

GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CONTEÚDO DE FLAVONÓIDES EM PLANTAS DO GÊNERO Plantago

MÁRCIA DÉBORA DOS SANTOS

MÁRCIA DÉBORA DOS SANTOS

GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CONTEÚDO DE FLAVONÓIDES EM PLANTAS DO GÊNERO Plantago

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

Orientador
Amauri Al- de Alvarenga

LAVRAS MINAS GERAIS – BRASIL 1999

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

Santos, Márcia Débora dos

Germinação de sementes e conteúdo de flavonóides em plantas do gênero Plango / Márcia Débora dos Santos. – Lavras : UFLA, 1999. – Lavras : UFLA, 1999.

46 p.: il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga. Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

 Plantago. 2. Germinação. 3. Flavonóide. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.88389

MÁRCIA DÉBORA DOS SANTOS

GERMINAÇÃO DE SEMENTES E CONTEÚDO DE FLAVONÓIDES EM PLANTAS DO GÊNERO Plantago

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

APROVADA em 16 de dezembro de 1999

Prof. Moacir Pasqual

Prof^a Angela Maria Soares

Prof. Amauri Alves de Alvarenga UFLA (Orientador)

LAVRAS MINAS GERAIS – BRASIL 1999

AOS MEUS PAIS, ALENCAR E MARTHA.

DEDICO

AO PAI CELESTIAL, OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À Deus, que tornou possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais e minha irmã, pelo amor, compreensão, e por sempre acreditaram em mim.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Biologia/Seção de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao professor Amauri Alves de Alvarenga, pela orientação e amizade.

Ao Instituto de Botânica-SP, por permitir a realização de parte do meu trabalho.

À Dra. Maria Cláudia Marx Yong, pela orientação e apoio nos trabalhos de flavonóides.

À Dra. Cecília T. T. Blatt, pelo incentivo e auxílio sempre que necessário, e sobretudo, pela amizade em todos os momentos.

À Ana Cardoso Clemente filha, pela dedicada colaboração na realização das análises estatísticas.

Aos amigos de curso, Paulo, Alessandro, Bárbara, Patrícia e Claudia, pelo convívio e respeito.

À todos os funcionários da Seção de Fisiologia Vegetal pela ajuda e amizade.

À todos os familiares e amigos, que mesmo de longe torceram por mim.

À todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

What is a	Página
RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÉTE A A	
CAPÍTULO 1	1
I INTRODUCAO GERAL	1
2 REFERENCIAL TEORICO	2
2.1 Caracterização e importância de <i>Plantago</i> L.	2
2.2 Fisiologia da germinação de sementes	3
2.2.1 Osmocondicionamento de sementes	3
2.2.2 Armazenamento X temperatura	5
2.3 Flavonoides	٥
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
	•••••
CAPÍTULO 2: Determinação do teor de flavonóides de quatro espécies	
do gênero <i>Plantago</i>	
1 RESUMO	17
2 ABSTRACT	18
3 INTRODUÇÃO	10
4 METODOLOGIA.	10
4.1 Análise de flavonóides	10
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	15 20
9 CONCLUSAO	22
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
	4 <i>L</i>
CAPÍTULO 3:Efeitos do osmocondicionamento na germinação de sement	00
de Plantago major	CS
1 RESUMO	24
2 ABSTRACT	25
3 INTRODUÇÃO	25
4 METODOLOGIA	20
4.1 Osmocondicionamento das sementes	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
6 CONCLUSÃO	28
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
	33
CAPÍTULO 4: Efeitos da temperatura no armazenamento e germinação	
de sementes de <i>Plantago major</i>	
RESUMO	2.4
	34

2 ABSTRACT	36
3 INTRODUÇÃO	
4 METODOLOGIA	37
4.1 Germinação de sementes de Plantago major sob diferentes temperatura	S
e condições de armazenamento	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 Tipos de embalagem	
5.2 Temperatura de armazenamento	39
5.3 Temperatura de germinação	42
6 CONCLUSÃO	45
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

RESUMO

SANTOS, Márcia Débora dos. Germinação de sementes e conteúdo de flavonóides em plantas do gênero *Plantago*. Lavras: UFLA, 1999. 46p. (Dissertação-Mestrado em Fisiologia Vegetal).

O nome tansagem é usado para designar plantas de diversas espécies do gênero Plantago, pertencentes à família Plantaginaceae. Plantago é o único gênero da família rico em espécies. Sob o aspecto medicinal, às folhas de Plantago spp. são atribuídas diversa propriedades terapêuticas, como atividade antiinflamatória, diurética e antiasmática, devidas principalmente ao seu teor de flavonóides. A tansagem propaga-se por sementes, sendo que a germinação das espécies de Plantago é afetada principalmente pela idade, temperatura e luz. Desse modo o presente trabalho teve como objetivos principais o estabelecimento de metodologias visando a manutenção da qualidade fisiológica das sementes de tansagem e a quantificação do teor de flavonóides espécies quatro do gênero Plantago. experimentos Os osmocondicionamento das sementes mostraram que os tratamentos com PEG e sais inorgânicos afetam a porcentagem de germinação em P. major, no entanto, os tratamentos com Ca(NO₃)₂ durante 4 e 8 dias e PEG 1 durante 8 dias reduziram o IVG. Sementes armazenadas sob condições de laboratório a 25°C apresentaram maiores valores para porcentagem de germinação nos períodos de 30 e 100 dias de armazenamento, A temperatura mais eficiente em elevar a porcentagem de germinação em todos os períodos de armazenamento foi a de 30/20°C, além disso, as embalagens empregadas no armazenamento não afetaram a porcentagem de germinação. As quatro espécies de Plantago analisadas no presente estudo apresentaram variação interespecífica com relação ao seu conteúdo flavonoídico

Comitê Orientador: Amauri Alves de Alvarenga - UFLA (Orientador), Maria Cláudia Marx Young - Instituto de Botânica/SP (Co-orientadora).

ABSTRACT

SANTOS, Márcia Débora dos. Germination of seeds and flavonoids content in plants of the genus *Plantago*. Lavras: UFLA, 1999.46p. (Dissertação-Mestrado em Fisiologia Vegetal).

