as relações entre a biomassa da parte aérea e radicular são variáveis também utilizadas na avaliação do crescimento das mudas quanto à luz (Farias et al., 1997).

Gajego et al. (2001) constataram que alguns estudos evidenciam um desenvolvimento mais favorável em condições de alta luminosidade para espécies heliófitas com maior produção de matéria seca (*Sesbania sesban* L.), enquanto em outros encontraram maior acúmulo de matéria seca em baixa luminosidade (*Muntingia calabura* L.). Estudos de crescimento e respostas fotossintéticas para sombra em um grupo de plantas jovens tolerantes, moderadamente tolerantes e intolerantes à sombra mostraram que a biomassa total foi menor e a área foliar específica maior, em condições de 79% e 89% de sombra (Groninger et al., 1996).

A estrutura das florestas tropicais permite que pequenas quantidades de luz atinjam o nível do solo da floresta (Chazdon & Fetcher, 1984; Januário et al., 1992). Como conseqüência, o crescimento de muitas plântulas nestas florestas pode ser limitado pela quantidade de luz disponível e muitas desenvolvem estratégias para a sua sobrevivência e estabelecimento neste ambiente com pouca radiação disponível (Osunkoya et al., 1994; Claussen, 1996). Por outro lado, plântulas crescendo no interior de uma floresta tropical passam por mudanças bruscas na quantidade de luz recebida, estando estas sujeitas a incidências de luz que variam de acordo com a hora do dia, com as estações do



ano ou com a movimentação das copas e ou, ainda, devido à queda de árvores ao redor (Osunkoya & Ash, 1991; Lee et al., 1997).

Freqüentemente, as análises do crescimento de mudas são utilizadas para prever o grau de tolerância das diferentes espécies ao sombreamento. Acredita-se que as espécies tolerantes apresentem um crescimento mais lento em relação às não-tolerantes, devido às suas taxas metabólicas mais baixas (Grime, 1977). O rápido crescimento em altura, quando sombreadas, é um mecanismo de adaptação das plantas competitivas (Grime, 1977) ou nômades (Tinoco & Vasques-Yanes, 1985), como forma de escape ao déficit de luz, já que estas não são capazes de tolerar baixas intensidades luminosas por meio do reajuste de suas taxas metabólicas.

A área foliar também é uma característica muito utilizada na avaliação dos efeitos do sombreamento sob a planta. Em geral, o incremento da área foliar com o sombreamento é uma das maneiras da planta aumentar a superfície fotossintética, assegurando um aproveitamento mais eficiente das baixas intensidades luminosas e, conseqüentemente, compensando as baixas taxas de fotossíntese por unidade da área foliar característica da folha de sombra (Jones & Mcleod, 1990).

O conteúdo de nitrogênio foliar, expresso com base na área foliar é maior nas folhas de sol do que nas folhas sombreadas de espécies arbóreas (Abrams & Mostoller, 1995). Resultados semelhantes foram obtidos por Dias Filho (1997), com a espécie *Solanum crinitum* L. Entretanto, vários autores observaram que, no conteúdo de nitrogênio foliar, quando baseado na massa foliar, o resultado é inverso, sendo maior o conteúdo nas folhas crescidas sob baixas intensidades luminosas (Dias Filho, 1997; Holmes & Cowling, 1993). Segundo Lima Júnior (2004), a espécie *Cupania vernalis* acumulou maior teor de nitrogênio em folhas de plantas jovens cultivadas sob 50% de sombreamento, quando comparadas às cultivadas sob pleno sol e 30% de sombreamento.

Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e, conseqüentemente, ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes é o conteúdo de clorofila e carotenóides. Além da concentração total desses pigmentos, a proporção entre eles e entre as clorofilas *a* e *b* muda em função da intensidade luminosa. Geralmente, a clorofila e os carotenóides tendem a aumentar com a redução da intensidade luminosa (Ferraz & Silva, 2001; Fontes & Silva, 2000). Entretanto, Engel & Poggiani (1991) encontraram diferenças para algumas espécies.

Os carotenóides são tetraterpenos de cores vermelha, amarela e laranja, que agem como pigmentos acessórios na fotossíntese e protegem os tecidos fotossintéticos contra a fotoxidação. Além de sua função como pigmento acessório, os carotenóides desempenham um papel essencial na fotoproteção. Se grandes quantidades de energia absorvida pelos pigmentos não puderem ser armazenadas pela fotoquímica, as membranas fotossintéticas podem ser facilmente danificadas; esta é a razão de necessidade de um mecanismo de proteção (Taiz & Zeiger, 2004). Estresse devido à alta luminosidade é freqüente sob condições tropicais e as concentrações de clorofila e carotenóides nas plantas são indicativos da ação deste fator sobre as mesmas (Strauss-DeBenedetti & Bazzaz, 1991).

### **2.6.2 Características anatômicas de espécies submetidas a diferentes níveis de sombreamento**

As espécies arbóreas variam grandemente na sua capacidade de responder à alteração na disponibilidade de luz. A luz influencia a anatomia foliar, tanto nos primeiros estádios de desenvolvimento quanto no estágio adulto, pois a folha é um órgão muito plástico e a estrutura interna da mesma adapta-se às condições de luz do ambiente. A influência da luz sobre a anatomia

foliar pode ser avaliada de acordo com a intensidade, qualidade e quantidade da mesma (Weston et al., 2000).

No estudo de anatomia foliar deve ser levada em consideração a idade do órgão, sua posição no ramo e sua situação em relação aos fatores de luz e suprimento hídrico, pois é sabido que existe uma estreita relação entre morfologia e anatomia foliar, com o ambiente em que a espécie se desenvolve (Ashton & Berlyn, 1992; Hanba et al., 2002; Piel et al., 2002; Ivanova & P'Yankov, 2002).

Estudos comparativos de estruturas de folha, caule e raízes têm mostrado diferentes respostas anatômicas em relação a estes órgãos, a despeito de alterações nos níveis de luminosidade no ambiente. Por esta razão, folhas de plantas crescidas em ambientes ensolarados apresentam-se menores, mais espessas e mais pesadas por unidade de área em relação às cultivadas à sombra. Este fato deve-se, provavelmente, a uma taxa fotossintética mais elevada a pleno sol, em comparação com as plantas crescidas à sombra (revisto por Boardman, 1977; Bjorkman, 1981). O aumento na espessura da folha, especialmente quando pela alongação ou adição de células paliçádicas, tem sido ligado a uma redução na resistência do mesófilo ao dióxido de carbono (Nobel, 1977) e correlacionado ao aumento de fatores limitando potencialmente o processo fotossintético (como, por exemplo, Rubisco, transportadores eletrônicos, condutância estomática) (Bjorkman, 1981).

A maioria das espécies florestais tem habilidade de desenvolver diferentes estruturas anatômicas em suas folhas quando crescem à sombra ou a pleno sol. As folhas de sombra, quando comparadas às de sol de uma mesma árvore, apresentam-se mais delgadas, mais lobuladas, com maior superfície por unidade de peso, epiderme mais fina, com mais espaços intercelulares (Spurr & Barnes, 1980).

Em *Fragaria virginiana* Duchesne, uma espécie adaptada à sombra quando se aumenta a intensidade da luz, observa-se o aumento na quantidade de tecidos no mesófilo, aumentando o desenvolvimento de tecido paliçádico, ocorrendo em várias camadas bem organizadas, as quais determinam um aumento na capacidade fotossintetizante. Esse aumento ocorre até certo limite, além do qual a capacidade fotossintetizante decresce, devido à fotoxidação dos pigmentos (Chabot et al., 1979). Jurik et al. (1979) observaram, na mesma espécie, o desenvolvimento da folha sob quatro regimes diferentes de luz e verificaram que a expansão foliar foi completada mais rapidamente em intensidades luminosas mais elevadas.

Os estômatos são estruturas fundamentais para a vida das plantas, pois, em condições normais de cultivo, é por eles que ocorre toda a troca gasosa. Portanto, qualquer variação no número e ou tamanho destes pode acarretar uma maior ou menor eficiência da planta quanto à taxa fotossintética (Sun et al., 1995). O número de estômatos e células epidérmicas por unidade de área é base para a determinação do índice estomático, que é utilizado para efeito de correlação com processos fisiológicos.

Atroch (1999) não verificou mudanças no diâmetro polar e equatorial dos estômatos de *Bauhinia forticata* quando suas folhas foram expostas a diferentes intensidades luminosas. Entretanto, Castro et al. (1998), trabalhando com *Guarea guidonea*, observaram que apenas o diâmetro polar mostrou-se maior no tratamento com 50% de sombreamento. Medri & Leras (1980) citam haver diferenças no número e no tamanho dos estômatos de seringueira cultivada em diferentes condições edafoclimáticas.

Estudando o crescimento inicial de plantas de *Euterpe edulis*, Nakazono et al. (2001) verificaram que a espessura do mesófilo foliar foi maior, a espessura das epidermes não variou e a densidade estomática mostrou uma leve

tendência ao aumento em plantas para mais alto nível de luz (passando de 4% de luz para 30%).

Segundo Bolhar-Nordenkampf & Draxler (1993), as mudanças que ocorrem em um ambiente de luz proporcionam adaptações aos cloroplastos, modificando propriedades das membranas dos tilacóides, como o arranjo dos cloroplastos nas células. Os cloroplastos apresentam uma tendência a se movimentarem em direção anticlinal às paredes das células sob luz intensa para reduzir a absorção pelas folhas. No parênquima paliçádico, os cloroplastos podem estar aglomerados, formando uma haste próxima às paredes periclinais ou podem estar aderidos longitudinalmente às paredes anticlinais, funcionando como um tubo para passagem da luz para o parênquima esponjoso situado logo abaixo do parênquima paliçádico, isso em uma folha dorsiventral. Os cloroplastos no parênquima esponjoso podem também se orientar de acordo com a quantidade e qualidade de luz penetrada. A movimentação dos cloroplastos pode aumentar o coeficiente de absorção de luz pelas folhas em até 20% e, assim, contribuir para a adaptação em curto prazo, após mudanças de condições de baixa para alta irradiância ou vice-versa.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, M. D.; MOSTOLLER, S. A. Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. **Tree Physiology**, Victoria, v. 15, n. 6, p. 361-370, June 1995.

ALVARENGA, S. **Influência de diferentes teores de umidade, embalagens e ambientes sobre a preservação da viabilidade e vigor de sementes de pau-santo (*Kielmeyera coriacea* Mart.)**. 1987. 84 p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

- AMO, S.R. Alguns aspectos de la influencia de la luz sobre el crecimiento de estados juveniles de espécies primarias. In: GOMEZ-POMPA, A. L.; AMO, S.R. (Ed.). **Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas em Veracruz – Mexico**. Mexico: Alhambra Mexicana, 1985. p.79-92.
- ANDRADE, A.C.S., PEREIRA, T.S. Comportamento de armazenamento de sementes de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, p.987-991, 1997.
- ANDRADE, V. M. M.; DAMIÃO-FILHO, C. F. **Morfologia vegetal**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1989. 259 p.
- ASHTON, P. M. S.; BERLYN, G. P. Leaf adaptation of some Shorea species to sun and shade. **New Phytologist**, Cambridge, v. 121, n. 4, p. 587-596, Aug. 1992.
- ATROCH, E. A. C. **Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forticata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância**. 1999. 62p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- BACCHI, O. Estudos sobre a conservação de sementes: IX Ingá. **Bragantia**. Campinas, v. 20, n. 35, p. 804-814, 1961. (Boletim Técnico, 35).
- BASS, L. N. Physiological and other aspects of seed preservation. In: RUBENSTEIN, I. et al. **The plant seed: development, preservation and germination**. New York: Academic, 1979. p. 145-170.
- BENVENUTI, S.; MACCHIA, M.; MIELE, S. Light, temperature and burial depth effects on *Rumex obtusifolius* seed germination and emergence. **Weed research**, v.41, n.2, 2001.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Orthodox and recalcitrant seeds. In: \_\_\_\_\_. **Tropical tree seed manual**. [S. l.]: USDA Forest Service's/Reforestation, Nurseries, & Genetics Resources, 2003.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W. Homoiohydrous (recalcitrant) seeds: Developmental status, desiccation sensitivity and the state of water in axes of *Landolphia kirkii* Dyer. **Planta**, v.186, p. 249-261, 1992.
- BERJAK, P.; VERTUCCI, C. W.; PAMMENTER, N. W. Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds to *Camellia sinensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 155-166, June 1993.

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

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination**. Berlin: Springer Verlag, 1978. v. 1, 306p.

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

BJÖRKMANN, O. Responses to different quantum flux densities. In: LANGE, O. L. Et al. (Ed.). **Physiological plant ecology I** – responses to the physical environment. Encyclopedia of Plant Physiology, New York: Springer-Verlag, 1981. 652 p.

BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, California, v.28, p.355-377, 1977.

BOLHAR-NORDENKAMPF, H. R.; DRAXLER, G. Functional leaf anatomy. **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. London: Chapman & Hall. 1993. p. 91-112.

BONNER, F. T. Storage of hardwood seeds. **Forest Genetic Resources Information**, Rome, n. 7, p. 10-17, 1978.

BONNER, F. T. Storage of seeds: potencial and limitations for germoplasm conservation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 35, n. 1 / 2, p. 35-43, June 1990.

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PINÃO-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLA, M. B. (Coord.). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993, 83 p.

BOVI, M.L.A., CARDOSO, M. Conservação de sementes de palmitero (*Euterpe edulis* Mart.). **Bragantia**, v.37, p.65-71, 1978.

BOYCE, K. G. Report of the seed storage. Committee 1986 – 1989. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 17, p. 135-142, 1989. Supplement. 1.

CARACTERÍSTICA, aplicações e curiosidades. Disponível em: <<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC708052-2584-3,00.html>>. Acesso em: 29 nov. 2004.

- CARVALHO, L. R. **Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento**. 2000. 97p. Dissertação (Mestrado em Produção Florestal)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA/CNPQ; Brasília: EMBRAPA/SPI, 1994. 640 p.
- CASTELLANI, E. D.; AGUIAR, I. B. **Seed science and technology**, v. 29, n. 1, p. 73-82, 2001.
- CASTRO, E. M. de et al. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. **Daphne**, Belo Horizonte, v. 8, n. 4, p. 31-35, dez. 1998.
- CHABOT, B.F., JURIK, T. W., CHABOT, J.F. Influence of instantaneous and integrated light-flux density on leaf anatomy and photosynthesis. **American Journal Botany**, v. 66, n. 8, p. 940-945, 1979.
- CHAZDON, R. L.; FETCHER, N. Photosynthetic light environment in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. **Journal of Ecology**, v.72, p.553-564, 1984.
- CHIN, H. F. **Recalcitrant seeds: a status report**. Rome: IBPGR, 1988. 18 p.
- CLAUSEN, J. W. Acclimation abilities of three tropical rainforest seedlings to an increase in light intensity. **Forest Ecology and Management**, v. 80, p. 245-255, 1996.
- COPELAND, L.O.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 1995. 409 p.
- CORREA, F. L. O. **Efeito da embalagem e do ambiente de armazenamento na germinação e vigor de sementes de goiabeira (*Psidium guajava* L.)**. 1997. 57 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.



- COSTA, P. de S. C. **Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.)**. 2003. 81 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- DAU, L.; LABOURIAU, L.G. Temperature control of seed germination in *Perekia aculeata* Mill. **An. Acad. Bras. Cien.**, n. 46, p. 311-322, 1974.
- DELOUCHE, J. C. **Pesquisa em sementes no Brasil**. Brasília: AGIPLAN/MA, 1975. 69 p.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C. C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 427-552, 1973.
- DIAS FILHO, M. B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. to contrasting light environments. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, p. 789-796, 1997.
- EIRA, M. T. S. et al. Efeito do teor de água sobre a germinação de sementes de *Araucaria angustifolia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 71-75, 1994.
- EIRA, M. T. S. et al. Tolerance of *Coffea* spp. Seeds to desiccation and low temperature. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 11, n. 2, p. 97-105, 1999.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-117, Sept. 1990.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. Effect of temperature and moisture content on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, Califórnia, v. 1, p. 69-72, 1991a.
- ELLIS, R. H. et al. Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*. **Seed Science Research**, Califórnia, v. 1, p. 99-104, 1991b.
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

FARIAS, V.C.C.; COSTA, S.S.; BATALHA, L.F.P. Análise de crescimento de mudas de cedrorana (*Cedrelinga catenaeformis* (Ducke) Ducke) cultivadas em condições de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.2, p.193-200, 1997.

FARRANT, J. M.; BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. The effect of drying rate on viability retention of recalcitrant propagules of *Avicennia marina*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 51, p. 432-438, 1985.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Recalcitrance – a current assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 16, n. 1, p. 155-166, 1988.

FERRAZ, K. K. F.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de espécies florestais usadas na recuperação de áreas degradadas – II. *Calliandra calothyrsus* Meisn. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus, BA, 2001. CD-ROM

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

FERREIRA, S.A.N., SANTOS L.A. Viabilidade de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.). **Acta Amazonica**, v.22, p303-307, 1992.

FINCH-SAVAGE, W. E. Seed development in the recalcitrant species *Quercus robur* L.: development of germinability and desiccation tolerance. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 2, p. 17-22, 1992.

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

FONTES, R. V.; SILVA, D. M. Avaliação ecofisiológica do crescimento inicial de *Piptadenia adiantoide* (Spreng.) Macbr., espécie florestal usada na recuperação de áreas degradadas. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2000, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus, BA, 2000. CD-ROM.

FU, J. R. et al. Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 3, p. 743-751, 1990.

GAJEGO, E. B. et al. Crescimento de plantas jovens de *Maclura tinctoria* e *Hymenaea courbaril* em diferentes condições de sombreamento. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus, BA, 2001. CD-ROM.

GRIME, J. P. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. **The American Naturalist**, v. 982, n. 3, p. 1169-1194, 1977.

GRONINGER, J. W. et al. Growth and photosynthetic responses of four Virginia Piedmont tree species to shade. **Tree Physiology**, v. 16, p. 773-778, 1996.

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

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.

HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T. T. **Seed biology**. New York: Academic, 1972. v. 3, p. 145-245.

HARRINGTON, J.F. Practical advice and instructions on seed storage. **Proc. Intl Seed Test. Assoc.** v. 28, p. 989-994, 1963.

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

HILHORST, H.W.M. Seed dormancy. **Seed Science Research**, v.7, n.221-223, 1997.

HOLMES, P. M.; COWLING, R. M. Effects of shade on seedling growth, morphology and leaf photosynthesis in six subtropical thicket species from the eastern Cape, South Africa. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 61, p. 199-220, 1993.

HONG, T. D.; ELLIS, R. M. Optimum air-dry seed storage environments for *arabica coffea*. **Seed Science and Technology**, Zurick, v. 20, p. 547-560, 1992.

IVANOVA, L. A.; P'YANKOV, V. I. Structural adaptation of the leaf mesophyll to shading. **Russian Journal of Plant Physiology**, New York, v. 46, n. 3, p. 419-431, May/June 2002.

JANUÁRIO, M.; VISWANADHAN, Y; SENNA, R. C. Radiação solar total dentro de floresta tropical úmida de terra firme (Tucuruí, Pará). **Acta Amazônica**, v.22, p.335-340, 1992.

JONES, R. H.; McLEOD, K. W. Growth and photosynthetic responses to a range of light environments in chinese tallow tree and carolina ash seedlings. **Forest science**, Washington, v.36,n.4, p. 851-862, 1990.

JURIK, T. W., CHABOT, J.F.; CHABOT, B.F. Ontogeny of photosynthetic performance in *Fragaria Nuder* changing light regimes. **Plant Physiology**, v.63, p.542-547, 1979.

KING, M. W.; ROBERTS, E. H. **The storage of recalcitrant seeds: achievements and possible approaches**. Rome: IBPGR, 1979. 96p.

LABOURIAU, L. G. **A germinação da semente**. Washington: OEA, 1983. 173 p.

LABOURIAU, L.G.; NODA, F.; BORGHETTI, F. Dependência de temperatura na germinação de sementes de *Phaseolus aureus* Roxb. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., 1995, Lavras. **Resumos ...** Lavras: UFLA, 1995. p.1-63.

LABOURIAU, L.G.; PACHECO, A. On the frequency of isothermal germination in seeds of *Dolichos biflorus* L. **Plant & Cell Physiology**, n. 19, p. 507-512, 1978.

LAURA, V. A.; ALVARENGA, A. A.; ARRIGONI, M. DE F. Effect of growth regulators, temperature, light, storage and others factors on *Muntinga calabura* l. seed germination. **Seed Science and Technology**, v.22, n.3, p. 573-579, 1994.

LEE, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on seedlings development of two Southeast Asia *Hopea* species. **Oecologia**, v. 110, p. 1-9, 1997.

LEOPOLD, A. C.; VERUCCI, C. W. Moisture as a regulator of physiological reaction in seeds. In: STANWOOD, P. C. AND MCDONALD, M. B. (Ed.). **Seed moisture**. Madison: Crop Science Society of América, 1989. p. 51-67. (CSSA Special Publication, 14).

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

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** São Paulo: Nova Odessa, 2002. v.1., 386p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352 p.

MACHADO, C.F. **Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de amoreira-branca (*Lithrae molleoides* (Vell.) Engl.).** 2002. 51p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

MARCOS FILHO, J. Germinação de sementes. *In*: Marcos Filho, J. (Ed.). **Atualização em produção de sementes.** Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.11-39.

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

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. **Tolerância à dessecação de sementes de palmito-vermelho (*Euterpe espirotosantensis* Fernandes).** *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 391-396, dez. 1999.

MAYER, A.M.; POLJAJOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds.** 2.ed., Oxford, Pergamon Press, 192p., 1982.

MEDEIROS, A. C. S. **Aspectos de dormência em sementes de espécies arbóreas.** EMBRAPA, 2001. 12 p. (Circular Técnica).

MEDRI, M.; LERAS, E. Aspectos da anatomia ecológica de folhas de *Hevea brasiliensis* (Muell.) Arg. **Acta Amazônica**, Manaus, v.10, n.3, p.51-56, set. 1980.

MONTEIRO, P. P. M.; RAMOS, F. A. Beneficiamento e quebra de dormência de sementes em cinco espécies florestais do cerrado. **Revista Árvore**, v. 21, n. 2, p. 169-174, 1997.

MORAES NETO, S.P. et al. Crescimento de mudas de algumas espécies arbóreas que ocorrem na mata atlântica em função do nível de luminosidade. **Revista Árvore**, Viçosa, v.24, n.1, p.35-45, 2000.

NAIDU, C. V.; RAJENDRUDU, G.; SWAMY, P. M. Effect of plant growth regulators on seed germination of *Sapindus trifoliatus* Vahl. **Seed Science & Technology**, v.28, p. 249-252, 2000.

NAKAZONO, E. M. et al. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart em diferentes regimes de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n.2,p. 173-179, jun. 2001.

NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNADES, G. D. **Germinação de semente** – fatores externos (ambientais) que influenciam a germinação. Informativo Sementes - IPEF. 1998. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.html>>. Acesso em: 16 nov. 2005.

NOBEL, P. S. Internal leaf area and cellular CO<sub>2</sub> resitance; photosynthetic implications of variations with growth conditions and plant species. **Physiologia Plantarum**, v.40, p. 137-144, 1977.

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

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

OSUNKOYA , O. O.; ASH, J. E. Acclimation to a change in light regime in seedlings of six Australian rainforest tree species. **Australian Journal of Botany**. v. 39, p. 591-605, 1991.

OSUNKOYA , O. O. et al. Influence of seed size and seedling ecological attributes on shade-tolerance of rain- forest tree species in northern Queensland. **Journal of Ecology**, v.82, p. 149-163, 1994.

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

PAMMENTER, N.W., LORETO, F., SHARKEY, T.D. End product feedback effects on photosynthetic electron transport, **Photosynthesis research**, v. 35, p. 5-14, 1993.

PAMMERTER, N. W. et al. Effects a differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekerbergeria capensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, p. 463-471, 1998.

PANDEY, H. et al. Chemical stimulation of seed germination in *Aconitum heterophyllum* Wall. and *A. balfourii* Stapf. : important Himalayan species of medicinal value. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 28, n. 1, p. 39-48, 2000.

PATANÈ, C. Influence of temperature on seed germination of a Sulla sweetvetch (*Hedysarum coronarium* L.) population collected in a hilly area of southern Italy. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 887-890, 2000.

PIEL, C. et al. Effect of local irradiance on CO<sub>2</sub> transfer conductance of mesophyll in walnut. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 53, n. 379, p. 2423-2430, Dec. 2002.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289 p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

PRIESTLEY, D.A., WILLIAMS, S.E.. Changes in cotyledonary lipids during drying of cocoa (*Theobroma cacao* L.) seeds. **Tropical Agriculture**, v.63, p.65-67, 1985.

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

PROBERT, R.J.; LONGLEY, P.L. Recalcitrant seed storage physiology in three aquatic grasses (*Zizania palustris*, *Spartina anglica* and *Portesia coarctata*). **Annals of Botany**, v.63, p.53-63, 1989.

RAJPUT, A.; TIWARI, K. P. Effect of alternat chilling/heating on germination of fresh teak (*Tectona grandis* L. f) drups, without scarification of felt mesocarp. **Seed Science and Technology**, v.29, n.1, p. 56-64, 2001.

RAMOS, A. **Influência de cinco tipos de embalagens na germinação e no vigor de sementes de angico - *Parapiptadenia rigida* (benth) Brenan, caixeta – *Tabebuia cassinoides* (lam.) DC e caroba – *Jacaranda micrantha* Cham. armazenadas em câmara fria e a temperatura ambiente**. 1980. 134 p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

ROBERTS, E. H. ; ELLIS, R. H. Water and seed survival. **Annals of Botany**, New York, v. 63, n. 1, p. 39-52, Jan. 1989.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds **Seed Science & Technology**, London, v. 1, n. 1, p. 499-514, Jan. 1973.

SALES, J. de F. **Atividade da celulase sobre o processo germinativo de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2002. 38 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, S. R. G. dos. **Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith e Downs (Branquilha)**. 1999. 76 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Produção e Tecnologia de Sementes)-Univerisade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

SCALON, S. P. Q.; ALVARENGA, A. A. Efeito do sombreamento sobre a formação de mudas de pau-pereira (*Platycyamus regnelli* Benth.). **Revista Árvore**, v. 17, n. 3, p. 265-270, 1993.

SPURR, S.J.; BARNES, B. V. **Ecologia florestal**. New York, Ronald, 1980. 571p.

STRAUSS-DEBENEDETTI, S.; BAZZAZ, F. A. Plasticity acclimation to light in tropical Moraceae of different sucesional positions. **Oecologia**, New York, v. 87, n. 3, p. 377-387, 1991.

SUN, O J. et al. Physiological responses to water stress and waterlogging in Nothofagus species. **Tree Physiology**, Victoria, v. 15, n. 10, p. 629-638, Oct. 1995.

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

TIGABU, M. & ODEN, P. C. Effect of scarification, giberellic acid and temperature on seed grmination of rwo multipurpose *Albizia species* from Ethiopia. **Seed Science and technology**, v. 29, n. 1, p. 11-20, 2001.

TINOCO, C.; VASQUEZ-YANES, C. Diferencias en poblaciones de *Piper hispidus* bajo condiciones de luz contrastante en una selva alta perenifolia. In: GOMEZ-POMPA, A.; AMO, R.S. (Ed.). **Investigaciones sobre la regeneration de selvas altas em Vera Cruz**. Mexico. Alhambra Mexicana, 1985. T. 2, p. 267-281.



TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia da produção**. São Paulo: Agronômica Cers, 1977. 224p.

TROPICAL flora reflorestadora – *Calophyllum brasiliense* e suas características. Disponível em:

<<http://www.tropicalflora.com.br/pt/reflorestamento/og.jsp>>. Acesso em: 29 nov. 2004.

VARELA, V. P.; COSTA, S. de S.; RAMOS, M. B. P. Influência da temperatura e do substrato na germinação de sementes de itaubarana (*Acosmium nitens* (Vog.) Yakovlev) - Leguminosae, Caesalpinoideae. **Acta Amazônica**, v. 35, n. 1, p. 35 – 39, 2005.

VASQUEZ-YANES, C.; OROSKO-SEGOVIA, A. Fisiologia ecológica de sevelhas en la Estacion de Biologia Tropical de “Los Tuxtlas”, Vera Cruz, México, **Rev. Biol. Trop.** 1987. No prelo.

VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, A. C. The relationship between water binding and desiccation tolerantes in tissues. **Plant Physiology**, Rockville, v. 85, n. 1, p. 232-238, Sept. 1987.

WESTON, E. et al. Light quantity controls leaf-cell and chloroplast development in *Arabidopsis thaliana* wild type and blue-light perception mutants. **Planta**, v. 211, p. 807-815, 2000.

## **CAPÍTULO II**

### **CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEMENTES DE *Calophyllum brasiliense* Cambess.**

## 1 RESUMO

NERY, Fernanda Carlota. Caracterização morfológica e composição química de sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess. In: \_\_\_\_\_. **Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Cap. 2, p. 45-62. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

*Calophyllum brasiliense* (Guttiferae) ocorre desde a região Amazônica até o norte de Santa Catarina. Resiste a solos encharcados, seus frutos são alimentos da fauna e sua madeira apresenta qualidades semelhantes às do mogno e cedro. Conhecer aspectos morfológicos e a composição química das sementes de espécies nativas das florestas tropicais, do Cerrado e de outros biomas, pode auxiliar, por exemplo, a produção de mudas de alta qualidade, buscando a recuperação de áreas degradadas. Objetivou-se, neste trabalho, caracterizar a morfologia e a composição química de sementes de *Calophyllum brasiliense*. Na caracterização dos tecidos da semente, foi empregado teste histoquímico com Sudan III e Lugol. A composição química da semente foi feita avaliando-se as variáveis: grau de umidade, extrato etéreo, resíduo mineral fixo, proteína bruta, fibra bruta, amido e açúcares redutores e não redutores. *Calophyllum brasiliense* contém, aproximadamente, na sua composição química: 45,6% de grau de umidade, 24,5% de extrato etéreo, 10,6% de teor de amido, 6,8% de proteína bruta, 3,3% de fibra bruta, 2,1% de resíduo mineral fixo, 2,3% de açúcar solúvel total, 1,8% de açúcar não redutor e 0,42% de açúcar redutor. Foi observada a presença de amido e lipídeos nos cotilédones das sementes. A germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense* é do tipo hipógea, sendo a plântula criptocotiledonar.

---

\* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Renato Paiva – UFLA.

## 2 ABSTRACT

NERY, Fernanda Carlota. Morphological characterization and chemical composition of *Calophyllum brasiliense* Cambess seeds. In \_\_\_\_\_. **Aspects of germination, storage of seeds, initial growth and anatomy of young plants of *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Chap. 2, p. 45-62. Dissertation (Master Program in Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

*Calophyllum brasiliense* (Guttiferae) is found since Amazonic region until the north of Santa Catarina. It is resistant to flooded soils, and its fruits are consumed by animals and its wood has similar quality as mahogany and cedar. The morphological aspects and chemical composition of the seeds of native species of tropical forest, of Cerrado and other biomes could help, for example to produce seedling of high quality, aiming to recover the degraded areas. This paper aims to characterize the morphological and chemical composition of the *Calophyllum brasiliense* seeds. In the seed tissue characterization it was used the histochemical test with Sudan III and Lugol. The seed chemical composition was obtained evaluating the variables: moisture content, etheral extract, fixed mineral residue, crude protein, crude fiber, starch and reducing and non reducing sugars. *Calophyllum brasiliense* also contains 24,5% of etheral extract, 10,6% of starch level, 6,8% crude protein, 3,3% of crude fiber, 2,1% of fixed mineral residue, 2,3% total soluble sugar, 1,8% of non reducing sugar and 0,42% of reducing sugar. It was observed the presence of starch and lipids in the seed cotyledon. The germination of *Calophyllum brasiliense* seeds is hypogea, being the plantlet cryptocotyledonar.

---

\* Guidance Committee: Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Renato Paiva – UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

A espécie *Calophyllum brasiliense* pertence à família *Guttiferae* (*Clusiaceae*), também conhecida como guanandi, guandi, mangue-galandim, gualambi, guanandi-carvalho, guandi-carvalho, guanandi-cedro, guarandi, gualande-carvalho, olandim e pau-de-mangue (Lorenzi, 1998). O guanandi apresenta ampla distribuição natural, desde o México, através da América Central e Antilhas, até a América do Sul. A árvore dessa espécie fornece madeira de boa qualidade, semelhante às do mogno e cedro, sendo utilizada na construção civil e naval. A goma-resina que exsuda da casca, quando ferida, é conhecida como “bálsamo-de-jacareúba” ou “bálsamo-de-landim”. Esta goma-resina, as folhas e a própria casca são empregadas na medicina tradicional de longa data em suas regiões de ocorrência. A espécie *Calophyllum brasiliense* está na lista de espécies florestais tropicais amazônicas que devem ser consideradas em programas de conservação de recursos genéticos *in situ* e *ex situ* (Carvalho, 1994).

A composição química das sementes das espécies é variável, em termos quantitativos. Dependendo do composto de reserva predominante, as sementes podem ser classificadas como amiláceas, oleaginosas ou protéicas. A especificidade do acúmulo de carboidratos, lipídios e de proteínas em sementes resulta de uma série complexa de processos bioquímicos, iniciados com a captação de energia luminosa e fixação do carbono durante a fotossíntese. A planta-mãe produz açúcares (especialmente sacarose) e aminoácidos essenciais para a biossíntese de moléculas mais elaboradas de substâncias de reserva das sementes, que possibilitam o atendimento de inúmeras necessidades humanas (Marcos Filho, 2005).

Conhecer aspectos da composição química e da fisiologia das sementes de espécies nativas das florestas tropicais, do Cerrado e de outros biomas, pode auxiliar, por exemplo, a produção de mudas de alta qualidade para tentar recuperar áreas degradadas por atividades agrícolas e industriais.

O conhecimento da composição química da semente é de interesse prático em tecnologia de sementes, pois, tanto a germinação como o potencial de armazenamento são influenciados pelo conteúdo dos compostos presentes nas mesmas (Nakagawa et al., 1990). Conhecer os mecanismos de acúmulo de reservas é fundamental para a obtenção de plantas de maior vigor (Ferreira & Borghetti, 2004).

As sementes apresentam composição química bastante variável, por se tratar de um órgão que se forma no final do ciclo da planta. O embrião, para se desenvolver, depende totalmente das substâncias de reserva da semente.

As sementes contêm, em suas diferentes partes, várias classes de compostos orgânicos e elementos inorgânicos, encontrando-se nos seus tecidos de reserva inúmeras substâncias, como carboidratos (açúcares solúveis, amido, celulose, hemicelulose), lipídeos, proteínas e elementos como o fósforo, que constituem o suporte básico para o crescimento inicial da plântula. Outros compostos, no entanto, podem estar presentes nas sementes, tais como alcalóides, fenóis, fitormônios como estimuladores do crescimento e, ainda, algumas substâncias que podem constituir-se como inibidores no processo de germinação das sementes.

A composição química das sementes é determinada geneticamente e varia de espécie para espécie, podendo ainda variar com as práticas agrícolas interpostas às culturas, tais como adubação, época de plantio e fatores do ambiente, como radiação, temperatura e disponibilidade de água.

Além da composição química, os estudos morfológicos auxiliam a identificação botânica da espécie, a interpretação dos testes de laboratório e o

reconhecimento da espécie em bancos de sementes do solo e em fase de plântulas em formações florestais. Estas análises contribuem para o estudo dos mecanismos de dispersão, sucessão e regeneração natural da espécie.

O sucesso do reflorestamento e da implantação de sistemas agroflorestais depende de informações básicas sobre as espécies que compõem os diferentes arranjos. Em vista disso, no presente estudo o objetivo foi caracterizar a morfologia e a composição química de sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material vegetal

Frutos maduros de *Calophyllum brasiliense* foram coletados na época da dispersão, agosto de 2004, em árvores matrizes localizadas no município de Carrancas, MG, próximo às margens da cachoeira conhecida como “Cachoeira da Zilda”. Posteriormente, os frutos foram trazidos para o Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, no Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram despoldados. O teste histoquímico foi realizado no Laboratório de Anatomia Vegetal, do Departamento de Biologia (UFLA) e a determinação da composição química realizada no Departamento de Ciência dos Alimentos (UFLA).

Parte das sementes maduras foram congeladas em nitrogênio líquido para posteriores análises químicas, sendo que outra parte fixada em álcool 70% para a realização dos testes histoquímicos.

## **4.2 Teste histoquímico**

O endocarpo dos frutos foi submetido a cortes manuais de seções transversais utilizando lâmina de aço e posterior coloração com safranina e floroglucinol. Os cotilédones foram submetidos a cortes transversais para determinar o tipo de reserva, utilizando-se os seguintes reagentes: Lugol, para detectar a presença de amido e Sudan III, para a identificação de corpos lipídicos (Kraus & Arduin, 1997). Seguiu-se a montagem de lâminas provisórias e semipermanentes, segundo técnicas descritas por Johansen (1940). As observações visuais foram realizadas em microscópio Olympus CBB.

## **4.3 Composição química**

Para a determinação da composição química das sementes de *Calophyllum brasiliense*, utilizaram-se as sementes congeladas em nitrogênio líquido e conservadas em deep-freezer (-92°C), sendo posteriormente moídas em moinho da marca Tecnal modelo TE613/1, refrigerado a 4°C. Em seguida, foram realizadas as seguintes determinações:

### **a) Grau de umidade**

Pesaram-se 10g de sementes em cápsula de porcelana previamente seca e tarada. Após, elas foram secas em estufa regulada a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  até peso constante e expresso em porcentagem, conforme método Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1990).

### **b) Extrato etéreo**

Pesaram-se 2g de amostra, transferindo-as quantitativamente para o cartucho de Soxhlet. A extração direta da amostra com éter etílico foi realizada



em extrator contínuo de Soxhlet, utilizando reboiler previamente dessecado e tarado. Após a extração, o reboiler com o resíduo foi levado para a estufa a 65°C, por 24 horas, posteriormente pesados e os resultados expressos em porcentagem (AOAC, 1990).

**c) Resíduo mineral fixo**

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

**d) Proteína bruta (N total)**

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

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

**e) Fibra bruta**

Para fibra bruta pesou-se 0,5g de material desengordurado, adicionaram-se 17,5mL de ácido acético 70%, 0,5g de ácido tricloracético e 1,2mL de ácido nítrico. Deixou-se em repouso por 30 minutos a partir da ebulição (110°C), após o que, os cadinhos foram levados para estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , por 24 horas. A diferença entre o peso do conjunto e o peso do cadinho vazio expressou a quantidade de fibra bruta na amostra (Vande Kamer & Van Ginkel, 1952).

**f) Amido**

A determinação do amido foi realizada segundo metodologia descrita por Somogy, adaptada anteriormente por Nelson (1944).

**g) Açúcares redutores e não redutores**

Os açúcares redutores e não redutores foram extraídos pelo método de Lane-Enyon (AOAC, 1990) e determinados pela técnica de Somogy, adaptada anteriormente por Nelson (1944). Foram pesados 5g de amostra, adicionaram-se 50mL de etanol 70%, seguido de neutralização com ácido acético glacial e, finalmente, completando-se o volume para 100mL. Em seguida, foi feita leitura de absorvância em espectrofotômetro a 510nm.

Para a determinação dos açúcares não redutores, foi realizada a hidrólise ácida da sacarose, acidificando o filtrado anterior com 0,5mL de ácido clorídrico concentrado. Em seguida, as amostras foram levadas para banho-maria fervente por 15 minutos e, posteriormente, neutralizadas em solução saturada de carbonato de sódio. Seguiu-se a desproteinização do extrato com água destilada, solução de hidróxido de bário 0,3N e solução de sulfato de zinco 5%. Os tubos foram agitados, filtrados e a leitura de absorvância feita a 510nm. A determinação dos açúcares não redutores foi realizada pela diferença entre valor

apresentado para açúcares totais e açúcares redutores, convertida para o valor real multiplicado pelo fator 0,95.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **5.1 Morfologia e anatomia das sementes**

Os frutos com endocarpo apresentam diâmetros variando de 13,96mm a 15,59mm, sendo estes de formato arredondado. Nota-se, nas sementes de *Calophyllum brasiliense*, a presença de uma polpa (exocarpo e mesocarpo) recobrimdo o endocarpo da semente, sendo a semente protegida por uma fina camada de tegumento, como ilustrado na Figura 1.

No endocarpo dos frutos de *Calophyllum brasiliense* nota-se a presença de uma densa e espessa camada de esclerênquima que pode estar atuando como barreira à retomada do crescimento do embrião durante a germinação das sementes. Anatomicamente, o endocarpo apresenta duas diferentes camadas, evidenciando grupos celulares: primeiro, constituído de células estreitas e longas em paliçada, sendo facilmente visível (Figura 2A, seta); o segundo grupo é formado por células de formato irregular, com paredes espessas e células bastante volumosas (Figura 2B).

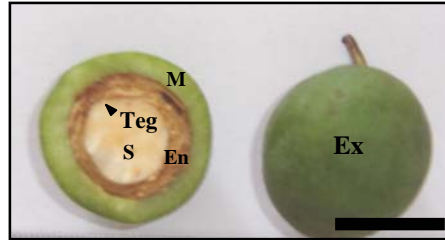


FIGURA 1. Aspecto do fruto de *Calophyllum brasiliense*, evidenciando exocarpo (Ex), mesocarpo (M), endocarpo (En), semente (S) e a seta representa o tegumento (Teg) da semente. Barra corresponde a 2cm. UFLA, Lavras, MG, 2006.

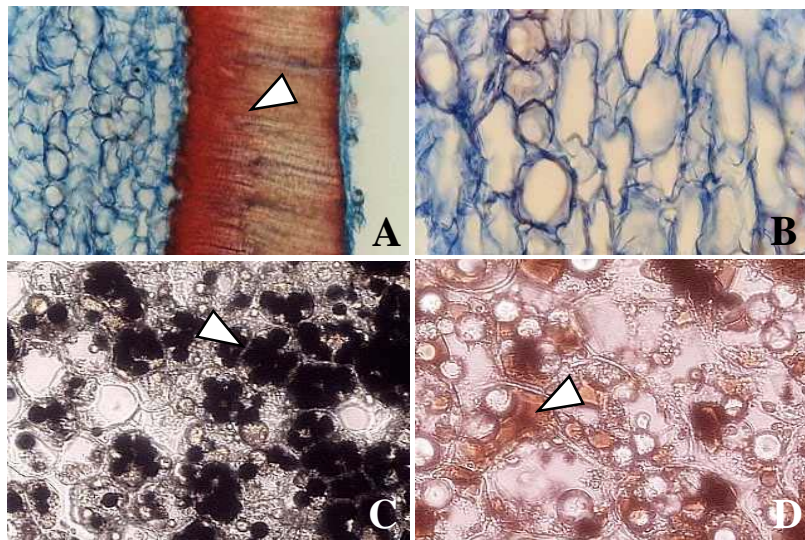


FIGURA 2. Fotomicrografia da seção transversal do endocarpo de *Calophyllum brasiliense*, evidenciando a densa camada de esclerênquima (A) (100X), aspecto das células do endocarpo (B) (200X) e tecido cotiledonar corado com Lugol (C) (400X) e Sudan III (D) (400X) evidenciando grãos de amido e gotículas de lipídeo, respectivamente. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Segundo Popinigis (1985), a embebição e as trocas gasosas de sementes com tegumento impermeável à água são impedidas devido à presença de uma camada de células paliçádicas com paredes espessas e recobertas por substâncias hidrófobas. Este fato também pode ser observado nas estruturas do endocarpo de frutos de *Calophyllum brasiliense* (Figura 2A e 2B), e o mesmo relatado por Melo et al. (2004) estudando anatomicamente o tegumento de *Hymenaea intermédia* (jatobá).

As células dos cotilédones são muito volumosas, com seus conteúdos ocupados por uma imensa massa de grãos de amido (Figura 2C), além da presença de gotículas de lipídeos (Figura 2D). Vieira (2005) encontrou nos cotilédones de sementes de *Cupania vernalis*, imensa massa de grãos de amido ocupando as células, como encontrado nos cotilédones de *Calophyllum brasiliense*.

Esses aspectos abordados refletem-se no processo de conservação das sementes e na propagação sexuada de uma determinada espécie, a qual depende de informações relacionadas às suas características estruturais provindas do desenvolvimento dos tecidos (Vieira, 2005).

## **5.2 Composição química de sementes**

Na Tabela 1 observa-se que as sementes maduras de *Calophyllum brasiliense* no momento da colheita contêm elevado conteúdo de água, aproximadamente 45,6%.

Pelos resultados encontrados, o embrião de *Calophyllum brasiliense* apresenta, aproximadamente, 24,5% de extrato etéreo (Tabela 1), possivelmente indicando ser uma espécie oleaginosa. Esse fato pode ser facilmente visualizado nas sementes que, quando postas a germinar, liberam uma goma-resina esverdeada. Observa-se, ainda, que as sementes de *Calophyllum brasiliense*

apresentam, como fonte de reserva, o amido, que compreende aproximadamente 10,6% dos constituintes da semente (Tabela 1). O teor de proteína bruta (N total) ficou próximo a 6,8% e os demais componentes da semente foram encontrados em valores inferiores.

O total de reservas disponíveis para uma plântula não é determinado somente pela massa da semente, mas também pela composição química da mesma. Embora os cotilédones sejam a estrutura mais conhecida, fazem parte dos tecidos de reserva, ainda, o endosperma e o perisperma. A variação entre as espécies na concentração de minerais é pequena se comparada à variação no tamanho das sementes, apesar da concentração de nutrientes estar relacionada ao peso das mesmas (Ferreira & Borghetti, 2004).

TABELA 1. Valores médios em base seca ( $\pm$  desvio padrão) dos constituintes das sementes de *Calophyllum brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

<b>Constituintes</b>	<b>Base Seca (%)</b>
Extrato etéreo	24,47 $\pm$ 0,85
Resíduo mineral fixo	2,13 $\pm$ 0,26
Proteína bruta	6,83 $\pm$ 0,25
Fibra bruta	3,34 $\pm$ 0,14
Amido	10,57 $\pm$ 1,02
Açúcar solúvel total	2,27 $\pm$ 0,05
Açúcar redutor	0,42 $\pm$ 0,01
Açúcar não redutor	1,76 $\pm$ 0,05

Quanto à composição química, Flores (2002) relatou, em seu trabalho, que a espécie *Calophyllum brasiliense*, proveniente da Costa Rica, apresenta um embrião completo, grande e bem desenvolvido, endocarpo e testa duros, tegumento delgado e macio, embrião completo e maciço, cotilédones maciço e

fundido, hipocótilo também maciço, radícula pequena e densa. O material de reserva se localiza nos cotilédones e o conteúdo de água se encontra principalmente, no embrião. As sementes contêm de 38% a 39% de lipídeos, 24% a 26% de carboidratos, 7% a 8% de proteína e 28% de teor de água.

Mourão & Beltrati (2001) relataram que a espécie *Vismia guianensis* (*Clusiaceae*) contém um embrião rico em material lipídico, semelhante ao encontrado para *Calophyllum brasiliense*, em que o componente principal da fração extrato etéreo é o lipídeo.

É importante ressaltar que as sementes oleaginosas apresentam menor potencial de armazenamento que as amiláceas, devido à menor estabilidade química dos lipídios em relação ao amido; a temperatura necessária para a degradação do amido é mais elevada que a responsável pelos mesmos efeitos em oleaginosas. Nestas, uma elevação moderada da temperatura, como conseqüência do processo respiratório, é suficiente para a decomposição dos lipídios e a elevação da taxa de deterioração. Por esse motivo, as sementes oleaginosas devem ser armazenadas com grau de umidade inferior ao recomendado para as amiláceas. O teor elevado de proteínas também pode contribuir para a redução do potencial de armazenamento, devido à elevada afinidade dessa substância com a água (Marcos Filho, 2005).

Flores (2002) relata, ainda, que as sementes de *Calophyllum brasiliense* apresentam viabilidade por dois meses em casa-de-vegetação ou condições de laboratório nos trópicos (alta umidade e temperatura variando de 24°C a 30°C). A radícula é o primeiro órgão a ser afetado pela desidratação, seguido do embrião rudimentar, que desidrata e perde rapidamente a viabilidade.

Para sementes de *Calophyllum brasiliense*, a protusão da radícula ocorre entre 18 a 20 dias, com um insignificante desenvolvimento dos cotilédones aos 24 dias. O desenvolvimento da plúmula e do hipocótilo ocorre aos 28 e 26 dias, respectivamente. A germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense* é do

tipo hipógea, com emergência vertical ereta e plântula criptocotiledonar (Flores, 2002; Carvalho, 1994).

As fases da germinação são ilustradas na Figura 3. A embebição das sementes só foi possível por meio da remoção do endocarpo. Esse tipo de barreira constitui um sério problema que afeta a germinação e a homogeneidade das plântulas e está relacionado ao tempo de formação das mudas. O mesmo fato pode ser observado por Vieira (2005) com a remoção do tegumento das sementes da espécie *Cupania vernalis*.

A germinação é iniciada com a hidratação dos cotilédones e eixo embrionário. A protrusão ocorre no segundo dia de embebição após a remoção do endocarpo. Inicialmente, a raiz primária apresenta-se cônica, reta, de cor clara e, à medida que ocorre o alongamento e a diferenciação celular, adquire cor marrom-amarelada.

O hipocótilo é cilíndrico, espesso, curto e de coloração marrom. Os cotilédones, inicialmente, são de cor amarelo-claro. À medida que vai ocorrendo a formação da plântula, tornam-se de cor esverdeada, são espessos, de forma curta e peciolados, côncavo-convexos com formato ovado; o epicótilo é bem pouco desenvolvido, de forma clorofilada.

A plântula apresenta sistema radicular pivotante, com raiz primária axial, sublenhosa, mais espessa na base e afilada no ápice; coifa cilíndrica, castanho-clara, raízes secundárias longas, com poucas ramificações. As plântulas de *Calophyllum brasiliense* possuem sistema radicular axial e ramificam-se secundariamente 30 dias após a germinação, sendo, ainda, caracterizadas do tipo criptocotiledonar, ou seja, permanece com os cotilédones nos restos seminiais, encerrados no solo. O colo ou coleto é visível pela diferença de cor entre o hipocótilo clorofilado e a raiz aclorofilada. O primeiro par de folíolos completamente expandidos foi observado aos sessenta dias após a germinação, com filotaxia alterna-helicoidal.



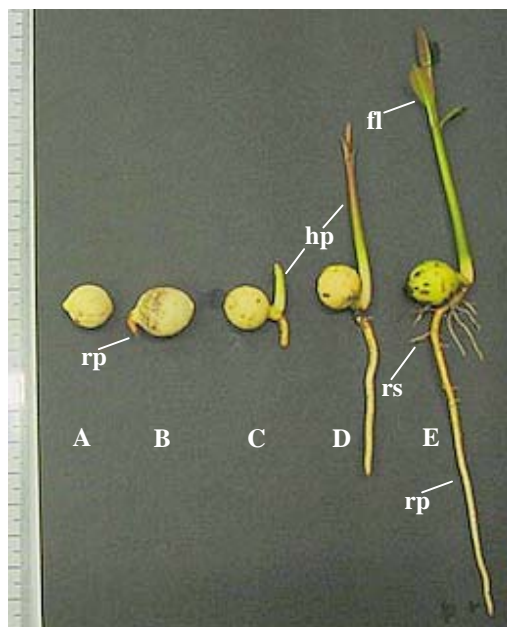


FIGURA 3. Representação esquemática das fases da germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense* até o estágio de plântula. **A** – emergência da raiz primária, **B** – alongamento da raiz primária, **C-D** – alongamento do hipocótilo e emissão das raízes secundárias, **E** – folíolos expandidos. **rp** – raiz primária, **hp** – hipocótilo, **fl** – folíolo, **rs** – raiz secundária. UFLA, Lavras, MG, 2006.

## 6 CONCLUSÕES

*Calophyllum brasiliense* contém aproximadamente, na sua composição química: 45,6% de grau de umidade, 24,5% de extrato etéreo, 10,6% de teor de amido, 6,8% de proteína bruta, 3,3% de fibra bruta, 2,1% de resíduo mineral fixo, 2,3% de açúcar solúvel total, 1,8% de açúcar não redutor e 0,42% de açúcar redutor.

É observada a presença de amido e gotículas de lipídeo nos cotilédones das sementes de *Calophyllum brasiliense*.

A germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense* é do tipo hipógea, sendo a plântula criptocotiledonar.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artemd, 2004. 323p.

FLORES, E.M. *Calophyllum brasiliense* Cambess. In: VOZZO, J.A. (Ed.). **Tropical tree seed manual**. Washington, USDA Forest Service, 2002. p.353-356. (Agriculture Handbook, 721).

JOHANSEN, D. A . **Plant microtechnique**. 2.ed. Bombay: Tata McGraw-Hill Book, 1940.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR. 1997. 198 p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352 p.

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

MELO, M. da G. G. de; MENDONÇA, M. S. de; MENDES, A. M. da S.. Análise morfológica de sementes, germinação e plântulas de jatobá (*Hymenaea intermedia* Ducke var. *adenotricha* (Ducke) Lee & Lang.) (Leguminosae-caesalpinioideae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, 2004, p. 9-14.

MOURÃO, K. S. M.; BELTRATI, C. M. Morphology and anatomy of developing fruits and seeds of *Vismia guianensis* (AUBL.) Choisy (Clusiaceae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.61, n.1, São Carlos, Feb. 2001.

NAKAGAWA, J. et al. Efeitos de adubos fosfatados e de métodos de aplicação na cultura do amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.12, n.3, p.28-39, 1990.

NELSON, N. A. Photometric adaptation of somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemists**, Baltimore, v. 153, n. 1, p. 375-384, 1944.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

VANDE KAMER, S.B.; VAN GINKEL, L. Rapid determination of crude fiber in cereals. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v.19, n.4, p. 239-251, July/Aug. 1952.

VIEIRA, C. V. **Sensibilidade à dessecação, armazenamento, germinação e morfofologia de sementes de *Cupania vernalis* Camb.** 2005. 65 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG.

### **CAPÍTULO III**

#### **EFEITO DA TEMPERATURA E SECAGEM NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Calophyllum brasiliense* Cambess.**

## 1 RESUMO

NERY, Fernanda Carlota. Efeito da temperatura e secagem na germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess. In:\_\_\_\_\_. **Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Cap. 3, p. 63-96. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

*Calophyllum brasiliense* é uma espécie clímax que apresenta regeneração abundante na sombra, sendo também de ampla dispersão, ocorrendo desde a região Amazônica até o norte de Santa Catarina e resistindo a solos encharcados. Neste trabalho, objetivou-se estudar o comportamento da embebição das sementes, assim como a temperatura ótima da germinação e o efeito da secagem destas. A germinação foi realizada em rolos de papel, com quatro repetições de 25 sementes, obedecendo a um delineamento inteiramente casualizado. A secagem das sementes foi realizada em estufa de circulação de ar, a 35°C. Os resultados da curva de embebição demonstraram que o endocarpo constitui impedimento para a absorção de água pela semente. Quanto à temperatura, foi observado uma maior percentagem de germinabilidade a 30°C e 30°C/20°C, maior índice de velocidade de germinação (IVG) também foi a 30°C. As sementes incubadas a 10°C, 15°C e 40°C não germinaram. Menores valores de tempos médio de germinação foram a 30°C, 30°C/20°C e 35°C. Não foram verificadas diferenças significativas quanto à germinabilidade das sementes com e sem tegumento, porém, o tegumento reduziu a velocidade de germinação. Os resultados quanto à secagem das sementes demonstraram que a redução do grau de umidade de 46,43% a 28,18% não afetou a germinabilidade, sendo o grau de umidade crítico de 20,9%. Sementes a 8,84% de grau de umidade apresentaram 14% de germinabilidade, demonstrando que as sementes de *Calophyllum brasiliense* são sensíveis à dessecação.

---

\* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Dr. Renato Paiva – UFLA.

## 2 ABSTRACT

NERY, Fernanda Carlota. Effect of temperature and drying on seed germination of *Calophyllum brasiliense* Cambess. In:\_\_\_\_\_. **Aspects of germination, storage of seeds, initial growth and anatomy of young plants of *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Chap. 3, p. 63-96. Dissertation (Master Program in Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Calophyllum brasiliense* is a climax specie that show abundant regeneration on shading, also showing broad dispersion, occurring from Amazonic region to north of Santa Catarina and it is resistant to soil flooding. This research aimed to study the alterations in seed imbibition, as well as the optimum germination temperature and the effect of drying in this process. The germination was realized in paper rolls, with four replicates of 25 seeds, disposed in full randomized design. The drying of seeds was made at 35°C. The results of imbibition curve showed that endocarp has as hindrance for the water absorption by seed. In relation to temperature, it was observed a higher germination percentage at 30°C and 30°C/20°C, higher speed germination index (IVG) that was also at 30°C. The seeds incubated at 10°C, 15°C and 40°C did not germinate. The lowest values of germination mean time was at 30°C, 30°C/20°C and 35°C. There were not verified the significative difference in relation to seed germination with and without tegument, although the tegument reduced the germination speed. In relation to seed drying the results showed that the reduction in moisture content from 46,43% to 28,18% did not affect the germination, being the critical moisture content of 20,9%. Seeds with 88,4% of moisture content showed 14% of germination, showing that the seeds of *Calophyllum brasiliense* are very sensitive to desiccation.