The name "tansagem" is used in Brazil to nominate plants of several species of the genus Plantago, that belongs to the family Plantaginaceae. Plantago is the only genus of this family that is rich in species. Under the medicinal aspect,. several therapeutic properties are attributed to the leaves of Plantago spp, as anti-inflammatory, diuretics and anti-asthmatic activity, due mainly to its flavonoid content. The tansagem spreads by seeds, and the germination of Plantago species is affected mainly by age, temperature and light. So, the principal objectives of the present work was the establishment of methodologies seeking the maintenance of the physiologic quality of tansagem seeds and the quantification of flavonoids content in four species of Plantago genus. The experiments of seeds osmo-conditioning showed that the treatments with PEG and inorganic salts affect the germination percentage in P. major, however, the treatments with Ca(NO₃)₂ for 4 and 8 days and PEG 1 for 8 days have reduced IVG. Seeds that were stored under laboratory conditions at 25°C showed bigger values of germination percentage in storage periods of 30 and 100 days. The most efficient temperature in increasing the germination percentage in all storage periods was 30/20°C. Besides, the packages employed in the storage didn't affect the germination percentage. The four species of Plantago analyzed in the present study presented inter-specific variation regarding to their flavonoid content.

Guidance Committee: Amauri Alves de Alvarenga - UFLA (Major Professor), Maria Cláudia Marx Young - Instituto de Botânica/SP(.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A utilização de plantas medicinais é uma prática generalizada na medicina popular. É o resultado do acúmulo secular de conhecimentos empíricos sobre a ação dos vegetais, por diversos grupos étnicos. Observações realizadas até agora permitem supor que todas as formações culturais fazem uso de plantas como recurso medicinal.

As plantas têm uma função historicamente importante como fonte de drogas prescritas na medicina tradicional e seus princípios ativos também servem como cópia para otimização da fabricação de drogas sintéticas e provendo intermediários que são usados na produção de drogas semi-sintéticas.

A carência de informações científicas sobre plantas medicinais ou com potencial medicinal tem levado cientistas a direcionarem suas pesquisas não somente ao nível farmacológico e químico, mas também aos níveis fitotécnicos do crescimento, desenvolvimento e produção.

Entre a diversidade de espécies medicinais selecionou-se para esse estudo a tansagem (*Plantago ssp.*), por apresentar efeito antiinflamatório, diurético e antiasmático, entre outros. Poucos são os estudos realizados sobre a germinação de tansagem, bem como a biossíntese de metabólitos secundários. Com esse trabalho procurou-se o estabelecimento de metodologias visando a manutenção da qualidade fisiológica das sementes de tansagem por via sexuada e o estudo do teor flavonoídico em quatro espécies de tansagem (*Plantago major*, *Plantago asiatica*, *Plantago lanceolata e Plantago tomentosa*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Caracterização e importância de Plantago L.

A familia Plantaginaceae é constituída por três gêneros e cerca de 250 espécies, distribuídas amplamente em todo o mundo. No Brasil, essa família está representada por 16 espécies de plantas invasoras. Tais espécies ocorrem abundantemente em regiões temperadas e serras tropicais nos estados do sul e sudeste do país (Silva Filho et al., 1994).

As espécies de *Plantago* analisadas no presente trabalho, *P. asiatica*, *P. lanceolata*, *P. major* e *P. tomentosa*, são conhecidas popularmente como tansagem, tranchagem e plantagem (Silva Filho et al., 1994).

Apesar do efeito antiinflamatório ser o mais difundido, alguns autores relatam a utilização de *P. major* para diarréia crônica e disenteria (Modi, Metha e Gupta, 1974), diminuição do colesterol do sangue (Taneja et al., 1989), atividade hipoglicêmica (Tomoda et al., 1987), tônico, febrífugo, emoliente, cicatrizante, anti-hemorroidal, expectorante, purificador do sangue e adstringente (Morgan, 1979; Lorenzi, 1982 e Campelo, 1990), antialergênico (Basaran et al., 1997) e analgésico (Guillén et al., 1997).

Na medicina popular, a parte aérea de *Plantago lanceolata* é usada como antiinflamatório, antibacteriano, antiasmático (Fons et al., 1998) e diurético (Murai, Tamayama e Nishibe, 1995).

As folhas de *Plantago asiatica* têm sido utilizadas desde os tempos remotos como diurético, antiinflamatório, antiasmático (Nishibe et al., 1995a); doenças dos rins (Myase et al., 1991), hipoglicêmico (Tomoda et al., 1991) e antivirótico (Chang, 1997).

Gavilanes, Cardoso e Brandão (1988) e Silva Filho e Brandão (1992) mencionam o uso das folhas de *Plantago tomentosa* como adstringente, afrodisíaco, tônico e anti-séptico.

Destas espécies, *P. tomentosa* apresenta distribuição geográfica mais restrita se comparada às outras três que são praticamente cosmopolitas, sendo, entretanto, mais comum em alguns estados brasileiros, como São Paulo (Lorenzi, 1982).

2.2 Fisiologia da germinação de sementes

A germinação de sementes, dentro do biociclo vegetal, é um estádio crítico no processo de perpetuação da espécie. Ela pode ser considerada como uma série de conversões metabólicas de reserva, que levam à retomada do crescimento do eixo embrionário. O processo de germinação é controlado por fatores intrínsecos e extrínsecos, os quais podem ser representados pela composição química da semente, seu balanço hormonal e fatores ambientais, destacando-se neste último a temperatura, luz, umidade e oxigênio (Bewley e Black, 1982).

2.2.1 Osmocondicionamento de sementes

Osmocondicionamento (ou "priming") é uma técnica de pré-germinação usada para elevar a taxa de germinação de sementes (Bewley e Black, 1994), acentuar sua uniformidade (Ashraf e Bray, 1993) e promover o vigor de sementes maturas (Jett e Welbaun, 1995). "Priming" envolve a hidratação de sementes em uma solução osmótica que promove os processos preliminares da germinação, mas não a fase final da emergência da radícula. Durante a

embebição ocorrem danos às sementes que são manifestadas através da perda de solutos das sementes, redução do vigor ou incapacidade de produzir plântulas normais. Paralelamente à entrada de água, as sementes liberam açúcares, ácidos orgânicos, aminoácidos, enzimas e cátions (Na, K, Ca, etc).

O osmocondicionamento promove uma profunda reorganização fisiológica na semente e os processos metabólicos iniciados durante a embebição e interrompidos não se revertem pela secagem subsequente, de tal maneira que as sementes, ao serem recolocadas no ambiente favorável à germinação, a tornam mais rápida (Mauromicale e Cavallaro, 1995).

O híbrido shurumken (sh-2) de milho (Zea mays L.) apresenta uma emergência insuficiente. Sung e Chang (1993) submeteram sementes desta espécie ao osmocondicionamento com polietileno glicol e vermiculita úmida, seguido de secagem para acentuar a emergência das plântulas. Ambos os tratamentos de osmocondicionamento aumentaram a taxa de emergência, tempo de emergência e uniformidade de emergência, por melhorarem a integridade da membrana, bem como estimular o aumento da síntese de proteína e ácidos nucléicos.