---

\* Guidance Committee: Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Renato Paiva – UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

A espécie *Calophyllum brasiliense* é uma espécie clímax que apresenta regeneração abundante na sombra, sendo também uma espécie de ampla dispersão. Seus frutos são muito procurados pela fauna (tucanos, veados e morcegos), seus principais dispersores; além de serem disseminados por hidrocoria (levados pelas águas pluviais e fluviais). A espécie é indicada, principalmente, para a reposição de mata ciliar em locais sujeitos a inundações periódicas de média a longa duração, bem como em solo encharcado por períodos que variam entre três a quatro meses anualmente (Tropical flora reflorestadora..., 2004). A casca e o látex do guanandi são usados na medicina popular e na veterinária (Carvalho, 1994).

O Brasil está entre os países que mais devastam o meio ambiente e os recursos naturais. Situa-se também entre os países com maior diversidade biológica do mundo e, ao mesmo tempo, uma das menos estudadas. Tornam-se, por isso, urgentes os estudos para o conhecimento e preservação da sua flora e fauna. No caso particular da germinação das sementes, algumas informações fragmentadas existem para os ecossistemas brasileiros, mas, muito pouco, ao se considerar o potencial biológico que existe para ser descoberto (Borghetti, 2000).

O termo germinação exhibe diferentes conceitos, em função do campo de investigação. O critério botânico, bastante utilizado, considera germinadas as sementes em que uma das partes do embrião emergiu de dentro dos envoltórios. Sabe-se, contudo, que a saída de uma porção do embrião para fora da semente representa, na verdade, o final da germinação. Esta teria se iniciado durante a embebição. Durante este período de hidratação, ocorre a ativação de diversas enzimas, a atividade respiratória eleva-se significativamente e o metabolismo aumenta gradativamente (Laboriau, 1983; Bewley & Black, 1994).

Por ser considerada uma fase crítica no contexto geral do desenvolvimento vegetal, inúmeros estudos têm sido conduzidos, abrangendo os mais diferentes aspectos ligados à fisiologia e à bioquímica da germinação, associados a dormência, temperatura, luz e reguladores de crescimento (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1982; Labouriau et al., 1995; Bewley & Black, 1994; Hermansen et al., 2000; Pandey et al., 2000; Naidu et al., 2000; Patané, 2000).

Assim como qualquer ser vivo, a temperatura afeta o metabolismo das sementes. Os estudos desenvolvidos por Laboriau e colaboradores, citados por Borghetti (2000), mostraram que, assim como para qualquer outro processo fisiológico, existem temperaturas limitantes e temperaturas ótimas para a germinação. Relataram que, para cada espécie, existem temperaturas abaixo das quais a germinação não ocorre (temperatura mínima), temperaturas acima das quais também não ocorre a germinação (temperatura máxima) e um intervalo de temperatura na qual a velocidade de germinação é máxima (temperatura ótima).

Quanto à temperatura, inúmeros trabalhos têm mostrado ser esta uma entre os responsáveis não somente pela velocidade de germinação como também pelo percentual final de germinação. Godoi & Takaki (1996), trabalhando com *Cecropia hololeuca* Miq (*Cecropiaceae*), observaram que as sementes apresentaram maior percentagem final de germinação a 25°C, tendo, em temperaturas superiores a 35°C e inferiores a 25°C, inibindo a germinação. Em duas espécies de *Albizia* temperaturas de 20°C e 25°C proporcionaram maiores percentagens e velocidade de germinação (Tigabu & Oden, 2001).

Estudando o efeito da temperatura na germinação de sementes de *Maquira sclerophylla*, Miranda & Ferraz (1999) observaram que a protrusão da radícula ocorreu em temperaturas na faixa de 15°C a 35°C, porém, o desenvolvimento da plântula normal foi observado somente entre 20°C e 30°C. Os autores concluíram que 30°C seria a temperatura ótima para a germinação



das sementes, atingindo um máximo de 92% e maior índice de velocidade de germinação (IVG).

Existem lotes ou sementes que germinam (ou emergem) mais rapidamente (em geral, mais vigorosas) e outras cuja germinação é mais lenta. Para estas situações, existem medidas que quantificam a germinação sob ponto de vista cinético, isto é, informam quanto tempo foi necessário para determinado lote de sementes germinar. Um parâmetro bastante utilizado é o tempo médio de germinação. Essa informação é expressa, comumente, em horas ou dias (Ferreira & Borghetti, 2004).

Dessa forma, as sementes apresentam comportamentos na germinação bastante distintos, em função da espécie e das condições climáticas predominantes (Mayber & Poljakoff-Mayber, 1982; Vasquez-Yanes & Oroscó-Segóvia, 1987; Laura, Alvarenga & Arrigoni, 1994; Benvenuti et al., 2001; Castelani & Aguiar, 2001; Tigabu & Oden, 2001; Rajput & Tiwari, 2001), diferenças estas adaptativas para a espécie no sentido de prover um conjunto heterogêneo de sementes.

Nesse sentido, as características de germinação de espécies nativas constituem um tema fundamental a ser investigado em profundidade, tanto para se compreender a dinâmica de populações e comunidades vegetais, como para programas de reflorestamento de áreas perturbadas e manejo de ecossistemas (Borghetti, 2000).

Diante do exposto, neste trabalho objetivou-se estudar as respostas das sementes de *Calophyllum brasiliense* a fatores como embebição, regimes térmicos e secagem de sementes.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Considerações gerais

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, MG.

Os frutos maduros de *Calophyllum brasiliense* foram coletados na época de dispersão, no período de agosto a outubro de 2004, em árvores matrizes localizadas no município de Carrancas, MG, próximo às margens da cachoeira conhecida como “Cachoeira da Zilda”. Posteriormente, os frutos foram despolpados em laboratório e analisados quanto à germinação e ao vigor.

### 4.2 Curva de embebição

Foram utilizados lotes de sementes intactas e escarificadas (endocarpo e tegumento retirados manualmente). As sementes foram divididas em três amostras de 10 sementes cada e colocadas em rolo de papel germtest umedecido com água destilada (2,5 vezes o peso do papel) e, em seguida, transferidas para a câmara de germinação, a uma temperatura de  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , na ausência de luz, e pré-tratadas com solução de Benomyl a 0,1%. A primeira pesagem foi realizada com as sementes secas e as demais durante o início do processo de embebição. Nas primeiras 12 horas de embebição, foram realizadas pesagens a cada 30 minutos e, nas 12 horas subsequentes, as pesagens foram realizadas de hora em hora e, posteriormente, a cada três horas.

A porcentagem de incremento sobre a massa fresca inicial foi calculada por meio da expressão:

$$\% \text{ de incremento sobre a massa fresca inicial (MFI)} = \frac{\text{MFU} - \text{MFI}}{\text{MFI}} \times 100$$

em que:

MFU = massa fresca úmida

MFI = massa fresca inicial

### **4.3 Efeito da temperatura**

Sementes escarificadas (endocarpo e tegumento retirados manualmente) foram submetidas a diferentes regimes térmicos para germinação de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C e 40°C (constantes) e 25°C/15°C e 30°C/20°C (alternadas), na ausência de luz. O substrato utilizado foi o rolo de papel germtest umedecido com água destilada (2,5 vezes o peso do papel), colocado em béqueres de 250mL contendo 50mL de água e cobertos com sacos plásticos para uniformizar a umidade no meio de germinação. Foram utilizadas câmaras de germinação do tipo B.O.D. com umidade relativa de aproximadamente 100% (Brasil, 1992). As sementes foram pré-tratadas com solução de Benomyl a 0,1%. As avaliações de germinação foram realizadas diariamente, utilizando-se, como parâmetro de germinação, a protrusão da radícula e emissão do hipocótilo a  $\pm$  5mm.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi conduzido juntamente com o teste de germinação, sendo as avaliações realizadas diariamente a partir da protrusão da radícula. Para o cálculo do IVG foi empregada a equação proposta por Maguire (1962).

O tempo médio de germinação foi calculado segundo a expressão proposta por Santana & Ranal (2004):

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^k n_i t_i}{\sum_{i=1}^k n_i}$$

em que:

$t_i$ : tempo entre o início do experimento e a  $i$ -ésima observação (dia ou hora);

$n_i$ : número de sementes que germinam no tempo  $t_i$  (não o número acumulado, mas, o número referido para a  $i$ -ésima observação);

$k$ : último dia da observação.

#### 4.4 Efeito da temperatura nas sementes com e sem tegumento

Sementes com e sem tegumento foram submetidas às temperaturas constantes de 20°C; 25°C e 30°C, na ausência de luz. O substrato utilizado foi o rolo de papel germtest umedecido com água destilada (2,5 vezes o peso do papel), colocado em béqueres de 250mL contendo 50mL de água e cobertos com sacos plásticos para uniformizar a umidade no meio de germinação. Foram utilizadas câmaras de germinação do tipo B.O.D. com umidade relativa de aproximadamente 100% (Brasil, 1992). As sementes foram pré-tratadas com solução de Benomyl a 0,1%. As avaliações de germinação foram realizadas diariamente, utilizando-se, como parâmetro de germinação, a protrusão da radícula e emissão do hipocótilo a  $\pm 5$ mm. Foram calculados o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação como descritos anteriormente.

#### 4.5 Verificação de ponto crítico de secagem das sementes

Após os frutos serem despolidos em laboratório, determinou-se a umidade inicial das sementes por meio do método de estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , por 24 horas (Brasil, 1992), utilizando três repetições de 10 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem e calculados com base no peso úmido. Em seguida, procedeu-se o abaixamento do grau de umidade de 46% até 10% em estufa de ventilação regulada para  $35^\circ\text{C}$  constante. Foram realizados testes de germinação, quando as sementes submetidas à secagem atingiram as respectivas umidades: 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15% e 10%. Os graus de umidade das sementes verificados após a determinação inicial foram avaliados por pesos por meio da equação descrita por Cromarty et al. (1985):

$$P_f = P_i (100 - U_i) \times (100 - U_f)^{-1},$$

em que:

$P_f$  = Peso da amostra (g) após a secagem;

$P_i$  = Peso da amostra (g) antes da secagem;

$U_i$  = Grau de umidade (%) antes da secagem;

$U_f$  = Grau de umidade (%) desejado após a secagem.

Após isso, as sementes tiveram seus endocarpos retirados e realizado o teste de germinação em 4 repetições de 25 sementes, o substrato utilizado foi o rolo de papel germtest. A germinação foi conduzida a uma temperatura de  $30^\circ\text{C}$ , na ausência de luz, em câmaras de germinação modelo B.O.D. 347 Fanem ou Eletrolab. As avaliações foram efetuadas computando-se a protrusão da radícula e emissão do hipocótilo a  $\pm 5\text{mm}$ .

Foi também determinado o grau de umidade exato das sementes utilizando estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , por 24 horas, com três repetições de 10 sementes

(Brasil, 1992), obtendo os valores de graus de umidade de: 46,43%, 37,05%, 31,84%, 28,18%, 20,9%, 13,08%, 11,85% e 8,84%.

#### **4.6 Análise estatística**

Os ensaios foram conduzidos seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado.

Os dados foram previamente submetidos aos testes de normalidade dos resíduos e homocedaticidade das variâncias, propiciados pela probabilidade do teste de Levene a 5%. Os dados obtidos foram ainda submetidos à análise estatística descritiva e analisados pelo software estatístico SAS® (*SAS INSTITUTE SAS/STAT*, 1990). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **5.1 Curva de embebição**

A embebição foi realizada com sementes intactas e escarificadas, permitindo a construção de uma curva (Figura 1).

O comportamento da embebição de uma semente constitui um importante procedimento técnico para auxiliar na identificação da especificidade de dormência, sobretudo, quando associada à dureza e à impermeabilidade de tegumento (Almeida, 2001). O processo de absorção de água pelas sementes evolui de acordo com o padrão trifásico, proposto por Bewley & Black (1978), sendo a Fase I, caracterizada pela rápida transferência de água do substrato para a semente, graças à diferença acentuada entre os potenciais hídricos. Tanto nas

sementes intactas como nas escarificadas, essa primeira fase de captação de água ocorreu durante as primeiras 17 horas, para as sementes intactas a embebição neste período ocorreu pelo endocarpo (Figura 1). Nesta fase, surgem os primeiros sinais de reativação do metabolismo, com aumento acentuado da atividade respiratória e liberação de energia para a germinação, ativação de enzimas e síntese de proteínas a partir do RNAm armazenado ao final do processo de maturação.

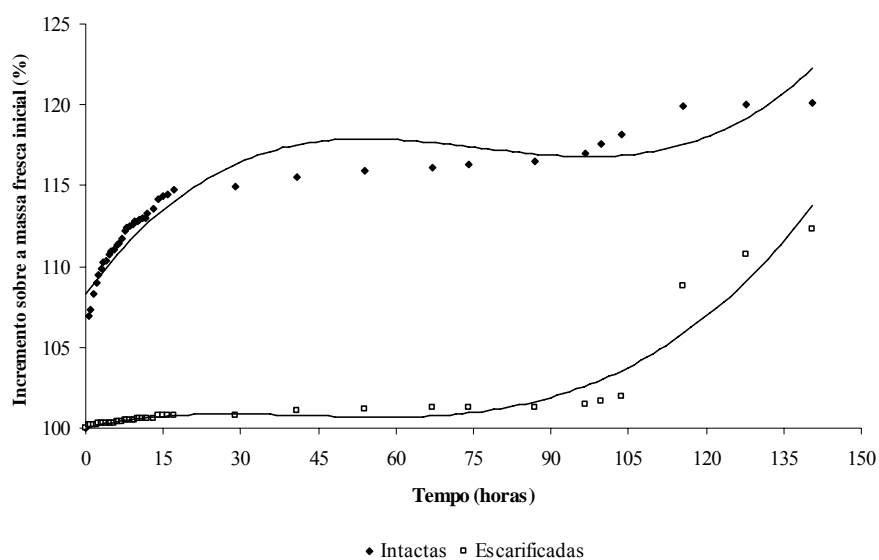
Lima Júnior (2004), estudando sementes de *Cupania vernalis* com e sem tegumento, verificou que a maior velocidade de absorção de água ocorreu nas primeiras 25 horas de embebição.

As reduções drásticas da velocidade de hidratação e da intensidade de respiração caracterizam a Fase II. Nas sementes escarificadas, a Fase II, aparentemente, durou 90 horas. Pela Figura 2, nota-se, ainda, que para as sementes intactas o processo de embebição iniciou-se a partir de 90 horas, ocorrendo anteriormente embebição de água somente pelo endocarpo. Esta fase, caracterizada por atividades constituintes do processo bioquímico preparatório, é necessária para a síntese de enzimas, de DNA e de RNAm, exauridos durante a Fase I (Marcos Filho, 2005).

O início da Fase III, tornando visível a retomada de crescimento do embrião, foi identificada pela protrusão da raiz primária. Verificou-se, ao longo do período de observação, um retardamento na absorção de água em sementes intactas em relação às sementes escarificadas, não sendo observado a ocorrência da Fase III, provavelmente, devido ao fato do endocarpo promover uma redução na velocidade de embebição. Nas sementes escarificadas, notou-se que o ganho de massa acelerou-se a partir de 105 horas, correspondente ao início desta fase (Figura 1).

Almeida (2001) observou, para a espécie *Cryptocarya aschersoniana* Mez., que os diásporos escarificados apresentaram um ganho contínuo e

constante de água, não havendo, no entanto, estabilização da embebição em nenhuma fase. Este autor relatou que, nos diásporos intactos, o endosperma pode apresentar uma possível barreira à continuidade do processo de embebição e, conseqüentemente, impedindo, assim, a retomada do crescimento do embrião da espécie *Cryptocarya aschersoniana*, com conseqüente redução ou inibição da germinação.



$$\begin{aligned} \text{Intactas} &= 3\text{E-}05x^3 - 0,0063x^2 + 0,436x + 108,27; R^2 = 0,8134 \\ \text{Escarificadas} &= 1\text{E-}05x^3 - 0,0019x^2 + 0,0711x + 100,04; R^2 = 0,9315 \end{aligned}$$

FIGURA 1. Incremento em relação à massa fresca inicial (%) de sementes de *Calophyllum brasiliense* intactas e escarificadas ao longo do período de embebição. UFLA, Lavras, MG, 2006.



## 5.2 Efeito da temperatura

As sementes de *Calophyllum brasiliense* foram submetidas a diferentes regimes térmicos. Em uma análise preliminar pode-se constatar que os níveis de temperatura 10°C, 15°C e 40°C apresentaram respostas nulas para os níveis de porcentagem de germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (Tm) (Figura 2). Sementes a 10°C e 15°C não germinaram por estarem abaixo da temperatura mínima para a germinação da espécie. Após 30 dias as sementes que estavam a 10°C e 15°C foram transferidas para a temperatura de 30°C, atingindo valores de 53% e 65% de germinabilidade e índice de velocidade de germinação de 0,59 e 0,84, respectivamente. As sementes submetidas a 40°C apresentaram-se mortas, por estarem acima da temperatura máxima para a germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense*.

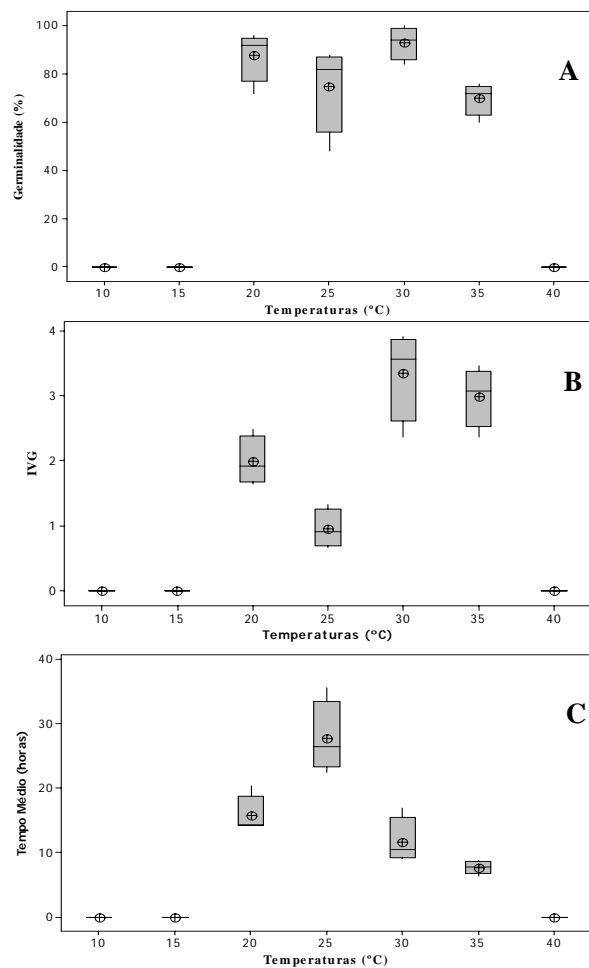


FIGURA 2. Box Plot para a germinabilidade (%) (A), IVG (B) e tempo médio de germinação (horas) (C) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Carvalho et al. (2001), investigando o efeito da temperatura na germinação de *Sesamum indicum*, observaram que, sementes incubadas à temperatura próxima ou abaixo da temperatura mínima (12,8°C e 13,2°C) e

próxima ou acima da temperatura máxima (45,5°C e 46°C), são transferidas para 30°C, aquelas submetidas a baixas temperaturas atingiram germinabilidade elevada. Por outro lado, quanto maior a temperatura de pré-incubação acima da temperatura máxima, menor a germinabilidade alcançada. Baixas temperaturas podem não somente reduzir a porcentagem de germinação, como também retardar o processo, devido à redução das atividades enzimáticas envolvidas no metabolismo da semente (Simon et al. 1976; Bewley & Black, 1994).

Lima et al. (1997), estudando sementes da espécie nativa *Enterolobium contortisiliquum*, verificaram uma típica curva de germinação, em que a germinabilidade é máxima dentro de uma faixa de temperatura (entre 18,2°C a 38,8°C), decrescendo conforme as temperaturas tornam-se mais extremas, até os limites mínimo (10,9°C a 11,9°C) e máximo (40,9°C a 42,4°C). Além desta faixa de temperatura, a germinação não mais ocorre. Por meio de uma aproximação termodinâmica, demonstrou-se que este comportamento temperatura-dependente apresentado pelas sementes reflete, entre outros fatores, a atividade de enzimas (Marcos Filho, 2005).

Assumindo que as sementes correspondem a um conjunto organizado de células cujo metabolismo depende essencialmente da atividade acoplada de diversas enzimas, seria esperado que, em determinadas temperaturas, a inativação de proteínas ocasionada por temperaturas extremas resultaria em um descompasso metabólico que comprometeria a germinação (Marcos Filho, 2005), isto pode, possivelmente, explicar a não germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense* submetidas a 40°C.

Sendo assim, procurou-se estudar o efeito dos demais regimes térmicos sobre a germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense*. Observa-se na Tabela 1 que as sementes escarificadas exibiram porcentagem de germinabilidade superior nas temperaturas 30°C (constante) e 30°C/20°C (alternada), na ausência de luz. Nota-se uma variação de 70% a 96% de

germinabilidade entre os tratamentos estudados, sendo os valores inferiores de percentagens de germinabilidade encontrados para as temperaturas de 35°C (constante) e 25°C/15°C (alternada).

Para os resultados de índice de velocidade de germinação (IVG) valor superior foi encontrado para a temperatura de 30°C (constante), mostrando que as sementes submetidas a este tratamento apresentam maior vigor, tendo os valores inferiores sidos encontrados para as temperaturas de 25°C e 25°C/15°C (Tabela 1).

Para o tempo médio de germinação valores inferiores foram apresentados por sementes submetidas às temperaturas 30°C e 30°C/20°C (alternada), embora à 35°C as sementes também apresentaram menor valor de tempo médio. Segundo Ferreira & Borghetti (2004), as medidas de tempo médio de germinação podem ajudar a inferir que a germinação rápida é característica de espécies cuja estratégia é se estabelecer no ambiente o mais rápido possível ou quando oportuno, aproveitando condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento do novo indivíduo.

TABELA 1. Valores médios de germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (Tm) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes regimes térmicos. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Temperaturas	Germinabilidade (%)	IVG	Tm (dias)
20°C	88,00 ab	1,98 d	15,82 c
25°C	75,00 bc	0,94 e	27,79 a
30°C	93,00 a	3,35 a	11,74 d
35°C	70,00 c	2,99 ab	7,73 d
25°C/15°C	70,00 c	1,21 e	20,45 b
30°C/20°C	96,00 a	2,82 bc	9,61 d

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

O requerimento por temperaturas alternadas, apresentado por diversas sementes, sugere que grande parte destas permanecerá dormente em solos cuja variação diária da temperatura for pequena (como em ambientes sombreados), mas, germinarão em áreas abertas e ensolaradas ou quando a energia luminosa conseguir atravessar o dossel e chegar ao solo da mata (Borghetti, 2000).

Segundo Bewley & Black (1994), sementes de diferentes espécies apresentam grande variação no comportamento quanto à temperatura, apresentando uma faixa ótima, situada entre as temperaturas da época propícia à germinação no hábitat natural (Baskin & Baskin, 1992; Teketay, 1998; Villalobos & Pelàez, 2001). A variabilidade de respostas quanto ao requerimento de temperatura é um reflexo da adaptação das espécies ao ambiente de ocorrência (Thompson, 1970). Essa resposta é de origem genética, porém, a plasticidade fenotípica permite a germinação e o estabelecimento da plântula em diversas condições ambientais (Thompson, 1974; Maluf & Martins, 1991).

Valeri et al. (2003), estudando o efeito do beneficiamento sobre a germinação e o vigor de sementes de *Calophyllum brasiliense* relataram que sementes de frutos grandes e pequenos não apresentaram germinação quando intactos e que a maior germinação pôde ser observada em sementes nuas de

frutos grandes, sob fotoperíodo de oito horas e temperatura alternada de 30°C/20°C.

Pelo gráfico da Figura 3 nota-se um sincronismo na germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense*. De modo geral, o sincronismo é menor sob temperaturas extremas e tende a ser maior quanto mais próxima a temperatura de incubação estiver na faixa ótima para a germinação (Ferreira & Borghetti, 2004). Pelos resultados obtidos, nota-se uma germinação mais sincronizada sob temperatura de 30°C (constante), na qual as sementes apresentaram um padrão normal, enquanto que, nos demais tratamentos, observa-se perda de sincronia no controle do processo.

Verifica-se, ainda, que o tempo de germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense* foi, em média, de 60 dias para atingir uma máxima germinação, a qual é consideravelmente lenta, devido às sementes apresentarem também uma embebição relativamente lenta.

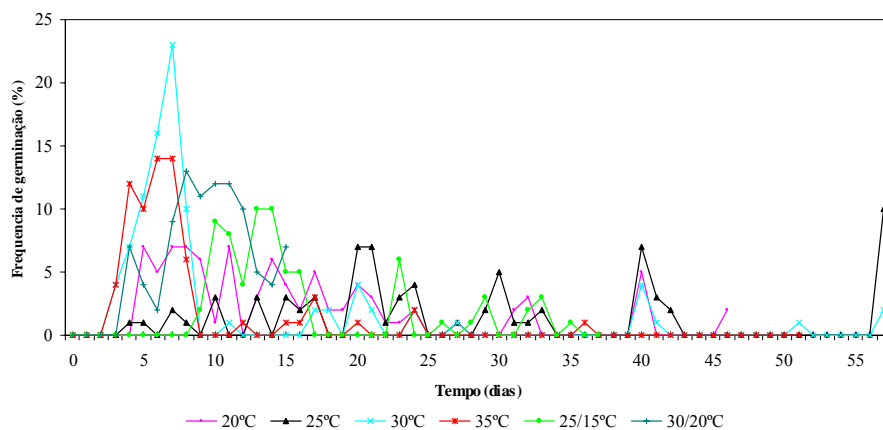


FIGURA 3. Frequência de germinação (%) de sementes *Calophyllum brasiliense* ao longo do tempo, para os diferentes regimes térmicos (dados não-acumulados). UFLA, Lavras, MG, 2006.

### 5.3 Efeito da temperatura nas sementes com e sem tegumento

Comparando a percentagem final de germinação das sementes com e sem tegumento (Figura 4), pode-se verificar que a presença do tegumento não reduziu a germinação das sementes de *Calophyllum brasiliense*, não apresentando diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

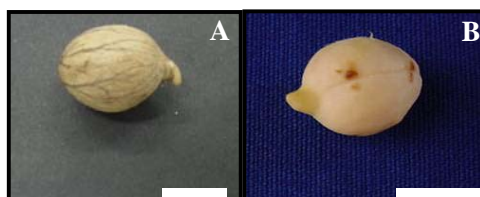


FIGURA 4. Aspecto da semente com tegumento (A) e sem tegumento (B) germinando, respectivamente. Barra corresponde a 1cm. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Quanto ao IVG, nas sementes com tegumento não foram verificadas diferenças significativas entre as temperaturas e, no tratamento sem tegumento, valores superiores de IVG foram encontrados para sementes submetidas a 30°C. Não foram verificadas diferenças significativas nas sementes a 25°C, com e sem tegumento e valores superiores de IVG foram obtidos pelas sementes a 20°C e 30°C, ambas sem tegumento, demonstrando assim que o tegumento, possivelmente, constitui impedimento a embebição de água pela semente. (Tabela 2).

Para o tempo médio de germinação, nas sementes com tegumento, não foram verificadas diferenças significativas entre as temperaturas, enquanto que nas sementes sem tegumento, valor superior foi obtido pelas sementes submetidas a 25°C. Nas demais temperaturas, não apresentaram diferenças significativas. Não foram verificadas diferenças significativas para as sementes a 25°C com e sem tegumento e as sementes submetidas a 20°C e 30°C, ambas com tegumento, apresentaram valores superiores às sementes sem tegumento (Tabela 2).

Lima Júnior (2004) relatou, para a espécie de *Cupania vernalis*, que sementes sem tegumento exibiram um percentual germinativo próximo ao máximo quando comparadas com as sementes intactas. Almeida (2001) não observou qualquer germinação nos diásporos intactos de *Cryptocarya aschersoniana*; apenas aqueles que foram escarificados apresentaram germinação aos 28 dias de avaliação, inferindo que a retirada do endosperma destes diásporos constitui fator essencial para a sua germinação.



TABELA 2. Valores médios de germinabilidade, índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense*, com e sem tegumento, submetidas a diferentes temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Temperaturas	Germinabilidade (%)	
	Com tegumento	Sem tegumento
20°C	92 aA	88 aA
25°C	89 aA	75 aA
30°C	84 aA	93 aA
	IVG	
20°C	0,99 aB	1,99 bA
25°C	1,00 aA	0,95 cA
30°C	0,81 aB	3,35 aA
	Tempo médio (dias)	
20°C	33,46 aA	15,82 bB
25°C	28,15 aA	27,79 aA
30°C	30,62 aA	11,74 bB

\*Letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, dentro de cada fator, não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

#### 5.4 Verificação do ponto crítico de secagem das sementes

Sementes de *Calophyllum brasiliense* apresentaram grau de umidade inicial de 46,43%, com conseqüentes respostas à perda de água durante a dessecação, caracterizando alguns pontos distintos de forma significativa entre os tratamentos.