Em sementes de aipo (Apium graveolens L.), altas temperaturas diminuem a porcentagem de germinação, afetando a uniformidade das plântulas, acarretando em graves implicações para a agricultura. Os efeitos inibitórios das altas temperaturas têm sido relacionados a uma acumulação gradual de inibidores de germinação e/ou diminuição de giberelinas e citocininas. Com a técnica de osmocondicionamento, que parece promover a síntese de giberelina endógena, emergência de plântulas mais uniformes e aumento na porcentagem de germinação têm sido obtidos em vários cultivares de aipo, quando submetidos a altas temperaturas. (Pérez-Garcia et al., 1995).

Após osmocondicionamento em NaCl, sementes de pimenta (Capsicum amuum L.) apresentaram elevação nos níveis de mRNA e das enzimas glucose-

6-fosfo-desidrogenase (G6P), 6-fosfogluconato desidrogenase (6PG) e álcool desidrogenase (ADH). A indução de síntese protéica e o aumento da atividade enzimática parecem estar associados ao processo de embebição nos primeiros estádios da germinação, sugerindo que o osmocondicionamento poderia influenciar os eventos que precedem a protusão da radícula (Smith e Cobb, 1992).

Uma das mais importantes plantas ornamentais produzidas em casa de vegetação é o "amor-perfeito". As condições presentes durante os meses quentes de verão provocam efeitos indesejados na germinação, como grande variação entre o tempo de semeadura e emergência, e baixo percentual de germinação. O osmocondicionamento da semente tem sido usado para acentuar a rapidez e melhorar a uniformidade da germinação. No entanto, os efeitos benéficos dependem grandemente do potencial osmótico e da duração do tratamento (Yoon, Lang e Cobb, 1997).

2.2.2 Armazenamento X temperatura

Existe um período de tempo entre a colheita da semente e o plantio, durante o qual há necessidade de armazenamento. É necessária, então, a preservação da sua qualidade fisiológica, para minimizar a velocidade de deterioração (Smith e Berjak,1995). O armazenamento de sementes requer considerável atenção para a manutenção dos embriões viáveis (Corrêa, 1997), portanto é importante prevenir a perda excessiva de água das sementes, respiração ou outras atividades bioquímicas indesejáveis (Kraak, 1993).

Alguns fatores como umidade, temperatura, característica genética, maturidade, gases, luz e dormência, afetam a longevidade das sementes em condições ambientais ou durante o armazenamento controlado. Dentre os fatores do ambiente, destacam-se as condições de temperatura e umidade do ar em que

as sementes são armazenadas, como sendo os principais a afetar a qualidade fisiológica da semente. A umidade relativa do ar controla o teor de umidade da semente, enquanto a temperatura afeta a velocidade e seus processos bioquímicos (Barton, 1961).

Segundo Corrêa (1997), a umidade relativa influencia na qualidade fisiológica das sementes de duas maneiras: a) o conteúdo de umidade da semente é função da umidade relativa do ambiente e b) a infestação por fungos e insetos é fortemente influenciada pela umidade do microambiente das sementes.

A temperatura é outro fator do ambiente que influencia na longevidade da semente durante o armazenamento (Popinigis, 1974, 1985).

Germinação de sementes e produção de plântulas anormais têm sido usadas para avaliar o desempenho de sementes de alho, osmocondicionadas em solução de polietileno glicol, secas por vários métodos, e armazenadas durante 525 dias a 10°C. Todos os tratamentos mantiveram uma elevada porcentagem de germinação após o armazenamento, no entanto, a incidência de plântulas anormais elevou-se com o aumento do tempo de armazenamento a partir de 100 dias, devido a uma progressiva redução na competência apical do meristema da radícula, resultando em anormalidade e morte (Maude et al., 1994).

Cunha, Eira e Rita (1995) avaliaram a resposta à dessecação e armazenamento em baixas temperaturas de sementes de *Virola surinamensis*, uma espécie tropical presente nas planícies alagadas da Floresta Amazônica. Após o tratamento de secagem, amostras de sementes foram submetidas ao armazenamento sob temperaturas de +5°C e -20°C por 72 horas. As sementes mostraram-se sensíveis à dessecação e ao armazenamento sob baixas temperaturas, o que indica evidências de um comportamento recalcitrante, uma vez que sementes de *Virola surinamensis* não podem ser armazenadas sob condições convencionais.

Um outro fator que pode influenciar o processo da germinação são as embalagens em que as sementes são armazenadas. A embalagem, no sentido comercial, visa facilitar a identificação, a venda, e também tornar prático o transporte e o manuseio da semente. Entretanto, a finalidade mais importante é proteger a semente contra perda de umidade, insetos, animais e injúrias no manuseio (Popinigis, 1974).

As embalagens quanto à permeabilidade às trocas gasosas classificam-se em: (Corrêa, 1997)

- a) Embalagens permeáveis: totalmente permeáveis à umidade, permitindo trocas gasosas entre a semente e o ambiente. Como exemplo sobressaem as embalagens de papel e pano. As sementes armazenadas neste tipo de embalagem têm o seu teor de umidade flutuante de acordo com as variações ambientais de umidade relativa, ocorrendo aceleração do seu processo de deterioração quando a umidade é alta;
- b) embalagens impermeáveis: não permitem que ocorra troca de umidade com o ambiente. Neste tipo, as sementes não entram em equilíbrio com a umidade do ar externo à embalagem, assim as sementes deixam de sofrer flutuações no seu teor de umidade, o que favorece mais a sua conservação. Os materiais mais utilizados são o metal, plástico e papel celofane.

Previero, Razera e Groth (1998), em um estudo com sementes de Brachiaria brizantha, verificaram que a umidade é mantida relativamente constante em sementes armazenadas em sacos de polietileno, enquanto a umidade das sementes armazenadas em saco de papel tenderam ao equilíbrio entre a umidade relativa do ambiente.

Segundo Medina (1991), as sementes de goiabeira, depois de tratadas, devem ser acondicionadas em sacos plásticos, conservando o seu poder germinativo por mais de um ano.

Souza, Pires e Lima (1980) estudaram as condições de armazenamento em diferentes embalagens para as sementes de três espécies vegetais. Nas sementes de angico, a maior porcentagem de germinação foi observada nas sementes armazenadas em saco de algodão.

2.3 Flavonóides

Flavonóides são constituintes vegetais provenientes do metabolismo secundário, tendo as suas estruturas baseadas no esqueleto 2-fenilcromano (Bruneton, 1995). Estão incluídas nesta classe de metabólitos secundários, as chalconas, auronas, flavonas, flavanas, catequinas, flavanonas, antocianinas, flavonóis, isoflavonóides e rotenóides (Harborne, 1973).

No sentido mais amplo do termo, flavonóides são pigmentos vegetais universais. Eles são responsáveis pela coloração das flores, frutos e, algumas vezes, das folhas. Chalconas, auronas e alguns flavonóis são responsáveis pela coloração amarela e as antocianinas pela coloração vermelha, azul, ou púrpura ou seus intermediários. Eles contribuem para a coloração agindo como copigmentos, como flavonas e flavonóis incolores protegendo antocianinas (Bruneton, 1995).

Além disso, muitos têm função protetora contra o ataque de patógenos, sendo os isoflavonóides e os rotenóides os principais flavonóides de defesa da planta (Harborne, 1967).

Nos tecidos vegetais, os flavonóides ocorrem de forma conjugada, uma vez que as agliconas fenólicas são presumivelmente tóxicas para as células vivas (Harborne, 1979). Os processos de glicosilação, metilação e hidroxilação são responsáveis pelas variações estruturais dos flavonóides, além de agirem como fatores detoxificadores (Mears, 1980). As formas aglicônicas estão presentes no exterior das células, como no pó farinhoso dos botões florais de *Primula*, na cera

foliar epicuticular de várias espécies (Wollemweber e Dietz, 1981) e universalmente presentes nas células epidérmicas e na cutícula das folhas, onde asseguram proteção aos tecidos contra os efeitos maléficos da radiação UV (Bruneton, 1995).

Dentre os flavonóides, as flavonas e os flavonóis apresentam conjugação mais ampla, sendo considerados os principais pigmentos que absorvem luz UV (Harborne, 1977), além de serem os flavonóides mais comuns (Pieta et al., 1989).

O flavonóides também desempenham importantes funções para a agricultura através de seus efeitos no estabelecimento da simbiose entre legume/(Bradys)-rhizobium e micorrizas, que promovem o aproveitamento dos nutrientes fósforo e nitrogênio para a cultura (Dakora, 1995).

Flavonóides isolados de plantas são usados no tratamento de desordens fisiológicas humanas, sendo uma importante classe de compostos estudados para fins medicinais, destacando-se os efeitos sobre o sistema cardiovascular, as atividades antiinflamatórias, anticarcinogênicas, antimicrobianas, entre outras (Alcaraz e Jiménez, 1988; Spilková e Hubík, 1988, 1992).

A separação e purificação dos diferentes flavonóides são baseadas em técnicas usuais de cromatografia, como cromatografia em papel, em coluna de polivinilpolipirrolidona (PVPP) e Sephadex LH-20. Seguindo a tendência de todos os outros compostos do metabolismo secundário nos últimos anos, HPLC tem sido uma boa opção como técnica de isolamento (Bruneton, 1995).

A caracterização das agliconas e glicosídeos é classicamente dominada por análises por cromatografia em camada delgada e também por cromatografia em papel. Reações de coloração sob luz UV, antes e após nebulização com reagentes e valores de Rf em diferentes sistemas de solventes, são consideradas ferramentas muito úteis na sua identificação (Markham, 1982).

A Tabela 1 ilustra a distribuição de flavonóides nas quatro espécies de Plantago analisadas neste estudo. Os números correspondem às referências bibliográficas.

TABELA 1. Distribuição de flavonóides em plantas do gênero Plantago

Composto	Classe de	P.major	P. asiatica	P.lanceolata	P.tomentosa*
	flavonóides				
Apigenina	Flavona	1,2		1	
Bacaleina	Flavona			6	
Escutelareina	Flavona	1,2		1,6	
Hispidulina	Flavanona	1,4			
Luteolina	Flavona	1,2	7	1	
Nepetina	Flavona	1		1	
Plantagosídeo	Flavanona	5		3	
Cosmoseina	Flavona	2	8		
6-OH-	Flavona	1,2,7			
Luteolina					
6-MeOH-	Flavona	4			
Apigenina					
6-OH-7- <i>O-</i> β-	Flavona	2			
Glucosídeo					
Lutelina-7-O-	Flavona	2			
β-glucuronídeo					
Nepitrina	Flavona	4			
Plantagenina	Flavona	2		9	
Homoplantegenina	Flavona	4			la flavonaídia

^{*} Não foi encontrado nenhum dado na literatura referente à composição flavonoídica

de P.tomentosa

1- Lebedev-Kosov, 1980	5- Yamada et al., 1989		
2- Nishibe et al., 1995 b	6- Maksyuntina, 1971		
3- Endo et al., 1981	7- Harborne & Williams, 1971		
4- Lebedev-Kosov, 1978	8- Háznagy et al., 1976		
	9-Raym et al 1990		

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCARAZ, M.J.; JIMÉNEZ, M.J. Flavonoids as anti-inflammatory agents. Fitoterapia, Milano, v. 59, p. 25-38, 1988.
- ASHRAF, M.; BRAY, C.M. DNA synthesis in osmoprimed leek (Allium porrum L.) seeds and evidence for repair and replication. Seed Science Research, London, v.3, p. 15-23, 1993.
- BARTON, L.V. Seed preservetion and longevity. London: Leonard Hill, 1961. 216 p.
- BASARAN, A.A.; ARITOGLU, I.; UNDEGER, U.; BASARAN, N. Imunnodulatory activies of some turkish medicinal plants. Phytochemistry, Oxford, v. 11, p. 609-611, 1997.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds. New York: Springer Verlag, 1982. 430 p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology and development of germination. London: Plenum, 1994. 445 p.
- BRUNETON, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Paris: Lavoisier, 1995. 748 p.
- CAMPELO, C.R. Plantas medicinais de Pernambuco II. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, Manaus, 1984. Anais... Manaus: Sociedade Botânica do Brasil, 1990.
- CHANG, I.M. Antiviral Activity of Aucubin against Hepatitis B Virus Replication. Phytotherapy Research, London, v. 11, p. 189-192, 1997.
- CORRÊA, F.L.O. Efeito da embalagem e do ambiente de armazenamento na germinação e vigor de sementes de goiabeira (*Psidium guajava L*). Lavras: UFLA, 1997. 57 p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).

- CUNHA, R.; EIRA, M.Y.S.; RITA, I. Germination and desiccation studies on wild seed (*Virola surinamensis*). Seed Science and Technology, Zurich, v. 23, p. 43-49, 1995.
- DAKORA, F.D. Plant Flavonoids: Biological molecules for Useful Explotation.