Inicialmente, realizou-se uma análise exploratória no estudo da sensibilidade à dessecação de sementes de *Calophyllum brasiliense* por meio dos gráficos Box-Plot, como pode ser observado na Figura 5. As sementes com grau de umidade de 28,18% apresentaram uma variabilidade maior em relação aos demais tratamentos. Este fato também é notório para o grau de umidade de 20,9% observado para o índice de velocidade de germinação (IVG).

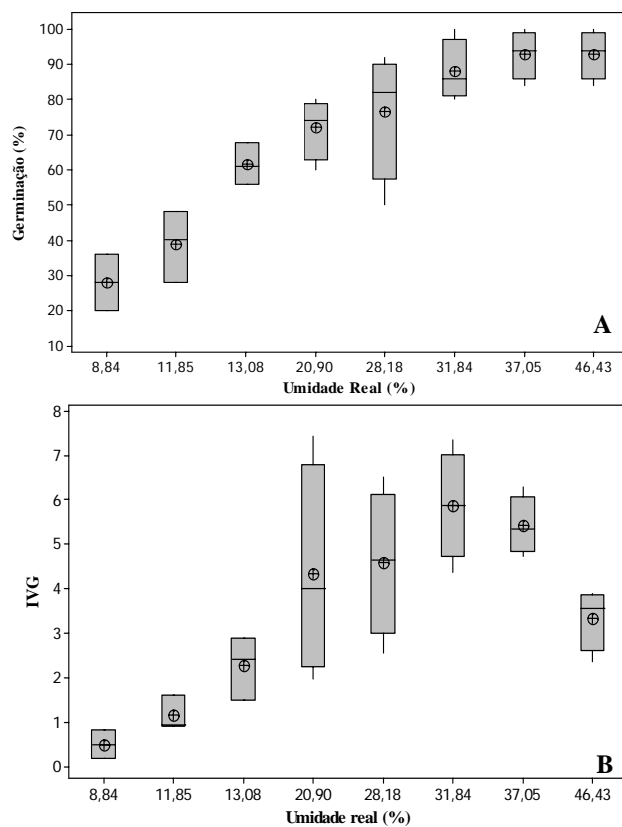


FIGURA 5. Box Plot para a germinabilidade (%) (A) e IVG (B) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, submetidas à secagem. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pela Figura 6, observa-se que os dados de germinabilidade e IVG das sementes se ajustaram ao modelo quadrático durante a dessecação.

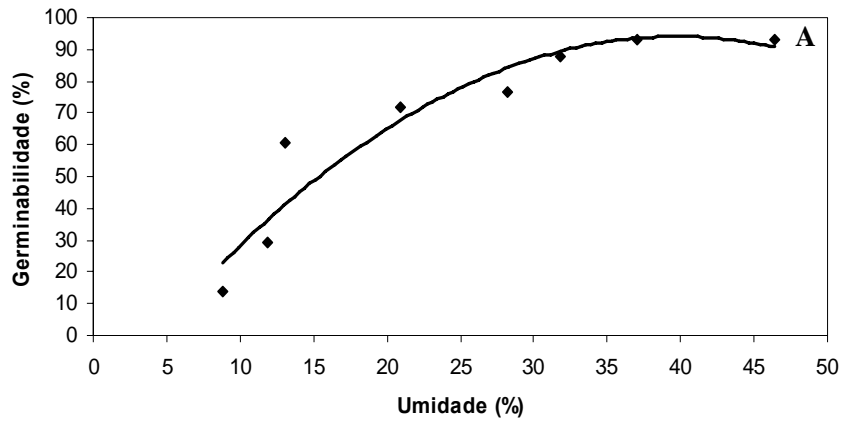
A redução no grau de umidade das sementes de 46,43% a 28,18% não afetou o desempenho fisiológico das mesmas de forma significativa, variando os valores entre 93% a 77%. Porém, abaixo de 20,9% de grau de umidade ocorreu redução na percentagem de germinabilidade (72%). O grau de umidade foi

reduzido a 8,84%, apresentando menor valor de germinabilidade das sementes (14%) (Figura 6).

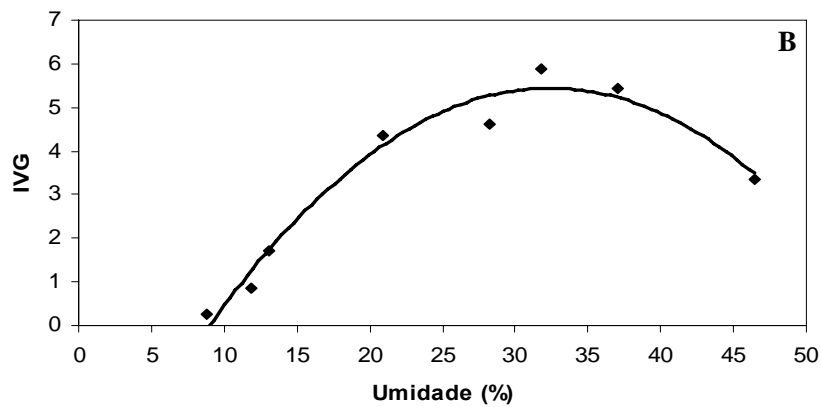
O “grau crítico de umidade” é o teor de água no qual se iniciaria queda acentuada de germinação (Probert & Longley, 1989). Para sementes de *Calophyllum brasiliense*, este grau crítico encontra-se próximo a 20,9%.

Resultados divulgados pela FAO (1993) revelaram que descobertas relacionadas ao grau crítico de umidade são prioridades nas pesquisas sobre conservação de sementes. Ele pode ser obtido por meio da elaboração de curvas de desidratação confrontadas com curvas de viabilidade, objetivando determinar o grau de umidade ideal para a manutenção de viabilidade das sementes durante o armazenamento.

Nos gráficos da Figura 6, observa-se ainda, que o maior IVG foi encontrado para os graus de umidade de 37,05% e 31,84%, não diferindo estatisticamente entre si. A baixa velocidade em altos graus de umidade é necessária para complementação do processo de maturação da semente. Sementes com grau de umidade de 8,84% apresentaram o menor valor de IVG (0,25), demonstrando que as sementes de *Calophyllum brasiliense* são sensíveis à dessecação.



$$\text{Germinabilidade (\%)} = -0,0743x^2 + 5,9089x - 23,378; R^2 = 0,9046$$



$$\text{IVG} = -0,0099x^2 + 0,6436x - 4,9823; R^2 = 0,9681$$

FIGURA 6. Regressão para a relação entre umidade (%) e germinabilidade (%) (A), e entre umidade (%) e IVG (B) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, submetidas à secagem. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Vasquez et al. (2005) submeteram a secagem em sílica gel dois lotes de sementes de *Calophyllum brasiliense* e observaram que o lote do ano de 1999 com umidade inicial de 43,5% apresentou germinação de 60% e, quando submetidas à secagem até 4%, as sementes apresentaram uma redução na

germinação para 4,8%. No lote de sementes do ano de 2000, os mesmos autores observaram que as sementes recém-colhidas apresentaram 34% de umidade e 95% de germinação. Quando foram secas as sementes a 28% de umidade, estas apresentaram germinação de 92%, não havendo diferença significativa com a umidade inicial. Com base nestes resultados, estes autores descrevem as sementes de *Calophyllum brasiliense* como sensíveis à dessecação. Varela et al (1998) classificaram as sementes de *Calophyllum angulare* como recalcitrantes por perderem totalmente a viabilidade após a redução do teor de água de 38% para 9%. Flores (1993, 1996) e Sanches (1995) descrevem a espécie *Calophyllum brasiliense* como sendo recalcitrante.

Bilia (1997), estudando sementes de *Inga uruguensis* Hook., verificou que o limite de tolerância à desidratação foi característico de sementes recalcitrantes, estando o grau crítico de umidade para esta espécie em torno de 35% de água e o grau letal entre 21% e 22% de água.

Martins et al. (1999), estudando a tolerância à dessecação de sementes *Euterpe espirosantensis* (palmito-vermelho), relataram que as sementes dessa espécie são recalcitrantes, apresentando porcentagem alta de germinação (90,0% a 87,5%) quando não desidratadas (teor inicial de água de 51,4% a 46,6%). Abaixo de uma faixa de teor de água situada entre 40,7% e 51,4%, os valores de vigor e germinação foram significativamente reduzidos e a mortalidade total das sementes foi observada, com a redução do teor de água das sementes a uma faixa entre 13,4% e 15,8%.

Para sementes de *Eugenia handroana* D. Legrand (Myrtaceae) submetidas à secagem em sílica gel, pôde ser observado que a porcentagem de germinação foi máxima quando o grau de umidade das sementes foi superior a 30%. Ao reduzir a valores abaixo de 25% de umidade, a capacidade germinativa das sementes foi diminuída gradativamente, até ser completamente anulada quando o nível de hidratação atingiu valores inferiores a 10% (Masetto, 2005). A

autora relata que a redução drástica da germinação observada quando as sementes atingiram menos de 10% de umidade leva a inferir que a semente da espécie em estudo, possivelmente, pode ser classificada como intermediária.

Vieira (2005) verificou, para sementes de *Cupania vernalis* com umidade inicial de 46%, que a redução no grau de umidade de 45% a 30% não afetou o desempenho fisiológico das sementes de forma significativa. Este autor descreve, ainda, em seu trabalho que a redução do grau de umidade a 11,05% não foi favorável à germinação. A redução da germinação das sementes dessa espécie secas a 20% de grau de umidade provavelmente ocorreu em função dos danos ao sistema de membranas das células e ou ao citoesqueleto do eixo embrionário por ocasião da secagem, de forma que as paredes das células apresentaram algumas irregularidades com o conteúdo celular compacto.

Geralmente, quanto mais rápida é a forma de secagem, mais baixo é o conteúdo de água que a semente pode tolerar, pelo fato desse método não oferecer tempo suficiente para o progresso de reações de efeito deletério que causam a perda da viabilidade em materiais sensíveis à dessecação (Pammenter et al., 1998).

Para sementes de *Calophyllum brasiliense*, a secagem em estufa influenciou na viabilidade das sementes, como ilustrado na Figura 7, na qual observa-se que a germinabilidade sofreu redução em função da perda de água.

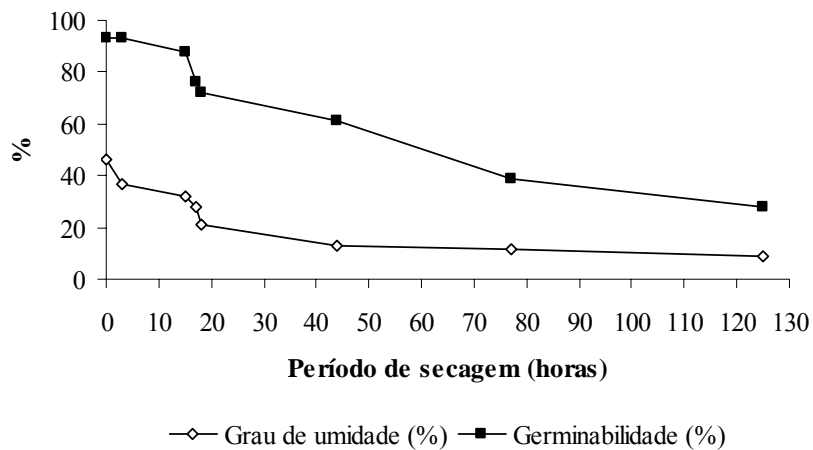


FIGURA 7. Efeito da secagem no percentual de germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense* submetidas à secagem. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Farrant et al. (1988) relataram tolerâncias diferenciadas à perda de água e a baixas temperaturas entre as espécies, propondo uma escala contínua em que as espécies podem ser classificadas como altamente, moderadamente ou pouco recalcitrantes. Mesmo dentro da mesma espécie, podem haver diferenças na tolerância à desidratação, de acordo com o hábitat de origem e a diversidade genética.

Pelo exposto, fica evidenciada a necessidade de serem desenvolvidos trabalhos para elucidar efeitos causados pelo processo de hidratação-secagem a diferentes velocidades de secagem nas sementes da espécie em estudo e, assim, determinar a sensibilidade das sementes à dessecação.

## 6 CONCLUSÕES

A entrada de água nas sementes de *Calophyllum brasiliense* tem sua velocidade reduzida pelo endocarpo.

A maior percentagem de germinabilidade das sementes foi a 30°C e 30°C/20°C e valores superiores de IVG a 30°C e tempo médio de germinação menor a 30°C e 30°C/20°C e também a 35°C.

O tegumento não afetou a germinabilidade total das sementes, porém reduziu a velocidade de germinação e o tempo médio de germinação.

A redução do grau de umidade das sementes de 46,43% para 28,18% não afetou a sua germinabilidade. O grau de umidade crítico foi de 20,9%, demonstrando que as sementes de *Calophyllum brasiliense* são sensíveis à dessecação.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. I. *Labelia inflata*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 70, n. 3, p. 589-592, Mar. 1992.

BENVENUTI, S.; MACCHIA, M.; MIELE, S. Light, temperature and burial depth effects on *Rumex obtusifolius* seed germination and emergence. **Weed Research**, Champaign, v. 41, n. 2, Apr./June 2001.



- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination.** Berlin: Springer Verlag, 1978. v. 1, 306p.
- BILIA, D. A. C. **Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Inga uruguensis* Hook et Arn.** 1997, 88 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia)-Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.
- BORGHETTI, F. Ecofisiologia da germinação das sementes. **Universa**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 149-180, mar. 2000.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes.** Brasília, 1992. 365 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais potencialidades e uso da madeira.** Colombo: EMBRAPA/CNPF; Brasília: EMBRAPA/SPI, 1994. 640 p.
- CARVALHO, P. G. B. et al. Temperature-dependent germination and endo- $\beta$ -mannanase activity in Sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 139-148, 2001.
- CASTELLANI, E. D.; AGUIAR, I. B. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 1, p. 73-82, 2001.
- CROMATRY, A. S. et al. **Desing of seed storage facilities for genetiromarty** [S.l: s.n.], 1985.
- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Recalcitrance a current assessment. **Seed Science and Technology**, v. 16, p. 155-166. 1988.
- FAO. Ex situ storage of seed, pollen and in vitro cultures of perennial woody plant species. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 5, n.2, p. 184, ago. 1995. (1993)
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.
- FLORES, E. M. *Calophyllum brasiliense*. Trees and seeds from the Neotropics,. **Museo Nacional de Costa Rica**, Costa Rica, v. 3, n. 1, 1993.

FLORES, E. M. Recalcitrant tree seed species of socio-economic importance in Costa Rica: state of knowledge of physiology. In: QUÉDRAOGO, A. S.; POUSELN, K.; STUBSGAARD, F. (Ed.). **Intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds**. Rome: IPGRI, 1996.. p. 136-143.

GODOI, S., TAKAKI, M. Germinação de sementes de *Cecropia holocarpa* Miq (*Cecropiaceae*), efeitos da luz e temperaturas. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, 11., 1996, São Carlos, SP. **Resumos....** São Carlos: Sociedade Botânica de São Paulo, 1996. v. 1, p. 50.

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

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 174 p.

LABOURIAU, L. G.; NODA, F.; BORGHETTI, F. Dependência de temperatura na germinação de sementes de *Phaseolus aureus* Roxb. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 5., 1995, Lavras. **Resumos...** Lavras, MG: UFLA, 1995. v.1, p. 63.

LAURA, V. A.; ALVARENGA, A. A.; ARRIGONI, M. de F. Effect of growth regulators, temperature, light, storage and others factors on *Muntinga calabura* L. seed germination. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 22, n. 3, p. 573-579, 1994.

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

LIMA, C. M. R. de; BORGHETTI, F.; SOUSA, M. V. Temperature and germination of the leguminosae *Enterolobium contortisiliquum*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 9, n. 2, p. 97-102, 1997.

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

MALUF, A. M.; MARTINS, P. S. Germinação de sementes de *Amaranthus hybridus* L. e *Amaranthus viridis* L. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 3, p. 417-425, ago. 1991.

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

MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Tolerância à dessecação de sementes de palmito-vermelho (*Euterpe espirosantensis* Fernandes). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 3, p. 391-396, dez, 1999.

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

MAYBER, A. M.; POLJAFOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 2.ed. Oxford: Pergamon, 1982. 192 p.

MIRANDA, P. R. M.; FERRAZ, I. D. K. Efeito da temperatura na germinação de sementes e morfologia da plântula de *Maquira sclerophylla* (Ducke) C. C. Berg. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 303-307, out. 1999.

NAIDU, C. V.; RAJENDRUDU, G.; SWAMY, P. M. Effect of plant growth regulators on seed germination of *Sapindus trifoliatus* Vahl. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 28, n. 2, p. 249-252, 2000

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

PANDEY, H. et al. Chemical stimulation of seed germination in *Aconitum heterophyllum* Wall. and *A. balfourii* Stapf. : important Himalayan species of medicinal value. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 28, n. 1, p. 39-48, 2000.

PATANÈ, C. Influence of temperature on seed germination of a Sulla sweetvetch (*Hedysarum coronarium* L.) population collected in a hilly area of southern Italy. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 887-890, 2000.

PROBERT, R. J.; LONGLEY, P. L. Recalcitrant seeds storage physiology in three aquatic grasses (*Zizania palustris*, *Spartina anglica* and *Porteresia coarctata*). **Annals of Botany**, v. 63, p. 53-63, 1989.

RAJPUT, A.; TIWARI, K. P. Effect of alternat chilling/heating on germination of fresh teak (*Tectona grandis* L. f) drups, without sscarification of felt mesocarp. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 1, p. 56-64, 2001.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user guide**. 4.ed. Cary, 1990.

SANCHEZ, J. J. Aspectos de fisiologia de la germinación y almacenamiento de semillas de importância forestal. In: SIMPÓSIO AVANÇOS EM LA PRODUCCIÓN DE SEMILLAS FORESTALES EM AMÉRICA LATINA, 2., 1995, Manágua. **Memórias...** Manágua, Nicaragua, 1995, p. 165-168.

SANTANA, D. G. de; RANAL, M. A. Análise estatística. In: FERREIRA, G. A.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 197-208.

SIMON, E. W. et al. The low temperature limit for seed germination. **New Phytologist**, Cambridge, v. 77, n. 2, p. 301-311, 1976.

TEKETAY, D. Germination of *Acacia origena*, *A. pilispina* and *Pterolobium stellattum* in response to different pre-snowing seed treatments, temperature and light. **Journal of Arid Environment**, London, v. 38, p. 551-560, 1998.

THOMPSON, P.A. Effects of fluctuating temperatures on germination. **Journal of Experimental Botany**, v. 25, n. 84, p. 164-175, 1974.

THOMPSON, P. A. Characterization of the germination response to temperature of species and ecotypes. **Nature**, London, v. 225, p. 827-831, 1970.

TIGABU, M.; ODEM, P. C. Effect of scarification, giberellic acid and temperature on seed grmination of rwo multipurpose *Albizia species* from Ethiopia. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 1, p. 11-20, 2001.

TROPICAL Flora Reflorestadora – *Calophyllum brasiliense* e suas características. Disponível em: <<http://www.tropicalflora.com.br/pt/reflorestamento/og.jsp>>. Acesso em: 29 nov. 2004.

VASQUEZ, W.; THOMSEN, K. A.; JOKER, D.. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. In: **Storage Biology of Tropical Tree Seeds**. p. 285-294. Disponível em: <<http://dfsc.dk/pdf/IPGRI%20tests/Calophyllum%20brasiliensis.pdf>> Acesso em: 09 dez. 2005.

VALERI, S. V. et al. Germinação e vigor de sementes de guanandi (*Calophyllum brasiliense*) submetidas a diferentes formas de beneficiamento. **Informativo Abrates**, Londrina-PR, v. 13, n. 3, set. 2003, p.404.

VARELA, P. V. Classificação das sementes quanto ao comportamento para fins de armazenamento. In: \_\_\_\_\_. **Pesquisas florestais para a conservação da floresta e reabilitação de áreas degradadas da Amazônia**. Manaus: INPA, 1998. p. 172-184.

VASQUEZ-YANES, C.; OROSKO-SEGOVIA, A. Fisiologia ecológica de sevelhas en la Estacion de Biologia Tropical de “Los Tuxtlas”, Vera Cruz, México, **Rev. Biol. Trop.** 1987. No prelo.

VIEIRA, C. V. **Sensibilidade à dessecação, armazenamento, germinação e morfologia de sementes de *Cupania vernalis* Camb.** 2005. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VILLALOBOS, A. E.; PELÁEZ, D. V. Influences of temperature and water stress on germination and establishment of *Prosopis caldenia* Burk. **Journal of Arid Environment**, London, v. 49, n. 2, p. 321-328, Oct. 2001

## **CAPÍTULO IV**

### **ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Calophyllum brasiliense* Cambess.**

## 1 RESUMO

NERY, Fernanda Carlota. Armazenamento de sementes de *Calophyllum brasiliense* Cambess. In: \_\_\_\_\_. **Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*** Cambess. 2006. Cap. 4, p. 97-119. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

O conhecimento sobre o armazenamento de sementes de *Calophyllum brasiliense* é importante no processo de formação de mudas, considerando que a espécie é de grande potencial para uso em plantios mistos e recuperação de áreas degradadas de preservação permanente. Este conhecimento permite a utilização de condições adequadas para a conservação da viabilidade das sementes após a colheita, permitindo assim suprir a demanda de sementes em anos de baixa produção. Dessa maneira, procurou-se avaliar o comportamento das sementes de *Calophyllum brasiliense* armazenadas durante 12 meses, sendo as avaliações da viabilidade e vigor das sementes realizadas a cada intervalo de 3 meses. As sementes foram armazenadas com graus de umidade iniciais de 33,71% e 31,23%, acondicionadas em embalagens de saco de papel, saco de alumínio e saco de polietileno, e mantidas sob condições de armazenamento em câmara fria (8°C/45%UR) e ambiente (28°C). O acondicionamento das sementes em saco de polietileno e armazenamento em câmara fria foi a melhor condição para a conservação das sementes, mantendo-as viáveis por um período de nove meses.

---

\* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de castro – UFLA, Dr. Renato Paiva – UFLA.

## 2 ABSTRACT

NERY, Fernanda Carlota. Storage of *Calophyllum brasiliense* Cambess seeds. In:\_\_\_\_\_. **Aspects of germination, storage of seeds, initial growth and anatomy of young plants of *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Chap. 4, p. 97-119. Dissertation (Master Program in Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

The knowledge of *Calophyllum brasiliense* seed storage is an important step in the formation of seedling, considering that this specie has a great potencial for the mixed crops and also to be used in recovery of degraded areas. This knowledge permit to use the adequate conditions to keep seed viability after harvest, allowing to supply the demand for seed in years with low production. In this way, this paper aimed to evaluate the alterations in seeds of *Calophyllum brasiliense* stored during 12 months, being the evaluations of viability and seeds vigour realized for each 3 months. The seeds were stored with initial moisture content of 33,71% and 31,23%, placed in paper bag, aluminium bag and polyethylene bag, and stored in cold room (8°C/45%RH) and at room temperature (28°C). The seed storage in polyethylene bag and cold room was the best condition for seed conservation, keeping them viable for a period of nine months.

---

\* Guidance Committee: Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Dr. Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Dr. Renato Paiva – UFLA.



### 3 INTRODUÇÃO

A espécie *Calophyllum brasiliense*, também conhecida popularmente como guanandi, é nativa de matas ciliares de quase todo Brasil, principalmente na faixa litorânea. A madeira do guanandi tem sido apontada como uma alternativa viável financeiramente e uma opção de substituição ao pinus e ao eucalipto. O reflorestamento, além de ecologicamente necessário, tem se mostrado como uma interessante atividade econômica, por conta da espécie alcançar 45 metros de altura e 180 centímetros de diâmetro no tronco.

A conservação de espécies florestais pode ser realizada “*in situ*”, nas áreas de preservação permanente, reservas legais e parques nacionais e ou pela conservação “*ex situ*”, que constitui o armazenamento das sementes sob condições controladas. O armazenamento de sementes tem a função de manter uma disponibilidade contínua de sementes viáveis, imprescindíveis aos programas florestais, como os reflorestamentos, recuperação de áreas degradadas e programas de melhoramento, além de conservação de germoplasma por longos períodos, principalmente para as espécies ameaçadas de extinção, como é o caso do guanandi.

O armazenamento tem por objetivo conservar as sementes, preservando suas qualidades genéticas, físicas, fisiológicas e sanitárias, para posterior semeadura e obtenção de plantas saudáveis após a germinação (UFSM, 2004). Os objetivos, ao manter as sementes armazenadas, podem ser diversos, desde a formação de plantios comerciais, até de bancos de genes de florestas nativas. Dependendo do objetivo, pode ser necessária a sua conservação por períodos curtos ou longos (Pagel, 2004).

Alto conteúdo de umidade nas sementes, aliado a temperaturas elevadas, acelera os processos naturais de degeneração dos sistemas biológicos,

provocando uma perda rápida da viabilidade e da capacidade germinativa durante o armazenamento (Oladiran & Agunbiade, 2000).

Estudando o efeito do armazenamento sobre a viabilidade de sementes de *Myristica malabarica* Lam., Anil Kumar et al. (2002) verificaram que as sementes recém-colhidas apresentavam 27% de umidade e 100% de germinação. Quando submetidas à secagem natural por uma semana, o conteúdo de umidade das sementes caiu a 14% e a germinação a 0%. As sementes desta espécie apresentam natureza recalcitrante, pois, além de não tolerarem a secagem, são sensíveis, ainda, a temperaturas inferiores a 10°C. Esses autores conseguiram manter a viabilidade dessas sementes por um ano, armazenando-as em sacolas plásticas, em temperatura de 30°C e 80% de umidade relativa. Resultados semelhantes foram obtidos por Anil Kumar et al. (1996), estudando o efeito do armazenamento sobre a germinação de sementes de *Aporosa lindleyana* Baill.

Variações no comportamento fisiológico das sementes sob armazenamento podem ser atribuídas a várias razões, incluindo alterações na maturidade da semente (Gamene et al., 1996; Sacande, 1998), no local de colheita e nas condições de secagem (Ellis et al., 1990; Poulsen, 1995). Quanto ao comportamento em relação ao armazenamento, as sementes são classificadas em recalcitrantes e ortodoxas (Ferreira & Borghetti, 2004).

Roberts (1973) introduziu os termos ortodoxa e recalcitrante para definir a dicotomia da fisiologia do armazenamento de sementes, mantendo-se como base a tolerância à dessecação e sensibilidade da semente. Sementes ortodoxas são tolerantes à dessecação e podem ser armazenadas por longos períodos (Roberts & Ellis, 1989). Entretanto, sementes recalcitrantes são altamente sensíveis à dessecação (Chaitanya & Naithani, 1994). Na última década, Ellis et al. (1990) sugeriram uma terceira categoria, sementes de comportamento intermediário no armazenamento entre as descritas por Roberts (1973).

A secagem de sementes é realizada, usualmente, em bandejas ao ar livre e sob cobertura, em local de boa ventilação, mas também pode ser feita em estufa. Sementes intermediárias podem ser desidratadas até certo grau da mesma forma. A secagem, normalmente, aumenta o vigor e a longevidade das sementes, mas, deve-se ter cuidado, pois a tolerância à desidratação diminui quando as sementes são submetidas inicialmente a condições próprias para a germinação. Por exemplo, pré-resfriamento, armazenamento úmido, pré-saturação e tratamento de fermentação para extração da semente podem reduzir a tolerância à desidratação e, conseqüentemente, alterar o comportamento de armazenamento de semente (Hong & Ellis, 2003). A secagem de material vegetal é necessária para evitar a degradação e alterações químicas dos tecidos durante o armazenamento.

O tipo de embalagem utilizado no acondicionamento das sementes durante o armazenamento também assume importância na preservação da sua viabilidade e vigor. Sementes conservadas em embalagens que permitem trocas de vapor d'água com o ar atmosférico podem absorver água sob alta umidade relativa do ar, deteriorando-se com facilidade (Crochemore, 1993). Para Carvalho & Nakagawa (2000), na tomada de decisão para a escolha das embalagens, devem ser consideradas as condições climáticas sob as quais as sementes serão armazenadas até o próximo plantio, a modalidade de comercialização das sementes, a disponibilidade e as características mecânicas das embalagens.