 Austin Plant Physiology, Canberra, v. 22, p. 87-89, 1995.
- ENDO, T.; TAGUEHI, H; YOSIOKA, T. The glycosides of *Plantago major* var. *japonica* Nakai. A new flavone glycoside, plantagoside. Chemical Pharmaceutical Bulletin, Tokio, v. 29, p. 1000-1004, 1981.
- FONS, F.; GARGADENNEC, A.; GUEIFFIER, A.; ROSSEL, J.L.; ANDARY, C. Effects of Cinnamic Acid on Poliphenol Production in *Plantago lanceolata* L. Phytochemistry, Oxford, v. 49, n. 3, p. 697-702, 1998.
- GAVILANES, M.L.; CARDOSO, C.; BRANDÃO, M. Plantas daninhas como medicamentosas de uso popular. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 13, n. 150, p. 21-29, 1988.
- GUILLÉN, M.E.N.; EMIN, J.A.S.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J. Analgesic and Antiinflamatory Activies of The Aqueous extract of *Plantago major* L. International Jornal of Pharmacognosy, Lisse, v. 35, n. 32, p. 99-104, 1997.
- HARBORNE, J.B. Comparative biochemistry of the flavonoids. London: Academic, 1967. 356 p.
- HARBORNE, J.B. Flavonoids. In: MILLER, L.P Phytochemistry VII.. (ed). New York: Van Nostrand Reinhold, 1973. 326 p.
- HARBORNE, J.B. Flavonoids and the evolution of the angiosperms. Biochemical Systematic and Evolution, Elmsford, v. 7, p. 7-22, 1977.
- HARBORNE, J.B. Variation and functional significance of phenolic conjugation in plants. Recent Advacements in Phytochemistry, New York, v. 12, p. 457-475, 1979.

- HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Comparative biochemistry of flavonoids. XII. 6-Hydroxyluteolin and Scutellarein as Phyletic Makers in Higher Plants. Phytochemistry, Oxford, v. 10, p. 367-378, 1971.
- HÁZNAGY, A.; TÓTH, G.; BULA, E. Apigenin-7-O-monoglucoside in Kraut von *Plantago lanceolata* L. **Pharmazie**, Berlim, v. 31, n. 7, p. 482-483, 1976.
- JETT, L.W.; WELBAUN, G.E. Changes in broccoli (*Brassica oleraceae* L.) seed weight, viability, and vigour during development and following drying and priming. Seed Science and Technology, Zurich, v. 24, p.127-137, 1995.
- KRAAK, H.L. Physiological aspects of storage of recalcitrant seeds In: KRAAK, H.L. Tree seed problems with special references to Africa. Leiden: Bakheys, 1993, 228 p.
- LEBEDEV-KOSOV, V.I. Flavonoids and iridoids of *Plantago major* L. and *Plantago asiatica* L. **Rastit Resource**, Moscou, v. 16, n. 3, p. 403-406, 1980.
- LEBEDEV-KOSOV. V.I.; BYKOV, V.I.; GLYZIN, V.I. Flavonoids of *Plantago major* L. Khimiya Pridodnykh Soedinenii, Tashkent, v. 2, p. 266, 1978.
- LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais Nova Odessa: Plantarum, 1982. 425 p.
- MAKSYUNTINA, N.P. Baicalein and scutellarein derivatives in *Plantago major* L. leaves. Khimiya Pridodnykh Soedinenii, Tashkent, v. 7, n. 3, p. 374-375, 1971.
- MARKHAM, K.R. Techniques of flavonoid identification. London: Academic, 1982. 201 p.
- MAUDE, R.B.; DREW, R.L.K.; GRAY, D.; BUJALSK, W.; NIENOW, A.W. The effects of storage on the germination and seedling abnormalities of leek seeds primed and dried by different methods. Seed Science and Technology, Zurich, v. 22, p. 299-311, 1994.

- MAUROMICALE, G.; CAVALLARO, V. Effects of seed osmopriming on germination of tomato at different water potential. Seed Science and Technology, Zurich, v. 23, p. 393-403, 1995.
- MEARS, J.A. Flavonoid Diversity and Gegraphic Endemism in *Parthenum*. Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 8, p. 361-370, 1980.
- MEDINA, J.C. Cultura In: MEDINA, J. C. Goiaba. Campinas:ITAL, 1991. 139p.
- MODI, S.M.; MEHTA, K.; GUPTA, R. Isagbol a dollar earner of North Gujarat. Indian Farming, Delhi, v. 23, n. 10, p. 17-19, 1974.
- MORGAN, R. Enciclopédia das ervas e plantas medicinais. São Paulo: Hemus, 1979. 555 p.
- MURAI, M.; TAMAYAMA, Y.; NISHIBE, S. Phenylethanoids in the herb of *Plantago lanceolata* and inhibitory effect on arachidonic acid induced moude ear edema. **Planta Medica**, Sttutgart, v. 61, p. 479-481, 1995.
- MYASE, T.; ISHINO, M.; AKAHORI, C.; VENO, A.; OHKAWA, Y.; TANIZAWA, H. Phenylethanoid gycoside from *Plantago asiatica* L. Phytochemistry, Oxford, v. 30, n. 6, p. 2015-2018, 1991.
- NISHIBE, S.; MURAI, M.; TAMAYAMA, Y. Studies on constituents of Plantaginis Herba 7. Flavonoids from *Plantago asiatica* and *Plantago hostifolia* L. Natural Medicines, Tokio, v. 49, n. 3, p. 340-342, 1995.
- NISHIBE, S.; TAMAYAMA, Y.; SASAHARA, M.; ANDARY, C. A Phenylethanoid glycoside from *Plantago asiatica* L. Phytochemistry, Oxford, v. 38, n.3, p. 741-743, 1995.
- PÉREZ-GARCIA, F.; PITA, J.M.; GONZALEZ-BENITO, M.E.; IRIONDO, J.M. Effects of light, temperature and priming on germination of celery seeds (*Apium graveolenses* L.). Seed Science and Technology, Zurich, v. 23, p. 377-383, 1995.