Dessa maneira, procurou-se avaliar o comportamento das sementes de *Calophyllum brasiliense* armazenadas durante 12 meses em diferentes graus de umidade, embalagens e condições de armazenamento.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Considerações gerais

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, Setor de Fisiologia Vegetal, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Os frutos maduros de *Calophyllum brasiliense* foram coletados, em outubro de 2004, em árvores matrizes localizadas no Parque Quedas do Rio Bonito, em Lavras, MG. Posteriormente, foram conduzidos ao Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas, do Departamento de Biologia da UFLA, onde foram despulpados e armazenados até outubro de 2005.

### 4.2 Preparo do material

Para a realização do experimento de armazenamento foram utilizadas uma amostra de sementes recém-colhidas, com umidade inicial de 33,71% e uma segunda amostra de sementes recém-colhidas foi submetida à secagem em estufa com circulação forçada de ar a 35°C, até que atingisse aproximadamente 30% de umidade.

As sementes com endocarpo, tratadas com Benomyl a 0,1%, foram armazenadas em duas condições: câmara fria (8°C/45%UR) e ambiente (laboratório, 28 ± 10°C), também foram acondicionadas em três diferentes tipos de embalagens (saco de polietileno transparente, gramatura 113,06g/m<sup>2</sup>, espessura de 0,1mm com capacidade de 1kg; saco de papel kraft com capacidade de 1kg e sacos de alumínio), por um período de 12 meses, submetidas a avaliações em cinco períodos (0, 3, 6, 9 e 12 meses).

As sementes foram avaliadas quanto à percentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, sendo realizado também um monitoramento do grau de umidade. Para a realização do teste de germinação, as sementes armazenadas com o endocarpo tiveram este retirado e foram submetidas ao teste.

O grau de umidade foi determinado com base em massa úmida, utilizando-se de uma estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$ , até peso constante.

Os testes de germinação foram realizados em câmaras tipo BOD., temperatura de  $30^\circ\text{C}$ , na ausência de luz e umidade relativa de aproximadamente 100%, sendo utilizado como substrato rolo de papel germtest umedecido com água destilada (2,5 vezes o peso do papel) (Brasil, 1992). As avaliações foram realizadas diariamente a partir da protusão da radícula e emissão do hipocótilo a  $\pm 5\text{mm}$ .

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi conduzido juntamente com o teste de germinação, sendo as avaliações realizadas diariamente a partir da protrusão da radícula. Para o cálculo do IVG foi empregada a equação proposta pro Maguire (1962).

### **4.3 Análise estatística**

Os ensaios foram conduzidos seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições de 25 sementes cada tratamento. Os dados de germinação foram transformados em  $\arcsen(X/100)^{0,5}$  e os dados do índice de velocidade de germinação foram transformados em  $(X + 0,5)^{0,5}$ .

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística PROC GLM do software estatístico SAS® (SAS INSTITUTE SAS/STAT, 1990). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer, a 5% de

probabilidade, sendo os dados referentes ao tempo de armazenamento analisados pela análise de regressão polinomial.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A variabilidade do grau de umidade das sementes durante o período de armazenamento esta representada no gráfico da Figura 1. Neste observa-se que sementes mantidas em câmara fria e ambiente apresentaram oscilações em função dos ganhos e perdas da umidade relativa do ar e da temperatura nessas condições, em função, sobretudo, do tipo de embalagem utilizada.

O grau de umidade inicial de armazenamento das sementes foi de 33,71% e 31,23%. Em ambos os graus de umidade iniciais de armazenamento, observou-se queda acentuada no grau de umidade das sementes embaladas em saco de papel, tanto na condição de câmara fria como ambiente. Para a condição de câmara fria, nota-se que a redução no grau de umidade das sementes embaladas em saco de polietileno foi inferior às demais embalagens, em todos os tratamentos estudados. Para a amostra de sementes com umidade inicial de 31,23%, observou-se que a redução no grau de umidade das sementes ocorreu menos acentuadamente em câmara fria (Figura 1B). Para todas as embalagens testadas, o tratamento em que as sementes foram armazenadas ao grau de umidade inicial de 33,71% em condição ambiente foi o que sofreu maior redução no grau de umidade ao final dos 12 meses de armazenamento (Figura 1C). De maneira geral, a utilização da embalagem de saco de polietileno resistente a trocas de vapor d'água foi a mais adequada, atenuando a redução no grau de umidade ao longo do tempo de armazenamento.

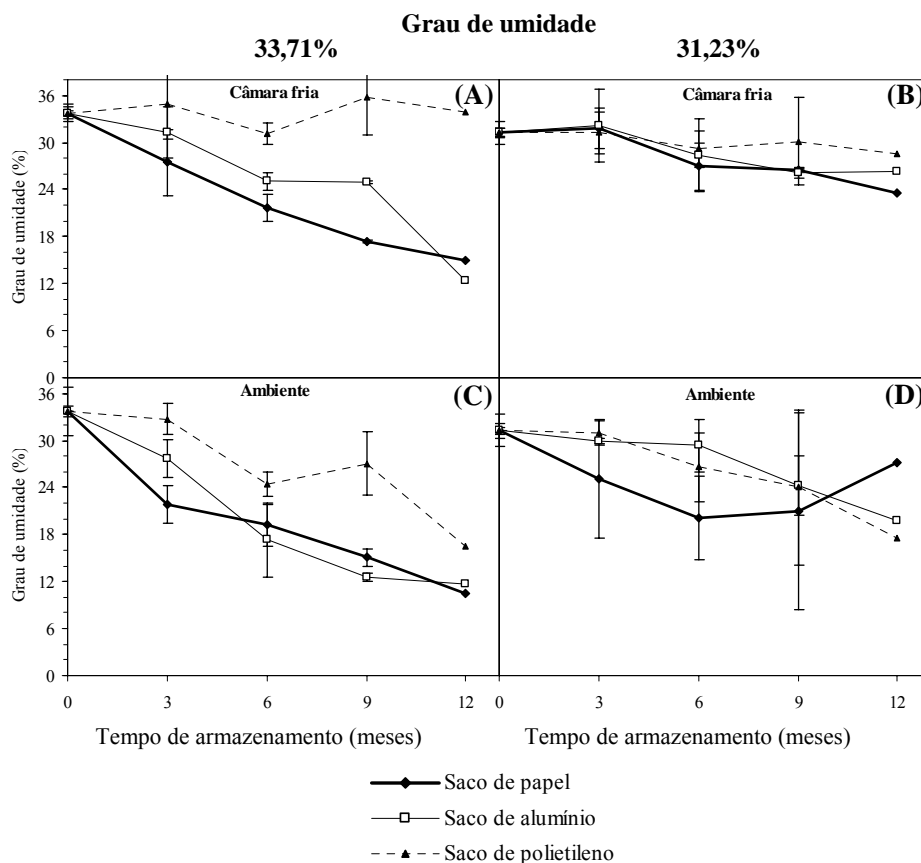


FIGURA 1. Grau de umidade (%) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, armazenadas durante 12 meses em graus de umidade iniciais de 33,71% e 31,23%, sob condições de armazenamento em câmara fria (A e B) e ambiente (C e D), e diferentes embalagens (saco de papel, saco de alumínio e saco de polietileno). UFLA, Lavras, MG, 2006.

A conservação da qualidade fisiológica das sementes sob determinadas condições ambientais de temperatura e umidade relativa do ar está relacionada

ao tipo de embalagem empregado (Popinigis, 1985). A escolha da embalagem depende da espécie, do grau de umidade das sementes, das condições e do período de armazenamento. Dentre os sistemas de conservação em ambiente controlado artificialmente, destaca-se a câmara fria. Esta se destina à conservação de sementes sob temperatura controlada, geralmente inferior a 10°C. Apresenta elevada umidade relativa do ar, o que pode ocasionar aumento da umidade das sementes caso não sejam acondicionadas em embalagens impermeáveis (Marcos Filho, 2005).

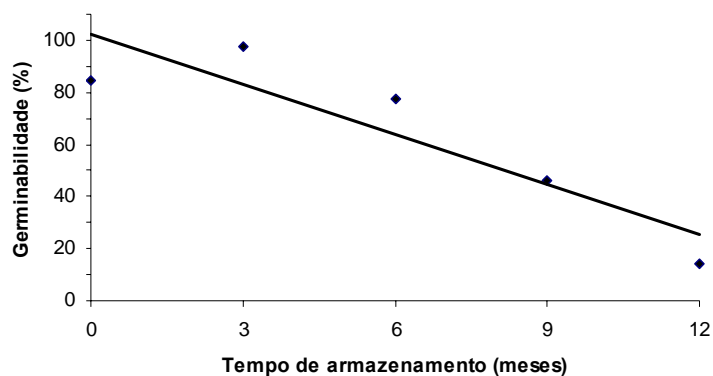
Lima Júnior (2004) descreve, para as sementes da espécie *Cupania vernalis*, que a perda de umidade das sementes armazenadas sob câmara fria e embaladas em sacos de polietileno (40%) e alumínio (38%) foram mais lentas, ao final de quatro meses de armazenamento, enquanto que as sementes armazenadas em sacos de papel apresentaram apenas 25% de umidade, sendo o grau de umidade inicial das sementes de 46,37%.

Bülöw et al. (1994) realizaram ensaios para testar a longevidade de sementes de *Eugenia calycina* em ambientes de armazenamento. Sementes recém-colhidas apresentaram por volta de 97% de germinação, sendo a viabilidade reduzida rapidamente quando as sementes eram armazenadas em laboratório. A velocidade de germinação também diminuiu com o armazenamento. Concluíram os autores que esta espécie apresenta sementes recalcitrantes e, portanto, a semeadura deve ser feita o mais rápido possível após a colheita. Em caso de armazenamento, as sementes devem ser mantidas dentro dos frutos ou dentro de embalagens herméticas, à temperatura por volta de 10°C para evitar dessecação. Dessa forma, obtiveram-se, aproximadamente, 50% de viabilidade após 28 dias de armazenamento, ao passo que, em sacos de papel, as sementes perderam completamente a viabilidade aos 21 dias.

Para o teste de germinação, as interações entre os tratamentos não foram significativas. A redução do grau de umidade de 33,71% para 31,23% não afetou



a germinação das sementes, apresentando valores de 83,92% e 89,45% de germinabilidade, respectivamente. Para a condição de armazenamento, a câmara fria apresentou valor superior à condição ambiente, com 92,39% e 73,06% de germinabilidade, respectivamente. Entre as embalagens testadas, o saco de alumínio foi o que apresentou melhor resultado para a percentagem de germinabilidade (98,88%), seguido do saco de polietileno (90,31%) e do saco de papel (44,90%). Para o período de armazenamento, a regressão linear foi a que melhor explicou o comportamento das sementes nas diferentes embalagens e condições de armazenamento. O melhor resultado foi encontrado para 3 meses de armazenamento (97,30%), reduzindo a percentagem ao longo do tempo para 77,53%, 46,04% e 13,98% de germinabilidade aos 6, 9 e 12 meses de armazenamento, respectivamente (Figura 2).



$$\text{Germinabilidade (\%)} = 1,71124 - 0,13337x; R^2 = 0,9960$$

FIGURA 2. Germinabilidade (%) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, armazenadas durante 12 meses. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pelos gráficos ilustrados na Figura 3, observa-se que os tratamentos com as sementes a 33,71% de grau de umidade inicial, na condição ambiente, aos 9 meses de armazenamento em embalagem de alumínio e aos 12 meses, armazenadas em saco de papel, apresentaram respostas nulas para o teste de germinação. As sementes com grau de umidade inicial de 31,23% em câmara fria, aos 9 meses, embaladas em saco de polietileno e alumínio, bem como as sementes com 12 meses de armazenamento, em condição ambiente, acondicionadas em saco de papel, também apresentaram germinação nula (Figuras 3B, 3C e 3D). Estas respostas nulas ocorreram, principalmente, devido à oxidação das sementes durante o armazenamento, uma vez que não foi observado o ataque de fungos e insetos.

Pelos resultados obtidos, observa-se que a embalagem saco de papel foi a que mais favoreceu a queda na germinabilidade das sementes entre os tratamentos estudados, chegando a valores de 0% de germinação, como já foi tido anteriormente. Esta embalagem permeável permite a troca de vapor entre as sementes e o ambiente externo circundante; por isso, o teor de água das sementes sofre flutuações com as variações de umidade relativa do ar.

O tratamento mais eficiente para manter a viabilidade das sementes foi em condição de câmara fria, sendo a embalagem saco de polietileno a mais adequada, permanecendo as sementes viáveis por um período de 9 meses de armazenamento (Figura 3A).

Em função do tipo de embalagem, vão ocorrendo trocas d'vapor entre as sementes e o meio externo em que se encontram armazenadas. Com a perda de umidade das sementes, a capacidade germinativa é reduzida. Pelos resultados ilustrados na Figura 4 observa-se que as sementes armazenadas em condição de câmara fria e acondicionadas em saco de polietileno foram as que mantiveram o grau de umidade próximo ao grau de umidade com que foram inicialmente armazenadas. Aos 12 meses de armazenamento todos os tratamentos estudados

apresentaram redução na germinabilidade em função da perda de água das sementes.

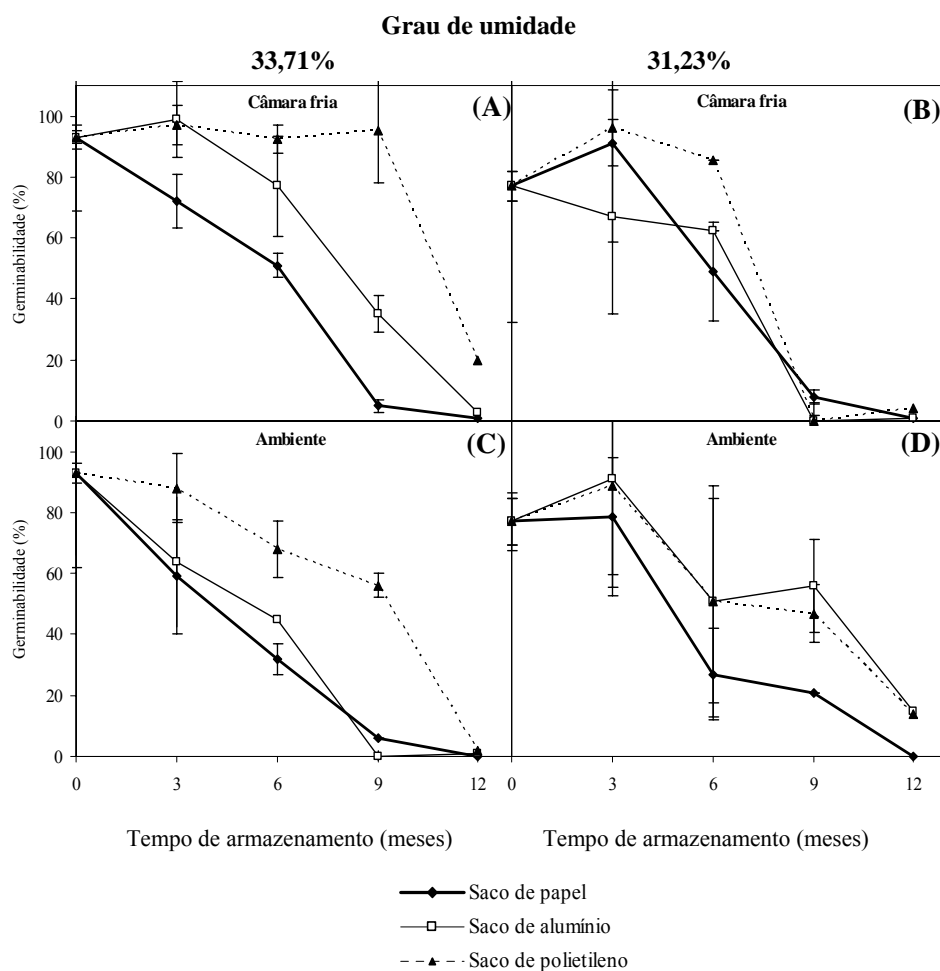


FIGURA 3. Germinabilidade (%) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, armazenadas durante 12 meses, em graus de umidade iniciais de 33,71% e 31,23%, sob condições de armazenamento em câmara fria (A e B) e ambiente (C e D), e diferentes embalagens (saco de alumínio, saco de papel e saco de polietileno). UFLA, Lavras, MG, 2006.

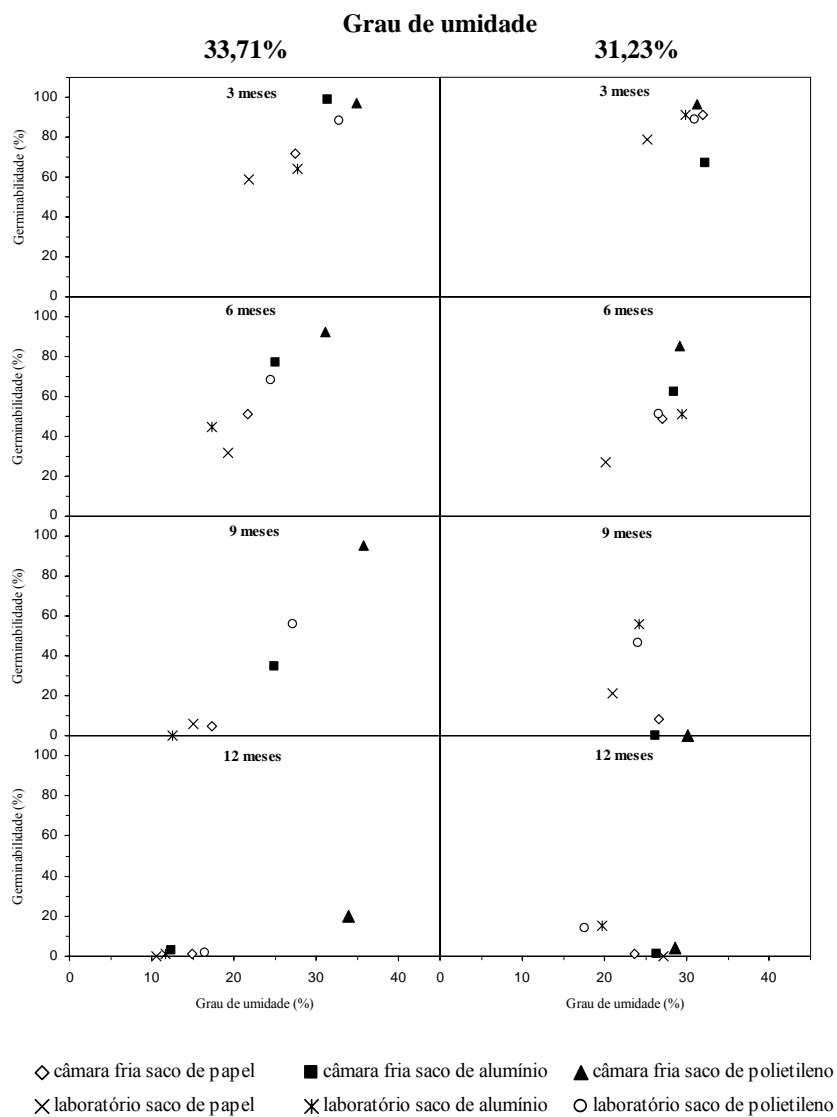


FIGURA 4. Efeitos do grau de umidade (%) das sementes sobre a germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense*, armazenadas durante 12 meses em graus de umidade iniciais, condições de armazenamento e embalagens. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Para o IVG, foi observado que as interações entre os diferentes tratamentos foram significativas (Anexo 2A). Procurou-se estudar a interação entre a condição de armazenamento x tipo de embalagem x tempo de armazenamento, constatando-se que apenas a embalagem saco de polietileno aos 3 meses de armazenamento não apresentou diferença significativa para as condições de câmara fria e ambiente (Anexo 3A). Para as embalagens saco de papel e saco de alumínio, houve diferenças significativas ao longo do tempo de armazenamento, considerando as diferentes condições. O mesmo fato foi observado quando se estudou o tempo, sendo verificando-se que este variou significativamente para as diferentes condições de armazenamento e embalagens (Anexos 4A e 5A).

Comparando-se os tratamentos em formas de contrastes com o esquema fatorial, observa-se que existem diferenças significativas entre eles, com exceção para o armazenamento em câmara fria, nas embalagens saco de papel e alumínio e entre saco de polietileno e saco de alumínio, ambos aos 3 meses de armazenamento. Não foi encontrada diferença significativa entre as embalagens saco de polietileno e saco de alumínio, em condição ambiente, aos 6 meses de armazenamento. Para a embalagem saco de polietileno, aos 3 meses de armazenamento, não foram observadas diferenças entre as condições de câmara fria e ambiente (Anexos 6A e 7A).

Pelos gráficos da Figura 5 nota-se que as sementes em câmara fria com umidade inicial de 33,71% foram as que apresentaram IVG superior, quando embaladas em saco de polietileno aos 3 meses de armazenamento. Após este tempo, houve queda acentuada no vigor das sementes, porém, com valores sempre superiores em relação às embalagens de saco de alumínio e saco de papel. Este mesmo comportamento foi observado para a condição ambiente (Figura 5C). Apenas o tratamento em que as sementes foram armazenadas com grau de umidade inicial de 31,23%, em condição ambiente, pode ser observado

que a embalagem saco de alumínio apresentou valor de IVG superior às embalagens de saco de polietileno e saco de papel (Figura 5D).

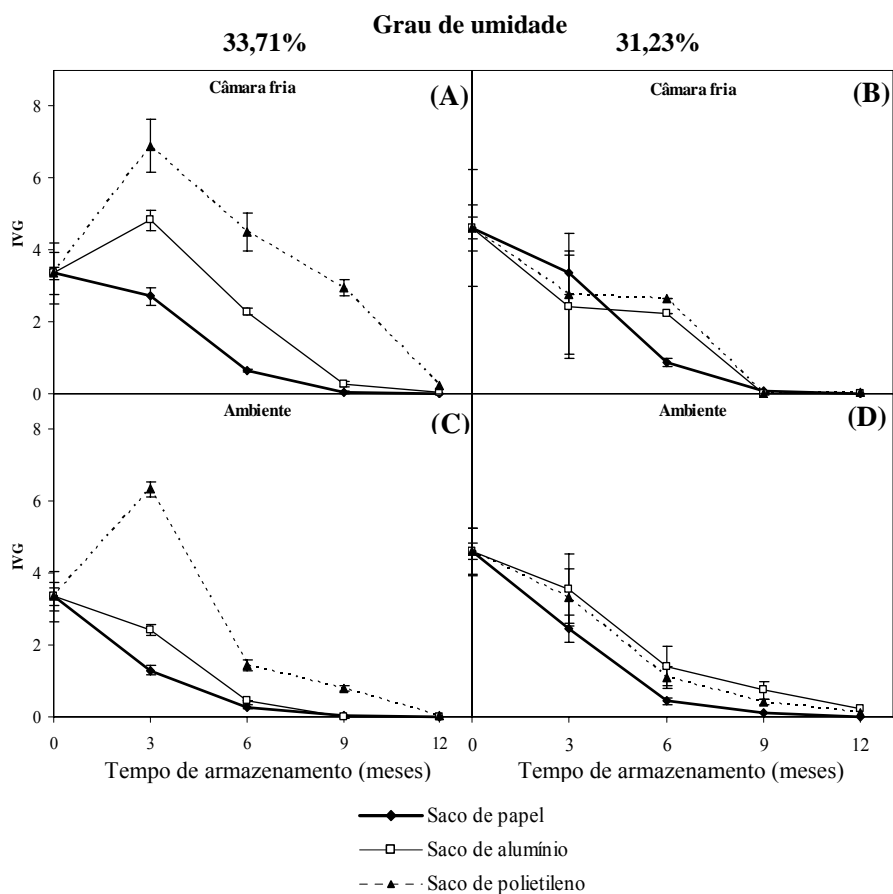


FIGURA 5. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Calophyllum brasiliense*, armazenadas durante 12 meses, em graus de umidade iniciais de 33,71% e 31,23%, condições de armazenamento de câmara fria (A e B) e ambiente (C e D), e diferentes embalagens (saco de alumínio, saco de papel e saco de polietileno). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Os resultados observados neste trabalho concordam com os obtidos por Vasquez et al. (2005) que, estudando o armazenamento de sementes de *Calophyllum brasiliense* coletadas na Costa Rica em 1999, observaram que o melhor resultado dessas sementes foi o armazenamento a 15°C e a 32% de grau de umidade durante 3 meses, apresentando 70% de germinabilidade. Estes autores relataram que, após seis meses de armazenamento, todas as sementes morreram. Carvalho (1994) descreve que as sementes de *Calophyllum brasiliense* apresentam viabilidade quando armazenadas em sala por 8 meses.

Souza et al. (2005) encontrou resultados semelhantes aos obtidos neste trabalho para sementes armazenadas de *Tabebuia serratifolia* (VAHL.) Nich.. As sementes de ipê-amarelo acondicionadas na embalagem de papel apresentaram maior teor de água ao longo do armazenamento, nos ambientes de câmara úmida (22°C/74%UR) e condições normais de laboratório (27°C/62%UR). Em geral, as sementes acondicionadas nas embalagens de papel e polietileno e armazenadas no ambiente de laboratório perderam mais rapidamente o vigor ao longo do armazenamento.

Considerando-se as três classes de sementes quanto à longevidade, as sementes de *Calophyllum brasiliense* apresentaram um comportamento intermediário quando armazenadas, tolerando baixas temperaturas por um período de 9 meses sem que houvesse perda significativa na sua viabilidade. Entretanto, essas sementes são sensíveis à dessecação, comportamento típico de sementes recalcitrantes.

O armazenamento de sementes sob baixas temperaturas é benéfico para várias espécies; algumas vezes, é essencial, porém, pode ser prejudicial a outras. A espécie em estudo tolera o armazenamento sob baixa temperatura que, sabidamente, reduz o metabolismo das sementes e de muitos microrganismos que ocorrem durante o armazenamento (Roberts, 1973; Andrade et al., 1997; Bilia et al., 1999).

Devido à ampla distribuição geográfica e exigências no que diz respeito a fatores ecológicos, espécies pertencentes à família *Clusiaceae* apresentam sementes com comportamento diferenciais durante o armazenamento. Este fato foi observado em sementes de *Kielmeyera coriacea* ao armazenamento sob temperaturas de 5°C e -18°C, durante 360 dias (Carvalho et al., 1999), cujas sementes foram armazenadas com diferentes graus de umidade e acondicionadas em embalagem impermeável. Foi observado que sementes com umidade inicial de 8,9% e 6,4% mantiveram sua germinação inicial, enquanto aquelas secas a 12,9% de umidade perderam seu poder germinativo durante o período de armazenamento e foram classificadas como ortodoxas. A redução do grau de umidade dessas sementes possibilitou maior tempo de armazenamento em relação às sementes com grau de umidade acima de 8,9%.

Hong et al. (1996), estudando seis espécies do gênero *Calophyllum*, e obtiveram indícios de comportamento recalcitrante para as sementes de quatro espécies: *C. inophyllum*, *C. mariae* e *C. polyanthum*, bem como para *Calophyllum brasiliense*. Carvalho (2000), em seu trabalho, também classificou as sementes de *Calophyllum brasiliense* como sendo recalcitrantes quanto ao armazenamento. Silva (2005) descreve que as sementes recém-colhidas de *Calophyllum brasiliense* possuem conteúdo de umidade elevado e o seu comportamento no armazenamento é provavelmente recalcitrante. Estudos preliminares indicaram que as sementes são sensíveis a 5°C. Esta autora descreve ainda que o grau de umidade das sementes deve ser mantido acima de 25% e que o armazenamento seja realizado em temperaturas superiores a 15°C, por até 8 meses.

De acordo com Kageyama & Viana (1989) e Hong & Ellis (1996), as sementes recalcitrantes são típicas de espécies clímax.



## 6 CONCLUSÕES

O acondicionamento das sementes em sacos de polietileno e o armazenamento em câmara fria (8°C/45%UR) são a melhor condição para a conservação de sementes de *Calophyllum brasiliense*, mantendo as sementes viáveis por um período de nove meses.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. C. S. et al. Conservação de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) – Myrtaceae. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 7, n. 1/2, p. 205, jul/ago. 1997.

ANIL KUMAR, C.; BABU, K. P. KRISHMAN, P. N. Seed storage and viability of *Myristica malabarica* Lam. an endemic species of Southern Western Ghats (India). **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 30, n. 3, p. 651-657, 2002.

ANIL KUMAR, C.; THOMAS, J.; PUSHPANGADAN, P. Storage and germination of seeds of *Aporosa lindleyana* (Wight) Baillon, na economically important plant of Weatern Ghats (Índia). **Seed Science Research**, Wallingford, v. 25, n. 1, p. 1-6, Mar. 1996.

BILIA, D. A. C.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. C. L. Desiccation tolerance and seed storability of *Inga uruguensis* Hook, et Arn. **Seed Science and Technology**, v. 27, p. 77-89, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992. 365 p.

BÜLOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p. 961-970, 1994.