- PIETA, P.G.; MAURI, P.L.; MANERA, E.; CEVA, P.L.; RAVA, A. An improved HPLC determination of flavonoids in medicinal plantas extracts. Chromatographia, Wiesbaden, v. 27, p. 509-512, 1989.
- POPINIGIS, F. Fisiologia de sementes. Brasília: AGIPLAN, 1974. 76 p.
- POPINIGIS, F. Fisiologia de sementes. Brasilia: AGIPLAN, 1985. 78 p.
- PREVIERO, C.A.; RAZERA, L.F.; GROTH, D. Influence of moisture content and type of package on the preservation of *Brachiaria bryzantha* L. seeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n.2, p. 191-197, 1998.
- RAVN, H.; NISHIBE, S.; SASAHARA, M.; XUEBO, L. Phenolic compoundas from *Plantago asiatica* L. **Phytochemistry**, Oxford, v. 29, n. 11, p. 3627-3631, 1990.
- SILVA FILHO, P.V.; BRANDÃO, M. Plantas medicamentosas de uso popular coletadas e comercializadas na região metropolitana de Belo Horizonte. **Daphne**, Stokholm, v. 2, n.2, p. 39-59, 1992.
- SILVA FILHO, P.V.; LACA-BUENDIA, J.P.; OLIVEIRA, L.M.S.; REZENDE, W.M. Ciclo biológico de duas espécies do gênero *Plantago* L. ocorrentes no Estado de minas Gerais. **Daphne**, Stockholm, v. 4, n. 1, p. 39-45, 1994.
- SMITH, M.T.; BERJAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored dessication-tolerant and dessication-sensitive seeds. In: Seed Development and Germination. New York: Marcel Dekker Inc, 1995. 487 p.
- SMITH, P.T.; COBB, B.G. Physiological and enzymatic characterists of primed pepper seeds (*Capsicum annum*). Seed Science and Technology, Zurich, v. 20, p. 503-513, 1992.
- SOUZA, S.M.M.; PIRES, I.E.; LIMA, P.C.F. Efeito dos tipos de embalagens e condições de armazenamento na preservação de sementes de aroeira (Astronerium urundina). Boletim de Pesquisa-EMBRAPA, Brasília, n. 2, p. 15-24, 1980.

- SPILKOVÁ, J.; HUBÍK, J. Biologische Wirkungen von Flavonoiden.

 Pharmazie in Unserer Zeit, Wheimheim, v. 17, n. 1, p. 1-9, 1988.
- SPILKOVÁ, J.; HUBÍK, J. Biologische Wirkungen von Flavonoiden. II., Pharmazie in Unserer Zeit, Wheimheim, v.21, n. 4, p. 174-182, 1992.
- SUNG, F.M.J.; CHANG, Y.H. Bichemical activies associated with priming sweet corn seeds to improve vigor. Seed Science and Technology, Zurich, v. 21, p. 97-105, 1993.
- TANEJA, A.; BHAT, C.M.; ARORA, A.; KAUR, A.P. Effect of incorporation of Isagbol husk in a low fibre diet on faecal excretion and serum levels of lipid in adolescent girls. European Journal of Clinical Nutrition, Hampshire, v. 28, n. 5, p. 197-202, 1989.
- TOMODA, M.; SHIMIZU, N.; OSHIMA, Y.; TAKAHASHI, M.; MURAKAMI, M.; HIKINO, H. Hypoglycaemic activity of twenty plant mucilages and three modified products. **Planta Medica**, Sttutgart, v. 53, n. 1, p. 8-12, 1987.
- TOMODA, M.; TAKADA, K.; SHIMIZU, N.; GONDA, R.; OHARA, N. Reticuloendothelial system-potentiating and alkaline phosphatase inducing activities of *Plantago* mucilage A, the main mucilage from the seed of *Plantago* asiatica, and Iis five modification products. Chemical Pharmaceutical Bulletin, Tokio, v. 39, n. 8, p. 2068-2071, 1991.
- WOLLENWEBER, E.; DIETZ, V.F. Ocorrence and distribuition of free flavonoids aglycones in plants. Phytochemistry, Oxford, v. 20, n. 5, p. 869-932, 1981.
- YAMADA, H.; NAGAI, T.; TAKEMOTO, N.; ENDOH, H.; KIYOHARA, H.; KAWAMURA, H.; OTSUKA, Y. Plantagoside, a novel α-mannosidades inhibitor isolated from seeds of *Plantago asiatica*, supress immune response. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, Amsterdã, v. 165, n. 3, p. 1292-1298, 1989.
- YOON, Y.H., LANG, H.J. e COBB, B.G. Priming with salt solutions improves germination of Pansy seed at high temperatures. **Hortscience**, Virginia, v. 32, n. 2, p. 248-250, 1997.

CAPÍTULO 2

Determinação do teor de flavonóides de quatro espécies do gênero Plantago

1 RESUMO

As espécies de *Plantago* analisadas no presente trabalho, *P.asiatica*, *P.lanceolata*, *P.major* e *P.tomentosa* conhecidas popularmente como tansagem, são amplamente difundidas por suas propriedades medicinais. A ação terapêutica dessas espécies deve-se principalmente ao seu teor de flavonóides. Com o objetivo de avaliar a variação quantitativa de flavonóides entre quatro espécies de *Plantago*, um experimento foi conduzido na Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas/Instituto de Botânica-SP, nos meses de outubro e novembro de 1999. O doseamento de flavonóides foi feito de acordo com o Dab 8 modificado, em que se utilizou rutina como padrão em solução de cloreto de alumínio. A leitura foi feita a 425 nm e em espectrofotômetro e UV/visível. Os resultados variaram significativamente e são expressos como porcentagem de massa seca relativa a rutina. Valores entre 0,8%, 0,92%, 0,98% e 1,55% foram obtidos em *Plantago tomentosa*, *Plantago lanceolata*, *Plantago major e Plantago asiatica*, respectivamente.

Determination of flavonoids content in four species of genus Plantago

2 ABSTRACT

With the aim of evaluating the influence of osmo-conditioning in germination of tansagem seeds (*Plantago major* L.), an experiment was conducted in Setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, in Lavras – Minas Gerais. The seeds were osmo-conditioned in two solutions of polyethylene glicol (PEG $1 = 354,4 \text{ g.l}^{-1}$ and PEG $2 = 177,2 \text{ g.l}^{-1}$) and two solutions of inorganic salts (Ca(NO₃)₂. 4H₂O = 25, 8 g.l⁻¹ and KH₂PO₄ = 31,5 g.l⁻¹), in two exposition times (4 and 8 days). The experimental outline used was an entirely casual outline, in a factorial scheme 2X4. The percentage of total germination and the index of germination speed (IVG) were evaluated. Treatments with PEG and with inorganic salts did not affect percentage of total germination. However, treatments with Ca(NO₃)₂. 4H₂O for 4 and 8 days, and PEG 1 for 8 days reduced IVG.

3 INTRODUÇÃO

Plantago é o único gênero da família rico em espécies, tendo cerca de 240 representantes (Vander e Vulto, 1992). Os membros desse gênero são usados na medicina tradicional como laxativos, no tratamento de disenterias, desordens dos rins e doenças do figado. Sua importância como erva medicinal é atribuda ao seu conteúdo de flavonóides (Saker, 1998).