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

CARVALHO, L. R. **Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento**. 2000. 97 p. Dissertação (Mestrado em Produção Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CARVALHO, L. R.; DAVIDE, A. C.; BOTELHO, S.A. Armazenamento de sementes de *Kielmeyera coriacea* (Spreng) Mart. – Clusiaceae com diferentes níveis de umidade e condições ambientais. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 9, n. 1/2, p. 173, jul. 1999.

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

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

CROCHEMORE, M. L. Conservação de sementes de tremoço azul (*Lupinus angustifolius* L.) em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 227-231, 1993.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seeds storage temperature and moisture content on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 41, p. 1167-1174, 1990.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323 p.

GAMENE, C. S. et al. Storage behaviour of neem (*Azadirachta indica*) seeds from Burkina Faso **Seed Science Technology**, Zurich, v. 24, n. 3, p. 441-448, 1996.

HONG, T. D.; LININGTON, S.; ELLIS, R. H. **Seed storage behaviour**: a compendium. Rome: Internacional Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55p. (IPGRI, Technical Bulletin, 1).

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

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Storage. In: \_\_\_\_\_. **Tropical tree seed manual**. [S.l.]: USDA. Forest Service's, Reforestation, Nurseries, & Genetics Resources, 2003. Chap.3.

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, São Paulo. **Trabalho...** Piracicaba: ESAL/USP, 1989. 19p.

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

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

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

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

PAGEL, F. E. **Armazenamento de sementes florestais**. Santa Rosa. 2004. 10 p. (Caderno Didático, 1).

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

POULSEN, K. Ways and recommendations on how to test seed quality of tropical tree species. In: INNOVATIONS IN TROPICAL TREE SEED TECHNOLOGY. UFRO SYMPOSIUM, 1., 1995, Tanzania. **Proceedings...** Tanzania: DFSC/NTSP, 1995.

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

ROBERTS, E. H.; ELLIS, R. H. Water and seed survival. **Annals of Botany**, London, v. 63, n. 1, p. 39-52, Jan. 1989.

SACANDE, M. Quality seed production in neem (*Azadirachta indica* A. Juss). In: \_\_\_\_\_. **DFSC newsletter of the project on handling and storage of recalcitrant and intermediate tropical forest tree seeds**, Krogerupvej 21. Humleback, Demark ,1998.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user guide**. 4.ed. Cary, 1990.

SOUZA, V. C. de; BRUNO, R. de L. A.; ANDRADE, L. A. de. Vigor de sementes armazenadas de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (VAHL.) NICH. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.29, n.6, p.833-841, 2005.

SILVA, K. E. da. Jacareúba (*Calophyllum brasiliense* Cambess). **Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia**, n. 11, 2005. Disponível em: <http://www.rsa.ufam.edu.br:8080/sementes/especies/pdf/doc11.pdf>. Acesso em: 09 dez. 2005.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. **Armazenamento de sementes**. [Santa Maria]: UFSM, 2004. Disponível em: <http://www.ufsm.br/sementes/>. Acesso em: 7 ago 2004.

VASQUEZ, W.; THOMSEN, K. A.; JOKER, D. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. **Storage Biology of Tropical Tree Seeds**, p. 285-294. Disponível em: <http://dfsc.dk/pdf/IPGRI%20tests/Calophyllum%20brasiliensis.pdf> Acesso em: 09 dez. 2005.

## **CAPÍTULO V**

### **CRESCIMENTO INICIAL E ASPECTOS ANATÔMICOS DE FOLHAS DE PLANTAS JOVENS DE *Calophyllum brasiliense* Cambess.**

## 1 RESUMO

NERY, Fernanda Carlota. Crescimento inicial e aspectos anatômicos de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess. In: \_\_\_\_\_. **Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial e anatomia de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Cap. 5, p. 120-164. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

*Calophyllum brasiliense* (*Guttiferae*), espécie arbórea conhecida como guanandi, ocorre da região Amazônica até o norte de Santa Catarina, podendo ser utilizada na obtenção de madeira e diversos outros produtos. A espécie é útil para uso em programas de reflorestamento misto de matas ciliares degradadas. Objetivou-se caracterizar o crescimento inicial e aspectos anatômicos em folhas de plantas jovens desta espécie sob diferentes níveis de sombreamento (pleno sol, 30%, 50% e 70%), avaliando-se as seguintes características: crescimento, teor de nitrogênio foliar, clorofila e carotenóides e anatomia foliar. Pelos resultados pôde-se observar que as mudas submetidas a 30% e 50% de sombreamento acumularam maior massa seca de folhas, caules, raízes e massa seca total, com menor relação raiz/parte aérea nessas plantas. Fato semelhante ocorreu com outras características, como altura da planta, diâmetro do colo e número de folhas, não tendo sido observadas diferenças quanto ao comprimento de raiz e área foliar específica nos diferentes sombreamentos. Menor teor de nitrogênio foliar foi encontrado em mudas a 70% de sombreamento. Quanto aos teores de clorofila, as mudas crescidas em 50% de sombreamento mostraram menores valores de clorofila *a* em relação aos teores de clorofila *b* e, conseqüentemente, menor relação clorofila *a/b*. Verificou-se, ainda, maior teor de carotenóides em mudas a 30% de sombreamento. Anatomicamente, não houve diferença quanto à espessura do limbo foliar entre os sombreamentos, e maior número de estômatos/mm<sup>2</sup> foi encontrado em mudas a pleno sol, tendo estes menor diâmetro equatorial, embora não tenha sido observada diferença quanto ao diâmetro polar entre os tratamentos. Concluiu-se que o melhor desempenho vegetativo das mudas foi obtido sob 30% e 50% de sombreamento. A condição de pleno sol não deve ser recomendada para a formação de mudas dessa espécie, uma vez que ela desenvolve pouca plasticidade anatômica em relação aos diferentes níveis de sombreamento estudados.

---

\* Comitê Orientador: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Orientador), Dr. Evaristo Mauro de castro – UFLA, Dr. Renato Paiva – UFLA.

## 2 ABSTRACT

NERY, Fernanda Carlota. Initial growth and leaf anatomical aspects of young plants of *Calophyllum brasiliense* Cambess. In:\_\_\_\_\_. **Aspects of germination, storage of seeds, initial growth and anatomy of young plants of *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. Chap. 5, p. 120-164. Dissertation (Master Program in Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

*Calophyllum brasiliense* (Guttiferae) is a tree specie known as guanandi, and it occurs from Amazonic region to north of Santa Catarina, and can be used as wood and diverse products. This species is also usefull to reforest degraded areas. This paper aimed to characterize the initial growth and anatomical aspects of shading levels (full sunlight, 30%, 50% and 70%), evaluating the following characteristics: growth, leaf nitrogen level, chlorophyll, carotenoids and leaf anatomy. The results suggest that the seedling submitted to 30% and 50% of shading accumulate higher leaf mass weight, stem, root and total dry mass, showing a lower root/area part ratio in these plants. Similar fact occurred with other characteristics as plant height, stem diameter and number of leaves, and it was not observed differences in relation to root length and specific leaf area in diferent shading. A lower leaf nitrogen level was found in seedlings with 70% of shading. Considering the chlorophyll levels, the seedling grown with 50% of shading showed lower values of chlorophyll *a* in relation to chorophyll *b* and, consequently lower chorophyll *a/b* ratio. It was also verified a higher carotenoid level in seedling grown at 30% of shading. There were not any antomical differences in relation to leaf limb among the shading levels, and a higher number of stomata/mm<sup>2</sup> was found in seedling at full sunlight, and these over showed the lowest equatorial diameter, although the difference was not found in relation polar diameter among the treatments. It is possible to conclude that the best seedling vegetative performance was obtained with 30% and 50% shading. The condition of full sunlight could not be recommended for the seedling formation of this specie that develop low anatomical plasticity in relation to different levels of shading studied.

---

\* Guidance Committee: Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), Evaristo Mauro de Castro – UFLA, Renato Paiva – UFLA.

### 3 INTRODUÇÃO

A espécie *Calophyllum brasiliense* é conhecida como guanandi e cedro-do-pântano em Minas Gerais e Mato Grosso do Sul e também guanandicarvalho, em Santa Catarina (Carvalho, 1994), ocorre da região Amazônica até o norte de Santa Catarina, principalmente na floresta pluvial Atlântica. A madeira é própria para a confecção de canoas, mastros de navios, vigas, construção civil, dentre outras finalidades. A árvore pode ser utilizada no paisagismo em geral. É uma espécie útil no reflorestamento misto de matas ciliares degradadas, pois, seus frutos são consumidos por várias espécies da fauna (Lorenzi, 1992). A casca contém óleo com 44% de pureza e as folhas contêm saponina e tanino (Carvalho, 1994).

De acordo com Lorenzi (1992), é uma planta perenifólia, heliófita ou de luz difusa, característica e exclusiva das florestas pluviais localizadas sobre solos úmidos e brejosos. É encontrada tanto na floresta primária densa como em vários estágios da sucessão secundária, como capoeiras e capoeirões. Segundo Davide et al. (1995), esta espécie é clímax tolerante à sombra. O guanandi está na lista de espécies florestais tropicais amazônicas que devem ter seus recursos genéticos conservados “*ex situ*” e “*in situ*” (Dubois, citado por Carvalho, 1994).

Na formação de mudas de espécies lenhosas, a luz, dentre outros fatores do ambiente, desempenha um papel relevante no controle dos processos associados ao acúmulo de biomassa, contribuindo para o crescimento das plantas (Vilela & Ravetta, 2000). Maior ou menor plasticidade adaptativa das espécies às diferentes condições de radiação solar dependem do ajuste de seu aparato fotossintético, de modo a garantir maior eficiência na conversão da energia radiante em carboidratos e, conseqüentemente, maior crescimento. Diversas são as características observadas para mensurar a influência da luz no



desenvolvimento das plantas. Dentre elas, destacam-se: altura da planta, diâmetro do caule, número de folhas, estrutura interna da folha, área foliar, taxa fotossintética, conteúdo clorofiliano, biomassa total e distribuição de biomassa entre os diferentes órgãos (Inoue & Torres, 1980; Engel, 1989; Vilela & Ravetta, 2000).

Diversos fatores externos e internos afetam o metabolismo de clorofilas e, por esta razão, seus conteúdos foliares variam consideravelmente. Segundo alguns autores, a luz é considerada como um dos principais fatores associados ao metabolismo clorofiliano (Whatley & Whatley, 1982; Brand, 1997). Segundo Kramer & Kozlowski (1979), as clorofilas encontram-se constantemente sintetizadas e destruídas (fotoxidação) em presença de luz. Sob intensas radiações, o processo degradativo se faz presente e de forma pronunciada. Por outro lado, as concentrações foliares de clorofilas tendem a aumentar sob condições de sombreamento, sendo o equilíbrio estabelecido a uma intensidade de radiação relativa (Brand, 1997; Alvarenga et al., 1998; Naves, 1993).

As espécies arbóreas variam grandemente na sua capacidade de responder à alteração na disponibilidade de luz. A luz influencia a anatomia foliar, tanto nos primeiros estádios de desenvolvimento quanto no estágio adulto, pois a folha é um órgão muito plástico e a estrutura interna da mesma adapta-se às condições de luz do ambiente. A influência da luz sobre a anatomia foliar pode ser avaliada de acordo com a intensidade, qualidade e quantidade da mesma.

No estudo de anatomia foliar, deve ser levada em consideração a idade do órgão, sua posição no ramo, sua situação aos fatores de luz e suprimento hídrico, pois é sabido que existe uma estreita relação entre morfologia e anatomia foliar, com o ambiente em que a espécie se desenvolveu.

Diante do exposto, torna-se importante o estudo das concentrações de clorofila e carotenóides, nitrogênio foliar e do crescimento inicial, bem como a

avaliação do efeito de níveis crescentes de sombreamento sobre alguns aspectos da anatomia foliar de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*, visando ao estabelecimento das melhores condições de radiação para a produção e adaptação de mudas sob condições de viveiro.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Considerações gerais**

O trabalho foi conduzido no Setor de Fisiologia Vegetal, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras (UFLA) situada em Lavras, MG, no período de agosto de 2004 a outubro de 2005, sob condições de viveiro.

O município de Lavras está localizado na região sul de Minas Gerais, a 918m de altitude, latitude 21°14'S e longitude 45°00'W GRW. Segundo a classificação de Köppen, o clima regional é do tipo Cwa, com duas estações bem definidas, uma fria e seca, de abril a setembro e uma quente e úmida, de outubro a março.

### **4.2. Material vegetal**

As mudas foram formadas a partir de sementes provenientes de árvores matrizes localizadas no Parque Quedas do Rio Bonito, em Lavras, MG.

As sementes utilizadas foram pré-germinadas em rolo de papel germtest, fazendo-se uso de uma câmara tipo BOD. a uma temperatura de 30°C, na ausência de luz. As sementes germinadas foram transferidas para bandejas de isopor contendo 144 células e substrato Plantmax® autoclavado, onde as mudas

permaneceram em viveiro sob 50% de sombreamento, por um período de cinco meses, até se estabelecerem.

Após este período, as mudas foram transplantadas para tubo de PVC com dimensões de 15 x 30cm contendo substrato à base de terra de subsolo e areia, na proporção de 2:1, previamente analisados no Laboratório de Solos da UFLA (Tabela 1). A partir dessa análise, foram incorporados ao substrato superfosfato simples (20%  $P_2O_5$ ) na proporção de  $5kg/m^3$ , e cloreto de potássio (60%  $K_2O$ ) em  $2,5kg/m^3$ . As mudas foram transplantadas constituindo-se de dois pares de folhas, com o primeiro par em desenvolvimento.

Posteriormente, as mudas de *Calophyllum brasiliense* foram submetidas a três níveis de sombreamento, 30%, 50% e 70%, com o uso de sombrites, conforme a especificação do fabricante e um tratamento a pleno sol (0%) como testemunha. As mudas receberam adubações mensais com solução nutritiva modificada de Johnson et al. (1957) e avaliadas no período de janeiro a outubro de 2005.

TABELA 1. Análise química do solo utilizado como substrato para cultivo das mudas de *Calophyllum brasiliense* Cambess.\*

<b>Parâmetros</b>	<b>Substrato</b>
pH em água	6,0
P (mg/dm <sup>3</sup> )	29,7
K (mg/dm <sup>3</sup> )	220
Ca (cmolc/dm <sup>3</sup> )	5,5
Mg (cmolc/dm <sup>3</sup> )	2,0
Al (cmolc/dm <sup>3</sup> )	0
H + Al (cmolc/dm <sup>3</sup> )	1,5
SB (cmolc/dm <sup>3</sup> )	8,1
t (cmolc/dm <sup>3</sup> )	8,1
T (cmolc/dm <sup>3</sup> )	9,2
V (%)	87,9
MO (dag/kg)	0
P-rem (mg/L)	10,0

\*Fonte: Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Ciência do Solo da UFLA, 2005.

### 4.3 Condições climáticas

Na Tabela 2 estão apresentados os dados de temperaturas máxima, mínima e média, precipitação total, horas de insolação e umidade relativa do ar obtidos na Estação Climatológica Principal de Lavras, situada a aproximadamente 300m da área experimental, no período de agosto de 2004 a outubro 2005.

TABELA 2. Dados acumulados de temperatura máxima, mínima e média (°C), precipitação pluviométrica (mm), insolação total (horas) e umidade relativa do ar (%) registrados durante o período de agosto de 2004 a outubro de 2005. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Época	Temperatura (°C)			Precipitação (mm)	Insolação total (horas)	Umidade relativa (%)
	Máxima	Mínima	Média			
Ago/04	26,6	11,8	18,2	0,1	8,9	60,1
Set/04	30,0	14,9	21,6	1,1	9,2	56,1
Out/04	26,7	16,2	20,0	4,0	4,8	72,7
Nov/04	28,2	17,1	21,8	8,6	6,7	72,8
Dez/04	27,7	17,9	21,7	9,0	5,4	80,0
Jan/05	28,6	18,7	22,5	10,0	4,7	79,9
Fev/05	29,1	17,2	22,0	5,8	7,7	74,3
Mar/05	28,6	18,5	22,4	4,2	5,8	79,5
Abr/05	28,8	17,7	22,2	2,0	7,4	74,3
Mai/05	25,3	14,5	19,0	2,7	7,4	74,6
Jun/05	24,6	13,0	17,4	0,2	6,3	76,7
Jul/05	24,3	11,6	16,9	1,3	7,2	72,3
Ago/05	27,8	12,7	19,3	0,1	8,7	60,0
Set/05	26,5	15,5	20,0	2,8	5,7	69,7
Out/05	30,0	17,8	22,9	2,2	7,4	62,5
<b>MÉDIA</b>	<b>27,5</b>	<b>15,7</b>	<b>20,5</b>	<b>3,6</b>	<b>6,9</b>	<b>71,0</b>

Fonte: Estação Meteorológica da Universidade Federal de Lavras, 2005.

#### 4.4 Parâmetros avaliados

##### 4.4.1 Crescimento e particionamento de biomassa

As mudas foram submetidas mensalmente à avaliação do crescimento, sendo analisadas as seguintes características: altura, diâmetro do colo, número de folhas e comprimento de raiz, em 50 plantas de cada tratamento. A variável altura foi medida do colo ao ápice da planta e o diâmetro do caule foi tomado a 3cm do solo.

As plantas foram separadas em folhas, caule e raízes. Todo material foi acondicionado em sacos de papel devidamente identificados e colocado em estufa com circulação forçada de ar a  $70 \pm 2^\circ\text{C}$ , durante 72 horas. Após a secagem, o material foi pesado em balança analítica com precisão de  $10^{-4}\text{g}$  para quantificar a distribuição de biomassa nas partes da planta, em 25 plantas de cada tratamento.

#### **4.4.2 Área foliar**

A área foliar foi avaliada, ao final do experimento, em 10 plantas de cada tratamento, utilizando-se um integrador de área foliar MODEL LI-3100 Area Meter marca LICOR.

#### **4.4.3 Teor de nitrogênio foliar**

Ao término do experimento, foram coletadas, aleatoriamente, cinco folhas simples em cada um dos tratamentos e o nitrogênio foliar determinado pelo método de micro-Kjeldahl. A digestão e a destilação foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral e Metabolismo do Setor de Fisiologia Vegetal da UFLA.

#### **4.4.4 Teor de clorofila**

A determinação dos teores de clorofila foi realizada em cinco plantas por tratamento, a partir de três folhas simples completamente expandidas retiradas na região mediana das plantas. Essas folhas foram acondicionadas em papel alumínio e em caixa de isopor com gelo até serem transferidas ao laboratório. A quantificação das clorofilas *a*, *b* e total foi realizada segundo a

metodologia de Arnon (1949). As folhas foram cortadas em pequenos fragmentos destituídos de nervuras, em seguida, foram pesados e macerados em cadinho de porcelana com pistilo em aproximadamente 15mL de acetona 80% (v/v). Logo após, realizou-se uma filtração em lã de vidro, completando-se o volume para 25mL com acetona 80%. Imediatamente após este procedimento, procedeu-se a leitura da absorbância a 663nm e 645nm num espectrofotômetro v/uv Beckman modelo 640 B. Todo o procedimento foi realizado em ambiente com pouca luminosidade para evitar a degradação de clorofilas. Os cálculos de mg de clorofila por g de matéria fresca de tecido foliar foram realizados utilizando-se as equações descritas a seguir:

$$\text{Clorofila a} = [12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}] \times V/1000 \text{ W}$$

$$\text{Clorofila b} = [22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}] \times V/1000 \text{ W}$$

Em que:

A= absorbância dos extratos nos comprimentos de onda indicados

V= volume final do extrato clorofiliano-cetônico

W= matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado

#### **4.4.5 Teor de carotenóides**

A determinação dos teores de carotenóides foi realizada em cinco folhas maduras e completamente expandidas por tratamento, localizadas no 3º inter-nó do terço superior da planta, as quais foram imediatamente acondicionadas em papel alumínio e mantidas sob refrigeração. A extração e a quantificação dos carotenóides foram realizadas segundo a metodologia descrita por Duke & Kenyon (1986). Os teores de carotenóides foram quantificados utilizando-se os coeficientes de absorvidade molar de Sandmann & Borger (1983).

Para a extração, foram utilizados 500mg de folhas picadas por tratamentos, que foram macerados em cadinho com pistilo, com 10mL de hidróxido de potássio em metanol (6% p/v). Em seguida, os extratos foram centrifugados a 5.000g por cinco minutos, sob temperatura ambiente, 10°C ou 20°C, com ressuspensão, sendo o sobrenadante depositado em tubo de ensaio. Para a extração dos pigmentos, o extrato foi particionado com 3mL de éter de petróleo (ponto de ebulição 60°C a 80°C), com agitação vigorosa. Coletou-se a epifase com pipeta automática e o extrato pôde ser particionado repetidamente por mais duas vezes, procedendo-se a leitura espectrofométrica a 445nm.

#### **4.4.6 Características anatômicas**

##### **4.4.6.1 Microscopia de luz (ML)**

Foram coletadas 10 folhas de cada tratamento e, posteriormente, fixadas em álcool 70%, sendo realizadas as confecções das lâminas para fins de estudos anatômicos. Os cortes foram realizados à mão livre, com a utilização de lâmina de aço e submetidos, em seguida, à coloração com safranina e azul de astra na proporção de 7:3. Para avaliações relativas à cutícula foi utilizado o corante Sudan IV.

A determinação da densidade estomática foi realizada por seções paradérmicas da epiderme na face abaxial. A contagem de estômatos foi realizada em microscópio Olympus CBB, com o auxílio de uma câmara clara, segundo Labouriau et al. (1961), em 4 campos da região mediana de 10 folhas provenientes de dez plantas distintas, perfazendo um total de 40 campos por tratamento.

A espessura foliar foi avaliada por meio de seções transversais de lâminas semipermanentes de 10 folhas provenientes de dez plantas distintas. As



medições foram realizadas pelo microscópio KEN-A-VISION 2100, equipado com uma ocular micrométrica. As medidas foram realizadas em três campos por folha, perfazendo um total de 30 medições para cada tecido foliar, por tratamento.

#### **4.4.6.2 Microscopia de transmissão (MET)**

O preparo das amostras e as observações em MET foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Fragmentos de 0,5 cm<sup>2</sup> foram retirados de cinco folhas de cada tratamento, localizadas no 3º nó abaixo do ápice e fixados, em seguida, numa solução composta de glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído (2,5%), em tampão cacodilato, pH 7,0, 0,05M + CaCl<sub>2</sub> 0,001M por, pelo menos, uma hora, em temperatura ambiente.

Posteriormente, esses fragmentos foram lavados em tampão cacodilato 0,05M (três vezes de 10 minutos) e pós-fixados em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05 M por 4 horas. Em seguida, iniciou-se a desidratação em gradiente de acetona (25, 50, 75, 90 por 10 minutos e três vezes por 10 minutos em 100%). Logo após, o material foi incluído em gradiente crescente de acetona e resina Spurr 30% por 8 horas, a 70% por 12 horas e duas vezes a 100%, em intervalos de 24 horas, sendo os tecidos emblocados em resina pura e colocados em estufa a 70°C por 48 horas para a polimerização. Os blocos obtidos foram desbastados com lâminas de aço para a retirada da resina excedente.

Foram realizados os cortes em seções semifinas (1µm) e ultrafinas (<100nm), utilizando-se um ultramicrotomo Reichert-Jung, com navalha de diamante. Os cortes semifinos foram coletados com anel de ouro, colocados em lâminas de vidro, coloridos com azul de toluidina (1g azul de toluidina, 1g borato de sódio e 100mL de água purificados por meio de filtro Millipore

0,2 $\mu$ m) e montados permanentemente em meio Permalt. Os cortes ultrafinos foram coletados em grades de ouro (*golden slot grids*), secos em raques de alumínio cobertos com formvar (Rowley & Moran, 1975). As seções foram pós-contrastadas em acetato de uranila, seguido por acetato de chumbo por 3 minutos cada e, em seguida, examinadas em microscópio eletrônico de transmissão Zeiss, modelo EM 902 a 80Kv.

As características observadas para as análises da ultraestruturais dos cloroplastos foram realizadas em 10 células da primeira camada do parênquima paliádico, em todos os tratamentos estudados.

#### **4.5 Análises estatísticas**

Os ensaios foram conduzidos seguindo-se o delineamento inteiramente casualizado, com os tratamentos representados por quatro níveis de sombreamento (30%, 50%, 70% e pleno sol ou 0%), sendo a unidade experimental constituída de uma planta.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância utilizando-se o programa estatístico SISVAR 4.3 (Ferreira, 1999). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade e os dados referentes à análise de microscopia de transmissão foram transformados usando  $(X)^{0.5}$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.3.1 Crescimento e particionamento de biomassa

Na Tabela 3 encontram-se os dados de biomassa seca de raiz, caule, folha, total e relação raiz/parte aérea. Observa-se que o maior acúmulo de massa seca total foi obtido em plantas cultivadas sob 50% de sombreamento em relação às de pleno sol. Foi observada menor massa seca foliar nas plantas a pleno sol e 70% de sombreamento em relação às cultivadas sob 30% e 50% de sombreamento. O mesmo comportamento pôde ser notado para a massa seca do caule, tendo plantas cultivadas sob 50% de sombreamento apresentando maior valor em relação às cultivadas a pleno sol e 70% de sombreamento. Verifica-se que maior massa seca do sistema radicular foi obtida em plantas cultivadas a 50% de sombreamento em relação a aquelas sob 70% de sombreamento. O crescimento da parte aérea foi reduzido nas plantas cultivadas a pleno sol em relação àquelas sob 30% e 50% de sombreamento, fato que pode ser confirmado pelas relações raiz/parte aérea.

TABELA 3. Biomassa seca de raízes, caules, folhas, total e relação raiz/parte aérea de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Massa seca (g)				Relação raiz/parte aérea
	Folhas	Caules	Raízes	Total	
Pleno sol (0%)	4,12 b	3,44 b	6,29 ab	13,85 b	0,86 a
30%	5,10 a	4,11 ab	6,50 ab	15,72 ab	0,71 b
50%	5,45 a	4,64 a	7,12 a	17,20 a	0,71 b
70%	4,05 b	3,47 b	5,64 b	13,16 b	0,73 ab

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

Lima Júnior (2004) encontrou resultados similares para a espécie *Cupania vernalis* Camb., tendo um maior acúmulo de massa seca total sido obtido em plantas sob 50% de sombreamento em relação a aqueles sob pleno sol e uma menor massa seca foliar nas plantas a pleno sol em relação às cultivadas sob 50% e 70% de sombreamento. Já as plantas cultivadas sob 70% de sombreamento acumularam massa seca no caule em relação àquelas cultivadas a pleno sol. Este autor, porém, não observou diferença significativa na massa seca do sistema radicular das plantas entre os tratamentos testados, relatando que o crescimento da parte aérea foi reduzido nas plantas cultivadas a pleno sol em relação àquelas sob 30% e 50% de sombreamento.

Em estudo de crescimento inicial de *Euterpe edulis* em diferentes condições de sombreamento, foi observado que as plantas sob forte sombreamento (2% ou 6% da luz solar direta) apresentaram, em relação às plantas sob maior nível de luz, menor biomassa, menores taxas de crescimento, menor razão raiz/parte aérea e menor razão clorofila *a/b* (Nakazono et al., 2001).

Almeida et al. (2004), avaliando o crescimento inicial de plantas jovens de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. (canela-batalha), submetidas aos níveis de redução da radiação solar de 0% (pleno sol), 30%, 50% e 70%, observou que o acúmulo de matéria seca total e de raízes apresentou melhor performance nas plantas sob 30% de sombreamento e o maior acúmulo de matéria seca de folhas foi verificado nas plantas cultivadas em 30% e 50% de sombreamento. No trabalho de Rezende (2004), foi relatado que a espécie *Campomanesia rufa*, quando submetida a 30% de sombreamento, revelou maior matéria seca foliar, enquanto que aquelas plantas crescidas a pleno sol apresentaram maiores acúmulos de matéria seca de raízes e maior relação raiz/parte aérea.

Analisando-se a distribuição de biomassa nos diferentes órgãos das plantas de *Calophyllum brasiliense*, observa-se que, em média, aproximadamente 42% de fotoassimilados foram alocados para as raízes em

todos os níveis de sombreamento avaliados. Cerca de 26% da biomassa seca produzida pelas plantas foram alocados para o caule, não havendo diferenças entre os tratamentos estudados e aproximadamente 31% da biomassa total foi alocada para as folhas (Figura 1).

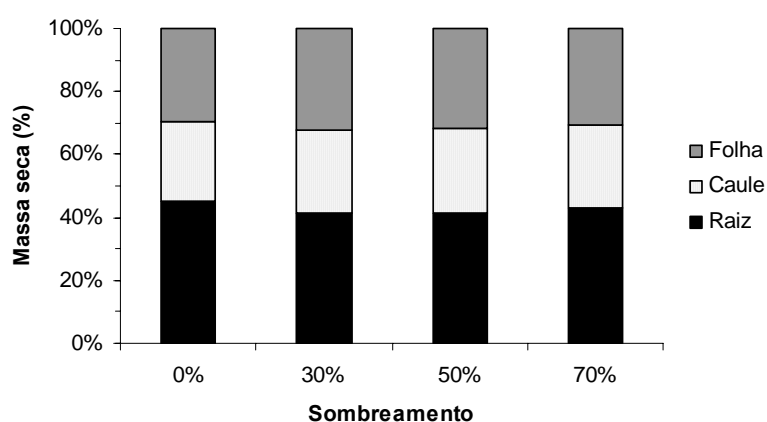


FIGURA 1. Particionamento de biomassa seca em plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Muitos autores descrevem em diferentes espécies que plantas a pleno sol alocam maiores percentuais de biomassa para o sistema radicular. A menor distribuição de biomassa para raízes sob baixas condições de radiação resulta em uma resposta a atributos que melhoram o ganho de carbono sobre irradiância, como um aumento na área foliar ou que reflita uma estratégia buscando luminosidade, como um aumento na altura (Thompson et al., 1992; Walters et al., 1993; Dias-Filho, 1997; Souza et al., 1999; Paez et al., 2000; Almeida et al.,

2004). Porém, para a espécie em estudo, em todos os tratamentos, a distribuição de biomassa foi sempre maior para as raízes.

Resultados antagônicos também foram encontrados por Lima Júnior (2004) para a espécie *Cupania vernalis*, em que o sombreamento favoreceu o crescimento da parte aérea em detrimento ao sistema radicular. Na espécie *Campomanesia rufa*, Rezende (2004) observou, em todos os tratamentos (0%, 30% e 70% de sombreamento), que as plantas concentraram cerca de 50% de sua massa seca nas folhas, 17% nos caules e 33% em raízes.

Com relação à altura da planta, as menores médias foram observadas em plantas cultivadas a pleno sol e 70% de sombreamento. Os tratamentos com 30% e 50% de sombreamento não apresentaram diferenças significativas, sendo o maior crescimento em altura das plantas cultivadas nesses tratamentos. O mesmo comportamento foi observado para o diâmetro do colo, no qual os maiores valores foram encontrados em plantas cultivadas a 30% e 50% de sombreamento e os menores valores em plantas sob pleno sol e 70% de sombreamento. O maior número de folhas foi observado para os tratamentos 30% e 50% de sombreamento, seguidos dos tratamentos a pleno sol e 70% de sombreamento. Para a característica comprimento de raiz não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, variando as médias entre os valores de 16,80 a 21,90cm (Tabela 4).

TABELA 4. Valores médios de altura (cm), diâmetro do colo (mm), número de folhas e comprimento de raiz (cm) de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFPA, Belém, PA, 2006.

Níveis de sombreamento	Altura (cm)	Diâmetro do colo (mm)	Número de folhas	Comprimento da raiz (cm)
Pleno sol (0%)	24,63 b	5,17 b	11,96 b	16,80 a
30%	29,02 a	5,97 a	13,34 a	21,40 a
50%	29,23 a	6,16 a	13,63 a	21,00 a
70%	24,96 b	5,13 b	10,91 c	21,90 a

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

Respostas semelhantes foram obtidas em várias espécies cuja característica de crescimento foi promovida pelo aumento de condições sombreadas (Felfili et al., 1999; Barbosa et al., 1999; Atroch et al., 2001; Campos & Uchida, 2002; Alvarenga et al., 2003). Em *Cabralea canjerana*, os maiores valores em altura foram encontrados em condições extremas de luz, ou seja, pleno sol e 90% de sombreamento (Souza-Silva et al., 1999). Os resultados encontrados por Scalon et al. (2003) para a espécie *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns demonstram que as mudas apresentaram diferenças significativas apenas para altura do caule, sendo maior sob 50% de sombreamento, seguida de 30% e em pleno sol. O diâmetro do colo não variou significativamente entre os tratamentos luminosos e a idade da muda, sendo a média apresentada para o período avaliado de 1,7mm. Resultados semelhantes foram observados por Gajego et al. (2001), para mudas de pau-amarelo (*Maclura tinctoria*) e jatobá (*Hymenae coubaril*), enquanto Felfili et al. (1999), trabalhando com velame (*Sclerolobium paniculatum*), observaram que as maiores médias de diâmetro do colo ocorreram nos tratamentos a pleno sol.

Resultados antagônicos foram observados para a espécie *Euterpe edulis* Mart., em que o número de folhas tendeu a ser maior quanto maior o nível de luz no qual as plantas cresceram e plantas transferidas de baixa (4%) para alta (20% ou 30%) quantidade de luz responderam ao aumento na irradiância, aumentando o número de folhas (Nakazono et al., 2001).

Ramos et al. (2004), estudando o desenvolvimento inicial de *Amburana cearensis* em diferentes condições de sombreamento, verificaram que a biomassa total foi maior a 0%, seguido de 50% e 70% de sombreamento, enquanto a menor média foi encontrada a 90% de sombreamento. Para as plantas em pleno sol, cerca de 80% da biomassa total estava no sistema radicular. O alto investimento em sistema radicular manteve-se nos tratamentos a 50%, 70% e 90% de sombreamento. Este autor descreve ainda que, *Amburana cearensis* mostrou plasticidade em relação às diferentes condições de luminosidade com melhor desenvolvimento, em termos de acúmulo de massa seca e em variáveis alométricas, nas condições de pleno sol e até 50% de sombreamento.

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios de área foliar, área foliar específica (AFE) e espessura do limbo de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento.

Com relação à área foliar, plantas cultivadas sob 30% e 50% de sombreamento mostraram maior crescimento do limbo foliar em superfície em relação às cultivadas sob pleno sol e 70% de sombreamento. Quanto à AFE e a espessura do limbo foliar, não foram encontradas diferenças significativas entre os níveis de sombreamento a que estavam submetidas às mudas de *Calophyllum brasiliense* (Tabela 5).



TABELA 5. Valores médios de área foliar, área foliar específica (AFE) e espessura do limbo de folhas de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Área foliar (dm <sup>2</sup> )	AFE (dm <sup>2</sup> /g)	Espessura do limbo (μm)
Pleno sol (0%)	2,90 b	0,39 a	347,10 a
30%	3,72 ab	0,44 a	344,40 a
50%	4,47 a	0,41 a	332,10 a
70%	3,37 b	0,44 a	323,70 a

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

No que diz respeito à área foliar total, vários estudos com inúmeras espécies arbóreas submetidas a diferentes níveis de irradiância sob condições de viveiro destacam um aumento na superfície foliar com o aumento do sombreamento, a fim de compensar as menores taxas fotossintéticas sob condições mais sombreadas (Scalon et al., 2001; Campos & Uchida, 2002; Morais et al., 2003; Alvarenga et al., 2003). Isto pode ser facilmente observado nas mudas de *Calophyllum brasiliense*, onde ocorreu um aumento crescente na área foliar até 50% de sombreamento.

No trabalho de Lima Júnior et al. (2005) pode ser observado que as maiores AFE foram encontradas em plantas de *Cupania vernalis* cultivadas sob 50% e 70% de sombreamento, provavelmente, devido a modificações na espessura das células epidérmicas e parenquimáticas. Alguns estudos têm demonstrado padrões de respostas anatômicas semelhantes aos relatados por Lima Júnior et al. (2005), para os quais se observa um incremento na espessura do limbo com o aumento da irradiância (Hanba et al., 2002), fato não observado nesta pesquisa para *Calophyllum brasiliense*.

Boerger & Wisniewski (2003), estudando a anatomia foliar de *Calophyllum brasiliense* em árvores do sul do Brasil, relataram que a área foliar no estágio sucessional intermediário foi de 49,0cm<sup>2</sup> e, no estágio avançado de 42,5cm<sup>2</sup>, a AFE foi de 89,8cm<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> e 83,9cm<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> e a espessura total do limbo variou de 299,9µm e 316,2µm, respectivamente. Esta última característica encontra-se com valores próximos aos observados neste trabalho, sendo os valores de área foliar e AFE inferiores.

### 5.3.2 Teor de nitrogênio foliar

O teor de nitrogênio foliar foi maior nas plantas de *Calophyllum brasiliense* cultivadas sob pleno sol e 30% de sombreamento. Os menores valores foram observados nas plantas cultivadas sob 70% de sombreamento (Figura 2).

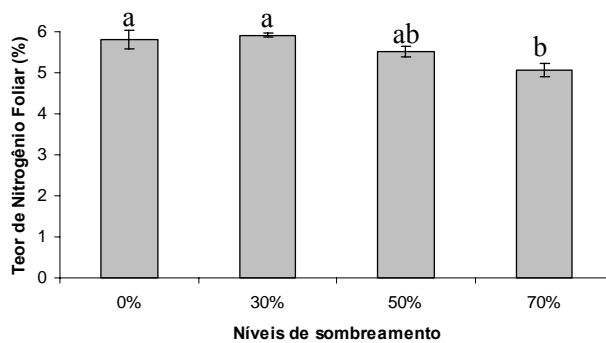


FIGURA 2. Teor de nitrogênio ( $\pm$  erro padrão) em folhas de plantas de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

O maior conteúdo de nitrogênio foliar em plantas a pleno sol é consistente com a idéia de que a aquisição e alocação de nitrogênio nas plantas é proporcional a gradientes de disponibilidade de radiação (Evans, 1989; Ellsworth & Reich, 1992).

Almeida (2001), estudando o efeito do sombreamento em plantas de *Cryptocarya aschersoniana*, verificou maior teor de nitrogênio foliar em folhas de plantas cultivadas a pleno sol, quando comparadas com plantas cultivadas sob 30% de sombreamento. Entretanto, plantas a pleno sol não diferiram daquelas cultivadas sob 50% e 70% de sombreamento. Para a espécie *Campomanesia rufa* não foram observadas diferenças significativas entre os níveis de sombreamento estudados (pleno sol, 30% e 70%) (Rezende, 2004).

### **5.3.3 Teores de clorofila e carotenóides**

Em relação à concentração de pigmentos foliares, foram observados maiores valores de clorofila *a* em folhas submetidas a pleno sol, 30% e 70% de sombreamento em relação ao tratamento nos quais as mudas foram cultivadas sob 50% de sombreamento. A concentração de clorofila *b* foi maior em plantas cultivadas sob 30% de sombreamento e menor em mudas a pleno sol. O teor de clorofila total foi maior também a 30% de sombreamento e menor a 50% de sombreamento. A relação clorofila *a/b* foi maior em mudas a pleno sol e 70% de sombreamento quando comparada com mudas sob 50% de sombreamento (Tabela 6).

TABELA 6. Teores de clorofilas *a*, *b*, total ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  de matéria fresca) e relação clorofila *a/b* em folhas de plantas de *Calophyllum brasiliense*, submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Clorofila <i>a</i> ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Clorofila <i>b</i> ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Clorofila total ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ MF)	Relação clorofila <i>a/b</i>
Pleno sol (0%)	0,129 a	0,042 b	0,172 ab	3,043 a
30%	0,134 a	0,058 a	0,192 a	2,368 ab
50%	0,098 b	0,055 ab	0,152 b	1,766 b
70%	0,131 a	0,053 ab	0,185 ab	2,534 a

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

Lima Júnior (2004), estudando a concentração de clorofila em plantas jovens de *Cupania vernalis*, observou que maiores valores de clorofila total e clorofila *a* ( $\text{mg.g}^{-1}$  MF) foram encontrados em folhas submetidas a 50% e 70% de sombreamento em relação a 30% de sombreamento e mudas a pleno sol. Este mesmo autor relatou que a concentração de clorofila *b* foi menor em plantas cultivadas a pleno sol, o que favoreceu maior relação clorofila *a/b* nas mesmas condições de irradiância.

A proporção entre clorofila *a* e *b*, de maneira geral, tende a diminuir com a redução da intensidade luminosa (Boardman, 1977; Kozlwshi, 1991), devido a uma maior proporção relativa de clorofila *b* em ambientes sombreados. Este aumento da clorofila *b* em diferentes ambientes está associado à sua degradação, que é mais lenta em relação à clorofila *a* (Engel & Poggiani, 1991). Estes resultados concordam com os obtidos por Atroch (1999), Lee et al. (2000), Castro (2002) e Gomes (2004).

Para as mudas sob sombreamento a 30%, 50% e 70%, uma maior proporção relativa de clorofila *b* pode ser vantajosa sob sombreamento, já que permite uma maior eficiência da absorção de luz menos intensa (Whatley &

Whatley, 1982) e uma ampliação do espectro da ação da fotossíntese (Mitchell, 1979).

Todavia, para a espécie *Myrtus communis* L., não foi encontrada diferença significativa na relação clorofila *a/b* em plantas cultivadas a pleno sol ou 30% de irradiância (Mendes et al., 2001). Outros autores também não encontraram diferenças entre essas proporções (Inoue, 1983; Graça, 1983; Nygren & Kellomaki, 1983/1984).

Houve diferença estatística do teor de carotenóides entre os níveis de sombreamento. Observa-se que o maior valor foi obtido pelas mudas sob 30% de sombreamento e o menor valor pelas mudas sob pleno sol e 50% de sombreamento (Tabela 7).

TABELA 7. Teores de carotenóides ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de matéria fresca) em folhas de plantas de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Carotenóides ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MF)*
Pleno sol (0%)	719,55 b
30%	1484,55 a
50%	583,54 b
70%	950,18 ab

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

Gonçalves et al. (2001) avaliaram a concentração de pigmentos fotossintéticos em mogno e cumaru, sob dois ambientes de luz e verificaram que os teores de carotenóides ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  MF) foram sempre maiores no ambiente de sol. No presente trabalho não foi observada correlação entre o teor de carotenóides e a luminosidade.

Os resultados quanto ao teor de pigmentos cloroplastídicos revelam diferentes estratégias no acúmulo e uso dos pigmentos fotossintéticos no que se refere à captação de luz em ambientes de menor luminosidade e à proteção contra a fotodestruição em ambiente de maior luminosidade (Gomes, 2004).

#### **5.3.4 Características anatômicas**

O mesófilo de lâminas foliares de plantas de *Calophyllum brasiliense* mostrou-se dorsiventral, apresentando parênquima paliçádico na face superior da lâmina (adaxial) e parênquima esponjoso na face inferior (abaxial) e uma espessa camada de cutícula na superfície adaxial. A epiderme adaxial apresentou de uma a duas camadas de células e apenas uma na epiderme abaxial. O parênquima paliçádico tem de 2 a 3 camadas de células, as quais são mais alongadas (Figura 3 e 4).

Segundo Lee et al. (2000), células paliçádicas mais alongadas constituem um padrão clássico de resposta e de adaptação das plantas à alta intensidade luminosa, o que evidencia a plasticidade adaptativa da espécie *Calophyllum brasiliense*.

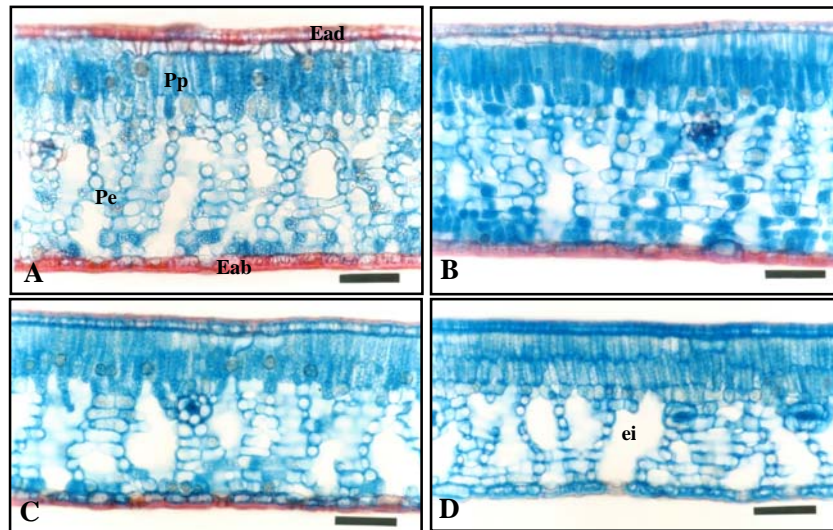


FIGURA 3. Fotomicrografias de seções transversais de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **A** (pleno sol ou 0%), **B** (30%), **C** (50%) e **D** (70%) de sombreamento. **Ead** – epiderme adaxial, **Pp** – parênquima paliçádico, **Pe** – parênquima esponjoso, **Eab** – epiderme abaxial, **ei** – espaço intercelular. Barra corresponde a 100 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG, 2006.

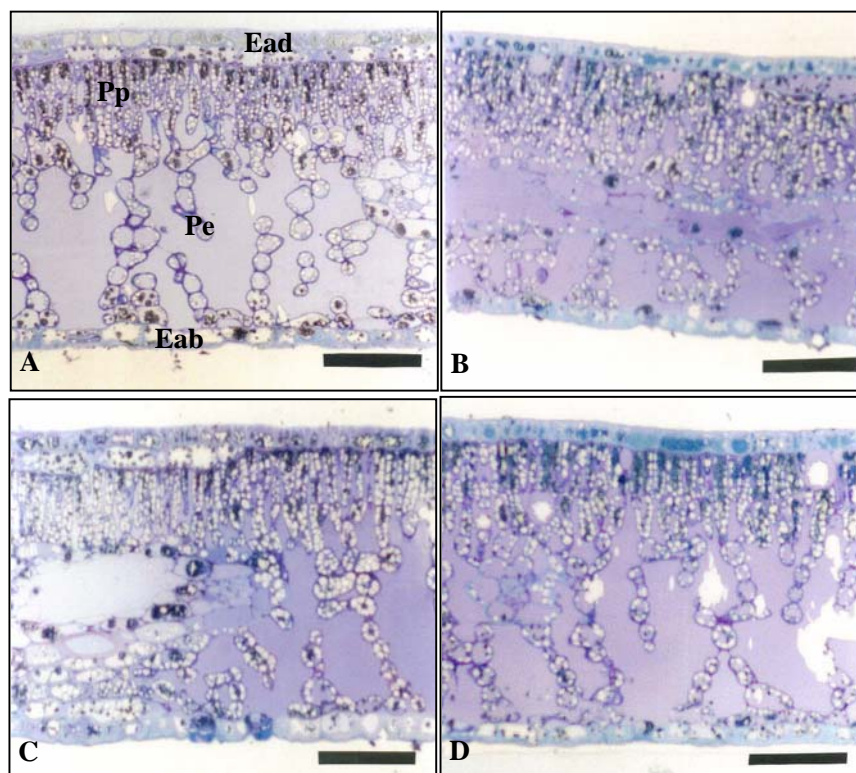


FIGURA 4. Fotomicrografias de seções transversais em cortes semifinos (<100nm) de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **A** (pleno sol ou 0%), **B** (30%), **C** (50%) e **D** (70%) de sombreamento. **Ead** – epiderme adaxial, **Pp** – parênquima paliçádico, **Pe** – parênquima esponjoso, **Eab** – epiderme abaxial. Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG, 2006.

A lâmina foliar é a estrutura que mais se modifica em resposta às alterações ambientais e constitui o principal sítio na produção de fotoassimilados, embora tenha sido observado, em seções transversais em lâminas foliares das plantas de *Calophyllum brasiliense*, que a espessura do



limbo não diferiu estatisticamente entre os diferentes níveis de sombreamento, variando entre valores de 323,70 $\mu$ m a 347,10 $\mu$ m (Tabela 8).

A espessura do parênquima paliçádico foi superior em folhas submetidas a 30% de sombreamento em relação aos tratamentos a pleno sol e 70% de sombreamento. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas na espessura do parênquima esponjoso em todos os níveis de sombreamento estudados (Tabela 8).

Na seção transversal da lâmina foliar, observa-se que a maior espessura da epiderme adaxial foi encontrada em folhas de plantas cultivadas a pleno sol em relação aos demais tratamentos. A espessura da epiderme abaxial foi maior nos tratamentos a pleno sol e 30% de sombreamento e menor espessura foi encontrada em folhas de plantas cultivadas a 70% de sombreamento (Tabela 8).

Não houve diferenças significativas na espessura da nervura principal entre os diferentes níveis de sombreamento, variando entre 1,47mm a 1,58mm (Tabela 8 e Figura 5). Nas plantas cultivadas a pleno sol, este conjunto encontra-se bem lignificado, quando comparado com os tratamentos mais sombreados. Na nervura mediana, ficou constatado que as paredes das células dos tecidos mecânicos apresentam-se mais espessas com o incremento da intensidade luminosa.

TABELA 8. Espessura das epidermes adaxial (Ead) e abaxial (Eab), parênquima paliçádico (P.paliç.) e esponjoso (P.esp.), espessura total do limbo foliar e nervura de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Espessura*					
	Ead (µm)	P. paliç. (µm)	P. esp. (µm)	Eab (µm)	Limbo (µm)	Nervura (mm)
Pleno sol (0%)	30,90 a	105,60 b	185,40 a	25,20 a	347,10 a	1,49 a
30%	21,00 b	124,20 a	175,20 a	24,00 a	344,40 a	1,47 a
50%	20,70 b	109,80 ab	178,80 a	22,80 ab	332,10 a	1,58 a
70%	19,50 b	98,40 b	186,00 a	19,80 b	323,70 a	1,54 a

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

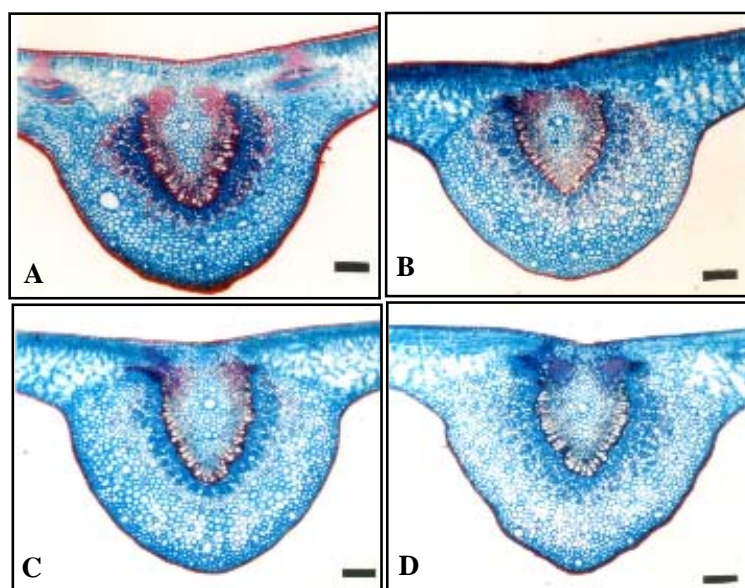


FIGURA 5. Fotomicrografias em seções transversais de nervura de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **A** (pleno sol ou 0%), **B** (30%), **C** (50%) e **D** (70%) de sombreamento. Barra corresponde a 100µm. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pelos resultados ilustrados na Figura 6, nota-se que o parênquima esponjoso foi o que mais influenciou a espessura do limbo foliar.

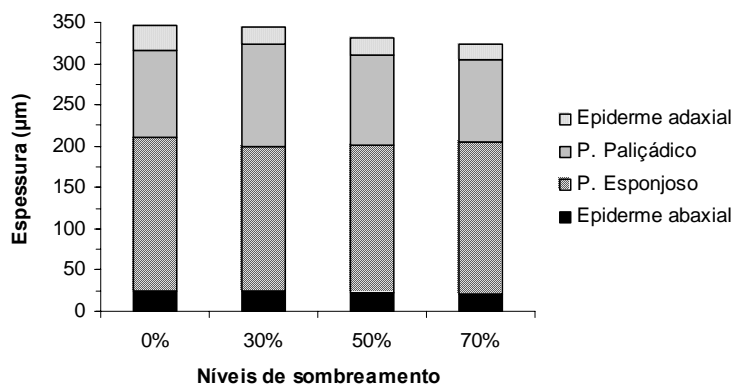


FIGURA 6. Espessura dos tecidos do limbo foliar de plantas de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Lima Júnior (2004) relatou, para a espécie *Cupania vernalis* quanto à espessura da epiderme adaxial, que as folhas sob pleno sol apresentaram maior valor. Este mesmo autor relatou, quanto à espessura da epiderme abaxial, que esta apresentou maior valor em folhas de plantas a pleno sol e 70% de sombreamento e menores valores a 30% e 50% de sombreamento.

Os resultados encontrados neste trabalho estão próximos aos obtidos por Boerger & Wisniewski (2003), estudando a anatomia foliar de *Calophyllum brasiliense* em árvores do sul do Brasil, nas quais a espessura da epiderme adaxial variou de 27,8µm a 29,7µm. Porém, os valores encontrados para a epiderme abaxial foram menores aos obtidos neste trabalho, estando entre 10,2µm a 16,7µm. O mesmo ocorreu para a espessura do parênquima paliçádico cujo valor que esteve entre 45,8µm a 70,8µm. Para o parênquima esponjoso, os

valores encontrados por estes autores estiveram próximos aos obtidos neste trabalho, variando entre 184,5µm a 192,4µm. Notou-se, ainda, que a espessura do limbo encontrada para esta espécie no sul do país esteve entre 299,9µm a 316,2µm.

Pelos resultados pode-se observar que as plantas cultivadas a pleno sol apresentaram as maiores médias na densidade estomática em relação às cultivadas nos demais níveis de sombreamento (Tabela 9 e Figura 7). Estes resultados são semelhantes aos obtidos para outras espécies, nas quais geralmente ocorre um aumento na frequência e no índice estomático, à medida que se aumenta a intensidade luminosa (Björkman & Holmgren, 1963; Abrams & Mostoller, 1995; Castro et al., 1998). Os estômatos das folhas submetidas a pleno sol são menores em diâmetro equatorial em relação aos das folhas a 50% de sombreamento, ao passo que, para os resultados obtidos de diâmetro polar, não foram verificadas diferenças entre os níveis de sombreamento estudados (Tabela 9).

TABELA 9. Valores médios das características estomatais em plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Número de estômatos/mm <sup>2</sup>	Diâmetro polar (µm)	Diâmetro equatorial (µm)
Pleno sol (0%)	276,05 a	31,33 a	21,92 c
30%	196,85 b	31,05 a	23,29 bc
50%	217,50 b	32,21 a	28,01 a
70%	191,65 b	33,32 a	25,53 ab

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

Almeida et al. (2004) encontrou, para a espécie *Cryptocarya aschersoniana*, comportamento similar ao relatado neste trabalho, com mudas apresentando maior número de estômatos por mm<sup>2</sup>, quando cultivadas a pleno sol. Observou, também, um incremento no diâmetro polar e equatorial, ocorrendo um aumento nestas dimensões com o progresso do sombreamento de 0% (pleno sol) a 70%. Segundo Lima Júnior (2004) e Rezende (2004), o mesmo comportamento pôde ser observado em plantas jovens de *Cupania vernalis* e *Campomanesia rufa* submetidas a pleno sol. Por outro lado, na espécie *Bauhinia forficata*, não foi verificada diferença significativa com relação ao número de estômatos por mm<sup>2</sup> em plantas expostas a pleno sol, 30% e 50% de sombreamento (Atroch, 1999).

Um aumento na densidade estomática pode permitir que a planta aumente a condutância de gases e, assim, evitar que a fotossíntese seja limitada sob diferentes condições de ambiente (Castro, 2002).

No entanto, Castro et al. (1998) encontraram diferenças significativas apenas no diâmetro polar dos estômatos da espécie *Guarea guidonea*, os quais foram maiores nas plantas cultivadas em 50% de sombreamento. O comportamento apresentado pela espécie *Calophyllum brasiliense* foi similar ao encontrado para a espécie *Cupania vernalis*, estudada por Lima Júnior (2004), para os resultados de diâmetro polar.

Este fato também foi relatado para as espécies *Bauhinia forficata* e *Elaeagnus angustifolia*, estudadas por Atroch et al. (2001) e Klich (2000), não sendo encontradas diferenças nos diâmetros polar e equatorial em função do nível de sombreamento.