Devido às atividades farmacológicas dos flavonóides, sua determinação qualitativa e quantitativa tem sido extensivamente estudada (Markham, 1982). A utilização do método colorimétrico como um instrumento no estudo da química de flavonóides apresenta vantagens quando comparado com métodos padrões de ensaio nesta área, pois ele tende a ser muito laborioso (Ogbeide e Parvez, 1991).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Análise de flavonóides

O doseamento de flavonóides foi feito de acordo com o Dab 8 (Stahl & Schild 1981) modificado, em que se utilizou rutina como padrão, em solução de cloreto de alumínio. A análise estatística foi realizada utilizando o pacote estatístico SANEST e a comparação entre as médias pelo teste de Tukey.

Folhas de P. major, P. lanceolata, P. tomentosa e P. asiatica foram coletadas em Lavras, MG, em abril de 1999.

Dois gramas de folhas secas e pulverizadas de cada espécie foram extraídos com 150 mL de metanol 70% em Soxhlet por três horas. O extrato foi filtrado em papel Whatman e o volume completado para 250 mL. Uma alíquota de 15 mL foi colocada em balão volumétrico com 1 mL de cloreto de alumínio e o volume completado para 50 mL. A leitura foi feita a 425 nm em

espectrofotômetro de UV/visível, para se obter a concentração da cubeta (µg/mL); o teor de flavonóides foi calculado como porcentagem relativa à rutina. A análise foi feita em triplicata.

Os dados de absorbância das amostras foram comparados com uma curva padrão construída a partir de soluções crescentes de rutina, preparadas com metanol aquoso 70% (MeOH 70%) numa concentração de 200 µg/mL. Para tanto, 100 mg de rutina em 500 mL de MeOH70 % foram aquecidos até completa dissolução da mesma. Esta solução foi diluída para 100 µg/ mL, tomando-se 25 mL da solução estoque, completando-se a seguir, para 50 mL com MeOH 70%.

Alíquotas de 3,5 mL (7 μg) a 7,5 mL (15 μg), com intervalos de 0,5 mL foram utilizadas para a confecção da curva padrão, acrescidas de 1 mL de cloreto de alumínio e completadas para 50 mL com MeOH 70% em balão volumétrico.

A solução de cloreto de alumínio foi preparada colocando-se 5 g de AlCl₃ em 100 mL de MeOH p.a (Markham 1982). A leitura foi feita a 425nm em espectrofotômetro UV/visível Shimadzu.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 são apresentados os resultados médios da porcentagem de flavonóides totais nas quatro espécies de *Plantago*.

A análise de variância indicou que todas as concentrações flavonoídicas variaram significativamente, mostrando a ocorrência de variação interespecífica.

Variação na química dos compostos secundários é resultado de muitos fatores, sendo o componente genético a principal causa. No entanto, o genótipo pode ser modificado por uma grande variedade de características bióticas e abióticas. Da mesma maneira, uma grande diversidade de estresses ambientais



causa por fatores como água, luz, deficiência nutricional, temperaturas extremas, poluição ou presença de organismos patogênicos contribuem para variação no conteúdo de flavonóides dentro ou entre populações (Darrow e Bowers, 1997; Nicholls e Bohm, 1982).

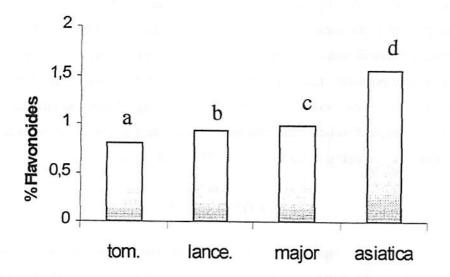


FIGURA 1. Comparação dos valores médios de porcentagem (massa seca) de flavonóides totais das espécies de *Plantago*. tom=*P. tomentosa*, lance=*P.lanceolata*, major=*P.major e* asiatica=*P.asiatica*. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras-MG, 1999.

Apesar da variação quantitativa ser reconhecida como um fenômeno real, têm sido poco estudadosem que os dados quantitativos têm sido aplicado para solucionar problemas taxonômicos (Bohm, 1987). Desde a descoberta, em meados de 1960, de uma grande variedade de substâncias fenólicas, essa classe

BIBLIOTECA CENTRAL - UFLA

de substâncias tem recebido muita atenção devido à sua potencial utilidade como "marcador taxonômico", representando um caráter taxonômico adicional.

Plantago é o único gênero da família rico em espécies, as quais apresentam uma ampla diversidade morfológica. Nishibe, Murai e Tayama (1995), em um estudo com sete espécies de Plantago, encontraram diferenças químicas na distribuição de flavonóides. A variação química observada entre as espécies está de acordo com diferenciações morfológicas presentes, principalmente no sistema radicular: P. hostifolia, P .asiatica, e P. major possuem raízes fibrosas, enquanto P. depressa, P. camtschatica, P. lanceolata e P. virginica possuem raízes absorventes. A análise dos constituintes fenólicos em seis espécies de Artemisia (Asteraceae) revelou que diferenças quantitativas na concentração fenólica estão absolutamente de acordo com as identificações morfológicas existentes entre as espécies (Wilt et al., 1992).

6 CONCLUSÃO

As quatro espécies de *Plantago* analisadas no presente estudo, apresentam variação interespecífica com relação ao seu conteúdo flavonoídico.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOHM, B.A. Intraespecific flavonoid variation. Botanical Review. Lancaster, v. 53, n. 2, p. 201-205, 1987.
- DARROW, K.; BOWERS, M.D. Phenological and population in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 25, n. 1, p. 1-11, 1997.
- HARBORNE, J.B. Flavonoids and the evolution of the angiosperms. Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 7, p. 7-22, 1977.

- MARKHAM, K.R. Techniques of flavonoid identification. London: Academic, 1982. 201 p.
- NICHOLLS, K.W.; BOHM, B.A. Quantitative flavonoid variation in *Lupinus sericeus*. Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 10, n. 3, p. 225-231, 1982.
- OGBEIDE, O.N.; PARVEZ, M. A simple colorimetric quantification in the flowers of *Lonchocarpus cyanescens* genus: *Lonchocarpus*. Plants Foods for Human Nutrition, Dordrecht, v. 41, p. 233-239, 1991.
- SAKER, M.M. Tissue culture and flavonoids content of *Nepeta* and *Plantago* species endemic in Egypt. Fitoterapia, Milano, v. LXIX, n. 4, p. 358-363, 1998.
- STAHL, E.; SCHILD, W. Pharmazeutiche biologie 4. Drogennanalyse II. Innhatsstoffe und Isolieniongen. Gustav Fisher: Verlog Stuttgart, 1981. p.126-127.
- VANDER, P.J.M.; VULTO, J.C. General biology of *Plantago* Evolutionary status. In :VANDER, P.J.M.; VULTO, J.C. *Plantago*: a multidisciplinary study. Ecological studies. Berlim: Springer Verlag, 1992. 85-162 p.
- WILT, F.M.; GEDDES, J.D.; TAMMA, R.V.; MILLER, G.C.; EVERETT, R.L. Interespecific variation of phenolic concentration in persistent leaves among six taxa from subgenus *Tridentatae* of *Artemisia* (Asteraceae). Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 20, n.1, p. 41-52, 1992.