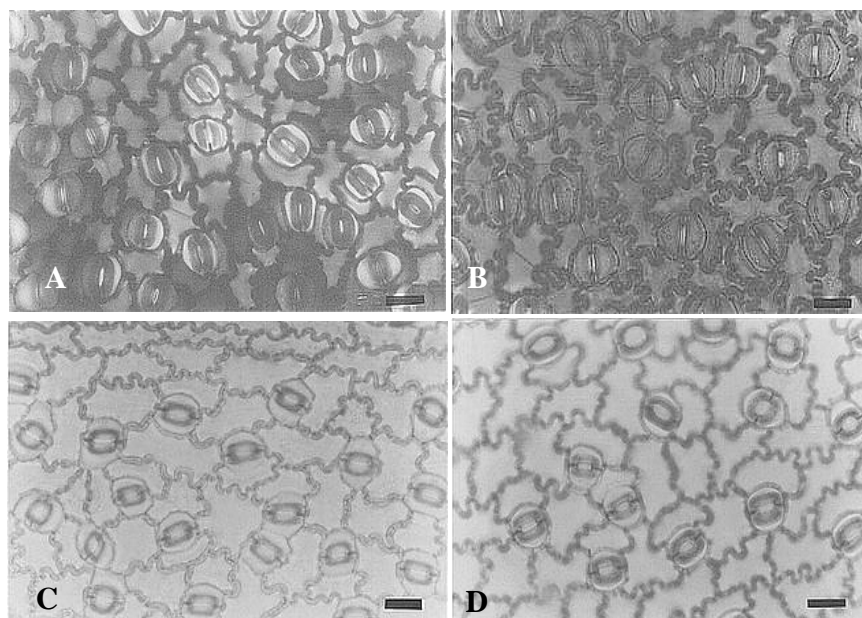


FIGURA 7. Fotomicrografias de epiderme abaxial de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **A** (pleno sol ou 0%), **B** (30%), **C** (50%) e **D** (70%) de sombreamento. Barra corresponde a 30 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Eletromicrografias da parede celular da epiderme e a cutícula de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* são mostradas na Figura 8.

Morfologicamente, as paredes das células da epiderme encontram-se bastante espessas nas folhas submetidas aos diferentes níveis de sombreamento. A cutícula apresentou-se também muito espessa e esse espessamento da cutícula é uma característica que confere às plantas cultivadas em ambiente natural uma proteção extra contra a ação da radiação solar, pelo reflexo dos raios solares, evitando um superaquecimento do citoplasma das células mesofílicas (Alquini et al., 2003).

Inúmeros dados experimentais mostram que a radiação solar influencia a divisão, o crescimento e a diferenciação celular, promovendo, entre outros efeitos, o espessamento das paredes celulares (Gomes, 2004). Segundo Rizzini (1976), tais características dependem estritamente da luz solar e possuem proporção com a intensidade luminosa. Outros fatores ambientais (água edáfica, umidade atmosférica) modificam a ação da radiação solar sobre os vegetais, intensificando-a ou limitando-a.

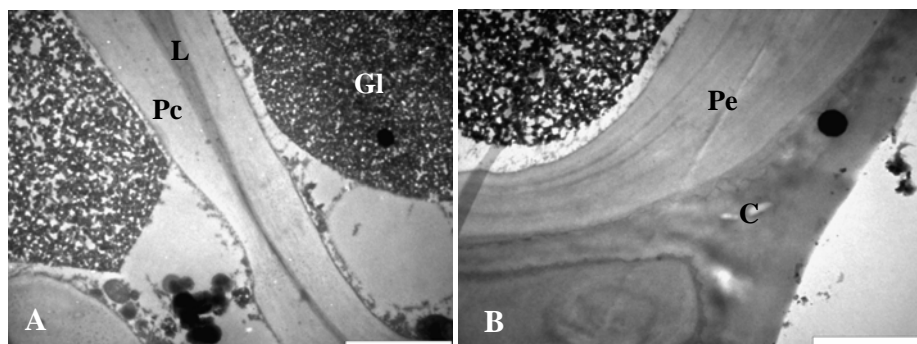


FIGURA 8. Eletromicrografia de transmissão eletrônica (MET) em seções transversais de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento, evidenciando a parede celular de células epidérmicas. **A** (pleno sol ou 0%) evidenciando a região de contato entre duas células, e **B** (50%) a cutícula. **Pc** – parede entre células, **L** – lamela média, **Gl** – glândula de óleo, **C** – cutícula, **Pe** – parede de epiderme. Barra corresponde a 2 $\mu$ m. UFLA, Lavras, MG, 2006.

A ultraestrutura dos cloroplastos de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* é mostrada na Figura 9. Observa-se que a estrutura e o tamanho dos cloroplastos mudaram de acordo com a condição de luminosidade.

Pelos resultados, observa-se que não houve diferenças significativas no número de cloroplastos por célula entre os níveis de sombreamento a que foram

submetidas às plantas jovens de *Calophyllum brasiliense*. Quanto à área e o perímetro dos cloroplastos, nota-se um aumento crescente com os níveis de sombreamento. O comprimento dos cloroplastos foi maior em lâminas foliares de plantas submetidas a 50% de sombreamento em relação às submetidas a pleno sol e 70% de sombreamento; a largura dos cloroplastos foi maior sob 70% de sombreamento em relação aos valores encontrados para plantas sob pleno sol e 50% de sombreamento (Tabela 10).

De acordo com Menezes et al. (2003), espécies com mesófilo dorsiventral apresentam a grande maioria dos cloroplastos encontrada nas células do parênquima paliçádico. Devido à forma e ao arranjo dessas células, os cloroplastos podem se dispor paralelamente às paredes celulares, aumentando a eficiência fotossintética ou reduzindo os danos pelo excesso de luz.

TABELA 10. Valores médios das características dos cloroplastos em lâminas foliares de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Número /célula	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )	Comprimento ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )
Pleno sol (0%)	7,20 a	8,74 b	13,91 b	5,14 b	2,19 b
30%	7,40 a	13,28 a	16,94 a	6,23 ab	2,88 ab
50%	6,10 a	10,61 ab	17,00 a	7,04 a	2,48 b
70%	6,80 a	13,27 a	16,38 ab	5,23 b	3,24 a

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

Em todos os tratamentos, verificou-se a presença de grãos de amido nos cloroplastos (Figura 9), devido à condição de exposição à luz a que foram submetidos. O cloroplasto forma e acumula amido (de assimilação) e as dimensões desses grãos de amido podem variar de acordo com o período do dia,



à medida que os açúcares são formados e, temporariamente, armazenados como amido. Estes grãos tendem a desaparecer no escuro e a aumentar na presença de luz (Gomes, 2004).

Os resultados obtidos demonstram que a maior área de grão de amido encontrado dentro dos cloroplastos de lâminas foliares foi em plantas sob 30% de sombreamento em relação às plantas a pleno sol e o perímetro não diferiu entre os níveis de sombreamento (Tabela 11). Os grãos de amido observados a 70% de sombreamento encontravam-se com aspectos relativamente diferentes dos demais tratamentos, apresentando paredes mais irregulares (Figura 9).

TABELA 11. Valores médios das características dos grãos de amido presentes nos cloroplastos em lâminas foliares de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Níveis de sombreamento	Área ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro ( $\mu\text{m}$ )
Pleno sol (0%)	5,75 b	10,09 a
30%	13,21 a	14,13 a
50%	7,50 ab	12,50 a
70%	9,30 ab	14,01 a

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

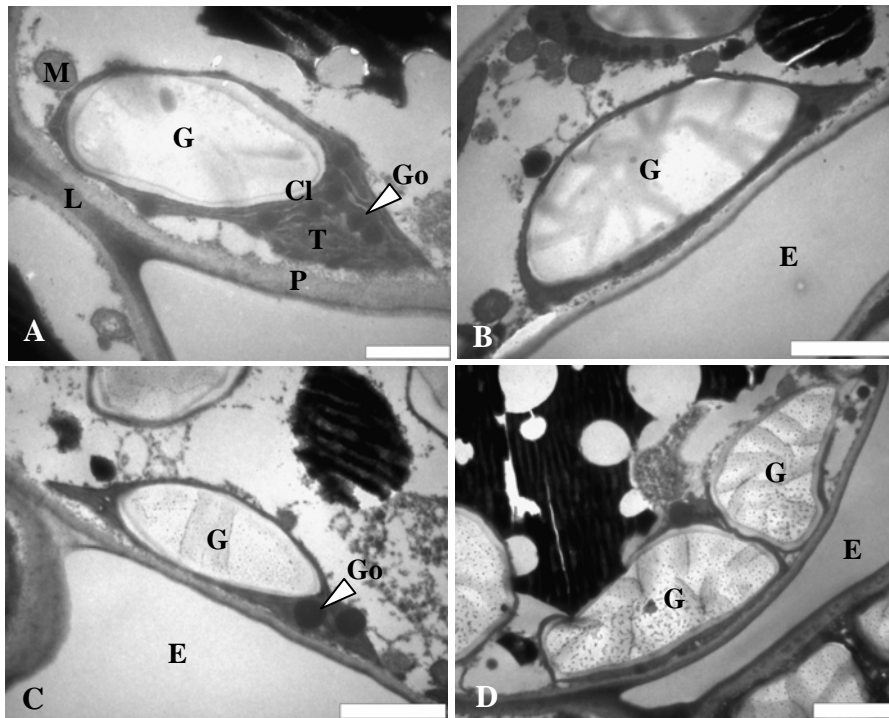


FIGURA 9. Eletromicrografia de transmissão eletrônica (MET) mostrando cloroplastos e grãos de amido nas células do parênquima paliçádico de lâminas foliares de *Calophyllum brasiliense* submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **A** (pleno sol ou 0%, Barra = 1 $\mu$ m), **B** (30%, Barra = 2 $\mu$ m), **C** (50%, Barra = 2 $\mu$ m) e **D** (70%, Barra = 2 $\mu$ m). **Cl** – cloroplasto, **G** – grão de amido no interior do cloroplasto, **T** – tilacóides, **E** – espaço intercelular, **P** – parede primária, **L** – lamela média, **M** – mitocôndria. UFLA, Lavras, MG, 2006.

## 6 CONCLUSÕES

O melhor desempenho vegetativo das mudas da espécie *Calophyllum brasiliense* ocorre a 30% e 50% de sombreamento.

A condição de pleno sol não deve ser recomendada para a formação de mudas desta espécie.

A espécie *Calophyllum brasiliense* desenvolve pouca plasticidade anatômica em relação aos diferentes níveis de sombreamento estudados.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, M. D.; MOSTOLLER, S. A. Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. **Tree Physiology**, Victoria, v. 15, n. 6, p. 361-370, June 1995.

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

ALMEIDA, L. P. de et al. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocarya aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 83-88, jan./fev. 2004.

ALQUINI, Y. et al. Epiderme. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREI, S.M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2003. p.87-108.

ALVARENGA, A. A. de et al. Desenvolvimento de mudas de Guarea [ *Guarea guidonea* (L.) Sleumer]. **Revista Daphne**, Belo Horizonte, v. 8, n. 3 p22-26, jul. 1998.

ALVARENGA, A. A. et al. Effects of different light levels on the initial growth and photosynthesis of *Croton urucurana* Baill. In southeastern Brazil. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 1, p. 53-57, jan./mar. 2003.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, California, v.24, n. 1, p. 1-15, 1949

ATROCH, E. A. C. **Aspectos fisiológicos, anatômicos e biossíntese de flavonóides em plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes níveis de irradiância.** 1999. 62p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

ATROCH, E. M. A. C. et al. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. Submetidas a diferentes condições de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853-862, out./dez. 2001.

BRAND, M H. Shade influences plant growth, leaf color and chlorophyll content of *Kalmia latifolia* L. cultivars. **Hort Science**, Alexandria, v. 32, n. 2, p. 206-208, Apr. 1997.

BARBOSA, A. R.; YAMAMOTO, K.; VALIO, I. F. M. Effect of light and temperature on germination and early growth of *Vochysia tucanorum* Mart. , Vochysiaceae, in cerrado and forest soil under different radiation levels. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 275-280, out. 1999.

BJORKMAN, O.; HOLMGREN, P. Adaptability of photosynthetic apparatus to light intensity in ecotypes from exposed and shade habitats. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 16, n. 4, p. 889-915, 1963.

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 28, p. 355-377, 1977.

BOERGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estágios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, v.26, n.1, p.61-72, mar. 2003.

CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 281-288, mar. 2002.

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

CASTRO, E. M. **Alterações anatómicas, fisiológicas e fitoquímicas em plantas de *Mikania glomerata* Sprengel (guaco) sob diferentes fotoperíodos e níveis de sombreamento.** 2002. 221 p. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CASTRO, E. M. et al. Aspectos da anatomia foliar de mudas de *Guarea guidonea* (L.) Sleumer, sob diferentes níveis de sombreamento. **Daphine**, Belo Horizonte, v. 8, n. 4, p. 31-35, dez. 1998.

DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R.; BOTELHO, S.A. **Propagação de espécies florestais.** Belo Horizonte: CEMIG/UFLA/FAEPE, 1995. 40p.

DIAS-FILHO, M. B. Physiological response of *Solanum crinitum* Lam. To contrasting light environment. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 8, p. 789-796, ago. 1997.

DUKE, S. O.; KENYON, W. H. Effects of dimethazone (FMC 57020) on chloroplast development II. Pigment synthesis and photosynthetic function in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) primary leaves. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 25, n. 1, p. 11-18, Feb. 1986.

ELLSWORTH, D. S.; REICH, P. B. Leaf mass per area, nitrogen content and photosynthetic carbon gain in *Acer saccharum* seedlings in contrasting forest light environments. **Functional Ecology**, Oxford, v. 6, n. 4, p. 423-435, 1992.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofilas nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

ENGEL, V. L. **Influência do sombreamento sobre o crescimento de mudas de essências nativas, concentração de clorofila nas folhas e aspectos de anatomia.** 1989. 202 p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

EVANS, J. R.. Partitioning of Nitrogen between and within leaves grown under different irradiances. **Australian Journal of Plant Physiology**, East Melbourne, v. 16, p. 533-548, 1989.

FELFILI, J. M. Comportamento de plântulas de *Sclerolobium paniculatum* Vog. Var. *rubiginosum* (Tul.) Benth. Sob diferentes níveis de sombreamento. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 297-301, out. 1999.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4. 3**-Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 1999.

GAJEGO, E. B. et al. Crescimento de plantas jovens de *Maclura tinctoria* e *Hymenaea courbaril* em diferentes condições de sombreamento. In: CONGRESSO NACIONAL DE FISILOGIA, 8., 2001, Ilhéus. **Anais...** Ilhéus, BA, 2001. CD-ROM.

GOMES, I. A. C. **Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) ‘Oeiras’ sob influência do sombreamento por leguminosas.** 2004. 63 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GONÇALVES, J. F. DE C.; MARENCO, R. A.; VIEIRA, G. Concentration of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of mahogany and tonka Bean under two light environments. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 149-157, 2001.

GRAÇA, M.E.C. **Influence of light intensity on growth nodulation and nitrogen fixation of selected woody actinorhizal species.** 1983. 109p. Philosophy Doctor Thesis-Purdue University, Purdue..

HANBA, Y. T.; KOGAMI, H.; TERASHIMA, L. The effects of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. **Plant Cell and Environment** Oxford, v. 25, n. 8, p. 1021-1030, Aug. 2002.

INOUE, M.T. Bases fisiológicas para a silvicultura de espécies nativas. In: INOUE et alii, ed. **A silvicultura de espécies nativas.** Curitiba: FUPEF, 1983. p. 1-18.

INOUE, M.T; TORRES, D. V. Comportamento de mudas de *Araucaria augustifolia* (Bert.) O. Ktze, em dependência da intensidade luminosa. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 10, n. 1, p. 7-11, jun. 1980.

JOHNSON, C.M. et al. Comparative chlorine requirements of different plants species. **Plant and Soil**, v.8, p.337-353, 1957.

KLICH, M. G. Leaf variations in *Elaeagnus angustifolia* related to environment heterogeneity. **Environment and Experimental Botany**, Elmsford, v. 44, n. 3, p. 171-183, Dec. 2000.

KOZLOWSKI, T. et al. **The physiological ecology of woody plants**. London : Academic, 1991. 657p.

KRAMER, P. J.; KOSLOWSKI, T. **Physiology of woods plants**. New York: Academic, 1979. 811 p.

LABOURIAL, L. G. et al. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell) Toledo I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 2, p. 237-257, set. 1961.

LEE, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two southeast asian Hopea (*Dipterocarpaceae*) species. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 87, n. 4, p. 447-455, Apr. 2000.

LIMA JÚNIOR, E. de C. **Germinação, armazenamento de sementes e fisionomia de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb.** 2004. 115 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LIMA JÚNIOR, E. de C. et al. Trocas gasosas, características das folhas e crescimento de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v35, n.5, p.1092-1097, set./out. 2005.

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

MENDES, M. M.; GAZARINI, L. C.; RODRIGUES M. L. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting mediterranean light environment - effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. **Environment and Experimental Botany**, Elmsford, v. 45, n. 2, p. 165-178, Apr. 2001.

MENEZES, N.L.; SILVA, D.C.; PINNA, G.F.M. Folha. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. Viçosa, MG: UFV, 2003. 438p.

MITCHELL, R. L. **Crop growth and culture**. Ames: The Iowa State University Press, 1979. 349 p.

- MORAIS, H. et al. Características fisiológicas e de crescimento de cafeeiro sombreado com guandu e cultivado a pleno sol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 10, p. 1131-1137, out. 2003.
- NAKAZONO, E. M. et al. Crescimento inicial de *Euterpe edulis* Mart em diferentes regimes de luz. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 173-179, jun. 2001.
- NAVES, V. L. **Crescimento, distribuição de matéria seca, concentração de clorofilas e comportamento estomático de mudas de três espécies florestais submetidas à diferentes níveis de irradiação fotossinteticamente ativa**. 1993. 76 p. Dissertação (Mestrado)-Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG.
- NYGREN, M.; KELLOMAKI, S. Effect of shading on leaf structure and photosynthesis in young birches, *Betula pendula* Roth and *B. pubescens* Ehrh. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 7, p. 119-132, 1983/1984.
- PAEZ, A. et al. Growth, soluble carbohydrates, and aloin concentration of *Aloe vera* plants exposed to three irradiance levels. **Environmental and experimental Botany**, Elmsford, v.44, p.133-139, 2000.
- RAMOS, K. M. O. et al. Desenvolvimento inicial e repartição de biomassa de *Amburana cearensis* (Allemão) A.C. Smith, em diferentes condições de sombreamento. **Acta botânica brasílica**, v. 18, n. 2, p. 351-358, 2004.
- REZENDE, M. R. R. **Germinação, armazenamento de sementes e crescimento inicial de *Campomanesia rufa* (Berg.) Nied**. 2004. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia. Fisiologia Vegetal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- RIZZINI, C. T. **Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos**. São Paulo: HUCITEC/EDUSP, 1976. 327 p.
- ROWLEY, C. R.; MORAN, D. T. A simple procedure for mounting wrinkle free section on formvar-coated slot grids. **Ultramicrotomy**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 151-155, 1975.
- SANDMANN, G; BÖGER, P. Comparison of the Bleaching Activity of Norflurazon and Oxyfluorfen. **Weed Science**, Champaign, v. 31, n. 3, p. 338-341, May 1983.



SCALON, S. de P. Q. et al. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob condição de sombreamento. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 27, n. 6, p. 753-758, 2003.

SCALON, S. P. Q. et al. F. Germinação e crescimento de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 652-655, dez. 2001.

SOUSA-SILVA, J.C. et al. Desenvolvimento inicial de *Cabrlea canjerana* Saldanha em diferentes condições de luz. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, v.4 p.80-89, 1999.

THOMPSON, W.A.; HUANG, L.K.; KRIEDEMANN, P.E. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. II. Leaf gas exchange and component processes of photosynthesis. **Australian Journal of Plant Physiology**, East Melbourne, v.19, p.19-42, 1992.

VILELA A. E.; RAVETTA, D. A. The effect of radiation on seedling growth and physiology in four species of *Proposis* L. (*Mimosaceae*). **Journal of Arid Environmemntal**, London, v. 44, n. 4, p. 415-423, Apr. 2000.

WHATLEY, F. H.; WHATLEY, F. R. **A luz e a vida das plantas**: temas de biologia. São Paulo: EDUSP, 1982. v. 30, 101 p.

WALTERS, M.B.; KRUGER, E.L.; REICH, P.B. Growth, biomass distribution and CO<sub>2</sub> exchange of northern hardwood seedlings in higt and low light: relationships with successional status and shade tolerance. **Ecologia**, Berlin, v.94, p.7-16. 1993.

## ANEXOS

	<b>Pág.</b>	
TABELA 1A	Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de umidade (Umid), condição de armazenamento (Cond) e embalagem (Emb), para o teste de germinação, no período de armazenamento (tempo) de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	166
TABELA 2A	Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de umidade (Umid), condição de armazenamento (Cond) e embalagem (Emb), para IVG, no período de armazenamento (tempo) de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	167
TABELA 3A	Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de condição de armazenamento fixados, embalagem e tempo, para IVG, no período de armazenamento de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	168
TABELA 4A	Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de embalagem fixados, condição de armazenamento e tempo, para IVG, no período de armazenamento de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	168
TABELA 5A	Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de tempo fixados, condição de armazenamento e embalagem, para IVG, no período de armazenamento de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	169
TABELA 6A	Resumo do quadro de médias estimadas para o desdobramento dos níveis de condição de armazenamento, embalagem e tempo, para IVG, no período de armazenamento de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	170
TABELA 7A	Quadro de probabilidades para comparações das médias estimadas para os níveis de condição de armazenamento, embalagem e tempo de armazenamento de sementes de <i>C. brasiliense</i> . UFLA, Lavras, MG, 2006.....	171

**TABELA 1A.** Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de umidade (Umid), condição de armazenamento (Cond) e embalagem (Emb), para o teste de germinação, no período de armazenamento (tempo) de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

FV	GL	QM
Umidade	1	0,0001 NS
Condição	1	0,0039 *
Umi x cond	1	0,0004 NS
Embalagem	2	0,0075 *
Umi x emb	2	0,0003 NS
Cond x emb	2	0,0007 NS
Umi x cond x emb	2	0,0005 NS
Tempo	3	0,0188 *
Umi x tempo	3	0,0000 NS
Cond x tempo	3	0,0007 NS
Umi x cond x tempo	1	0,0001 NS
Emb x tempo	5	0,0004 NS
Umi x emb x tempo	3	0,0000 NS
Cond x emb x tempo	3	0,0007 NS
Umi x cond x emb x tempo	2	0,0000 NS
Erro	95	0,0006
Total	130	
CV (%)	2,29	

**TABELA 2A.** Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de umidade (Umid), condição de armazenamento (Cond) e embalagem (Emb), para IVG, no período de armazenamento (tempo) de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

FV	GL	QM
Umidade	1	0,0000 NS
Condição	1	2,9334 *
Umid x cond	1	0,5516 *
Embalagem	2	5,5427 *
Umid x emb	2	1,2731 *
Cond x emb	2	0,2310 *
Umid x cond x emb	2	0,2051 *
Tempo	3	17,9903 *
Umid x tempo	3	0,5490 *
Cond x tempo	3	0,2022 *
Umid x cond x tempo	1	0,0235 NS
Emb x tempo	5	0,1426 *
Umid x emb x tempo	3	0,3257 *
Cond x emb x tempo	3	0,4284 *
Umid x cond x emb x tempo	2	0,0039 *
Erro	90	0,0220
Total	125	
CV (%)	11,04	

**TABELA 3A.** Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de condição de armazenamento fixados, embalagem e tempo, para IVG, no período de armazenamento de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Embalagem	Tempo	GL	QM
Alumínio	3	1	0,2621 *
	6	1	0,4467 *
	9	0	-
	12	0	-
Papel	3	1	0,4142 *
	6	1	0,3088 *
	9	0	-
Plástico	3	1	0,0027 *
	6	1	1,6617 NS
	9	0	-
	12	0	-

**TABELA 4A.** Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de embalagem fixados, condição de armazenamento e tempo, para IVG, no período de armazenamento de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condição	Tempo	GL	QM
Câmara fria	3	2	0,5783 *
	6	2	1,5480 *
	9	0	-
	12	0	-
Ambiente	3	2	1,5769 *
	6	2	0,6559 *
	9	1	1,1556 *
	12	0	-

**TABELA 5A.** Resumo da análise de variância para o desdobramento dos níveis de tempo fixados, condição de armazenamento e embalagem, para IVG, no período de armazenamento de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condição	Embalagem	GL	QM
Câmara fria	Alumínio	1	0,4800 *
	Papel	1	2,4837 *
	Plástico	2	16,6507 *
Ambiente	Alumínio	1	1,9555 *
	Papel	2	2,7807 *
	Plástico	2	5,9701 *

**TABELA 6A.** Resumo do quadro de médias estimadas para o desdobramento dos níveis de condição de armazenamento, embalagem e tempo, para IVG, no período de armazenamento de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Condição	Embalagem	Tempo	Média estimada	Número para comparação
Câmara fria	Alumínio	3	2,2334	1
		6	1,8121	2
		9	Non-est	3
Câmara fria	Papel	3	2,0004	4
		6	1,3744	5
		9	Non-est	6
Câmara fria	plástico	3	2,3760	7
		6	2,2296	8
		9	Non-est	9
		12	1,0766	10
Ambiente	Alumínio	3	1,9889	11
		6	1,4532	12
		9	Non-est	13
		12	Non-est	14
Ambiente	Papel	3	1,7385	15
		6	1,1952	16
		9	1,0566	17
Ambiente	Plástico	3	2,3925	18
		6	1,5646	19
		9	1,2907	20
		12	Non-est	21

**TABELA 7A.** Quadro de probabilidades para comparações das médias estimadas para os níveis de condição de armazenamento, embalagem e tempo de armazenamento de sementes de *C. brasiliense*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

i/j	1	2	3	4	5	6	7
1		0.0010	.	0.1555	<.0001	.	0.7077
2	0.0010		.	0.5587	<.0001	.	<.0001
3	.	.		.	.	.	.
4	0.1555	0.5587	.		<.0001	.	<.0001
5	<.0001	<.0001	.	<.0001		.	<.0001
6	.	.	.	.	.	.	.
7	0.7077	<.0001	.	<.0001	<.0001	.	.
8	1.0000	0.0016	.	0.2100	<.0001	.	0.7223
9	.	.	.	.	.	.	.
10	<.0001	<.0001	.	<.0001	<.0001	.	<.0001
11	0.0565	0.5548	.	1.0000	<.0001	.	<.0001
12	<.0001	0.0018	.	<.0001	0.9896	.	<.0001
13	.	.	.	.	.	.	.
14	.	.	.	.	.	.	.
15	<.0001	0.9997	.	0.0033	<.0001	.	<.0001
16	<.0001	<.0001	.	<.0001	0.0238	.	<.0001
17	<.0001	<.0001	.	<.0001	<.0001	.	<.0001
18	0.6685	<.0001	.	<.0001	<.0001	.	1.0000
19	<.0001	0.1192	.	<.0001	0.0697	.	<.0001
20	<.0001	<.0001	.	<.0001	0.9018	.	<.0001
21	.	.	.	.	.	.	.

“...continua...”



TABELA 7A. CONT.

i/j	8	9	10	11	12	13	14
1	1.0000	.	<.0001	0.0565	<.0001	.	.
2	0.0016	.	<.0001	0.5548	0.0018	.	.
3	.	.	.	.	.	.	.
4	0.2100	.	<.0001	1.0000	<.0001	.	.
5	<.0001	.	<.0001	<.0001	0.9896	.	.
6	.	.	.	.	.	.	.
7	0.7223	.	<.0001	<.0001	<.0001	.	.
8	.	.	<.0001	0.0878	<.0001	.	.
9	.	.	.	.	.	.	.
10	<.0001	.	.	<.0001	<.0001	.	.
11	0.0878	.	<.0001	<.0001	<.0001	.	.
12	<.0001	.	<.0001	<.0001	.	.	.
13	.	.	.	.	.	.	.
14	.	.	.	.	.	.	.
15	<.0001	.	<.0001	0.0009	0.0007	.	.
16	<.0001	.	0.1079	<.0001	0.0005	.	.
17	<.0001	.	1.0000	<.0001	<.0001	.	.
18	0.6800	.	<.0001	<.0001	<.0001	.	.
19	<.0001	.	<.0001	<.0001	0.8835	.	.
20	<.0001	.	<.0001	<.0001	0.1428	.	.
21	.	.	.	.	.	.	.

"...continua..."

TABELA 7A. CONT.

i/j	15	16	17	18	19	20	21
1	<.0001	<.0001	<.0001	0.6685	<.0001	<.0001	.
2	0.9997	<.0001	<.0001	<.0001	0.1192	<.0001	.
3	.	.	.	.	.	.	.
4	0.0033	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	.
5	<.0001	0.0238	<.0001	<.0001	0.0697	0.9018	.
6	.	.	.	.	.	.	.
7	<.0001	<.0001	<.0001	1.0000	<.0001	<.0001	.
8	<.0001	<.0001	<.0001	0.6800	<.0001	<.0001	.
9	.	.	.	.	.	.	.
10	<.0001	0.1079	1.0000	<.0001	<.0001	<.0001	.
11	0.0009	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	.
12	0.0007	0.0005	<.0001	<.0001	0.8835	0.1428	.
13	.	.	.	.	.	.	.
14	.	.	.	.	.	.	.
15	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1733	<.0001	.
16	<.0001	0.0063	0.0063	<.0001	<.0001	0.5607	.
17	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	.
18	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	.
19	0.1733	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	.
20	<.0001	0.5607	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	.
21	.	.	.	.	.	.	.