CAPÍTULO 3

Efeitos do osmocondicionamento na germinação de sementes de *Plantago major*

1 RESUMO

Com a finalidade de avaliar a influência do osmocondicionamento na germinação de sementes de tansagem (*Plantago major* L.), foi conduzido um experimento no setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, no município de Lavras - MG. As sementes foram osmocondicionadas em duas soluções de polietileno glicol (PEG 1= 354,4 g.l⁻¹ e PEG 2= 177,2 g.l⁻¹), duas soluções de sais inorgânicos (Ca(NO₃)₂ . 4H₂O = 25, 8 g.l⁻¹ e KH₂PO₄ = 31,5 g.l⁻¹), durante dois tempos de exposição (4 e 8 dias). O delineamento experimental utilizado foi o delineamento inteiramente casualisado, em esquema fatorial 2 X 4. Foram avaliados a porcentagem de germinação total e o índice de velocidade de germinação (IVG). Os tratamentos com PEG e com sais inorgânicos não afetaram a porcentagem de germinação total. No entanto, os tratamentos com Ca(NO₃)₂ . 4H₂O por 4 e 8 dias, e PEG 1 por 8 dias reduziram o IVG.

Effects of osmo-conditioning in germination of Plantago major seeds

2 ABSTRACT

With the aim of evaluating the influence of osmo-conditioning in germination of tansagem seeds (*Plantago major* L.), an experiment was conducted in Setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, in Lavras – Minas Gerais. The seeds were osmo-conditioned in two solutions of polyethylene glicol (PEG $1 = 354,4 \text{ g.I}^{-1}$ and PEG $2 = 177,2 \text{ g.I}^{-1}$) and two solutions of inorganic salts (Ca(NO₃)₂. $4H_2O = 25, 8 \text{ g.I}^{-1}$ and $KH_2PO_4 = 31,5 \text{ g.I}^{-1}$), in two exposition times (4 and 8 days). The used experimental outline was a entirely casual outline, in factorial scheme 2X4. The percentage of total germination and the index of germination speed (IVG) were evaluated. Treatments with PEG and with inorganic salts didn't affect percentage of total germination. However, treatments with Ca(NO₃)₂. $4H_2O$ for 4 and 8 days, and PEG 1 for 8 days reduced IVG.

3 INTRODUCÃO

Em plantas medicinais existe uma carência generalizada de informações a respeito da utilização do osmocondicionamento das sementes sobre sua germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas.

O osmocondicionamento tem inúmeras denominações, entre essas "priming" ou "envigoramento" e consiste em um período de pré-embebição que hidrata a semente de forma controlada através da imersão em soluções osmóticas, até atingir um nível em que a atividade metabólica ainda não seja suficiente para permitir a protusão da radícula, permitindo que, após o plantio, a emergir mais rapidamente aue 0 normal. No radícula possa osmocondicionamento, a emergência da radícula é impedida pelo ajuste da concentração da solução de embebição, de tal modo que a última entrada de água requerida para a expansão torna-se impossível. Nesse estádio, as sementes são fisiologicamente ativas, mobilizando reservas e iniciando seu mecanismo germinativo, embora, tomando-se como base apenas os critérios externos, estejam aparentemente inativas (Heydecker, Higgins e Turner, 1995).

Segundo Eira (1988), o osmocondicionamento apresenta as seguintes vantagens: a) emergência da radícula em menor período de tempo, b) emergência mais rápida da plântula, c) germinação mais sincronizada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Osmocondicionamento das sementes

As sementes de *Plantago major* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais – Departamento de Agricultura/UFLA.

Para prevenir a incidência de microorganismos, logo após a colheita as sementes foram imersas durante um minuto em solução de hipoclorito de sódio a 5%, e em seguida, lavada com água destilada.

As sementes foram osmocondicionadas em soluções de polietileno glicol (PEG) de massa molar 6000, Ca(NO₃)₂ 4H₂O ou KH₂PO₄, cujas concentrações e tempo de exposição são apresentados na Tabela 2. O tratamento controle consistiu de água destilada. As soluções osmóticas de PEG foram preparadas de acordo com Michel & Kaufmann (1973).

TABELA 2. Tratamentos estudados.

Tratamentos de priming	Potencial osmótico	
	(MPa)	
Priming por 4 dias em solução de PEG 1 - 354,4 g.l ⁻¹	- 0,7	
Priming por 8 dias com solução de PEG 1 - 354,4 g l ⁻¹	- 0,7	
Priming por 4 dias com solução de PEG 2 - 177,2 g.l ⁻¹	- 0,5	
Priming por 8 dias com solução de PEG 2 - 177,2 g.l ⁻¹	- 0,5	
Priming por 4 dias com solução de KH ₂ PO ₄ - 31,5 g.l ⁻¹	- 0,8	
Priming por 8 dias com solução de KH ₂ PO ₄ - 31,5 g,1 ⁻¹	- 0,8	
Priming por 4 dias com solução de Ca(NO ₃) ² – 25,8 g.l ⁻¹	- 0,8	
Priming por 8 dias com solução de Ca(NO ₃) ² – 25,8 g.1 ⁻¹	- 0,8	
Controle (água destilada) por 4 Dias	0,0	
Controle (água destilada) por 8 dias	0,0	

Fonte: Dados da pesquisa.

As sementes foram colocadas em placas de Petri sobre camada dupla de papel Germitest umedecido com 3 mL da respectiva solução tratamento ou água destilada, e incubadas em câmara de germinação no escuro a 25°C.

Após o osmocondicionamento, as sementes foram lavadas com água destilada, secas com papel absorvente e dessecadas por três dias em uma câmara contendo sílica gel. Foram colocadas para germinar, 50 sementes foram colocadas para germinar em placas de Petri sobre camada dupla de papel Germitest numa câmara tipo BOD – mod. TE 400/1, sob temperatura de 30°/20°C D/N e fotoperíodo de 12 horas.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 X 4, sendo dois tempos de exposição e quatro concentrações osmóticas. A média dos experimentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Foram avaliados os percentuais e índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962), a partir do momento em que houve a primeira protusão da radícula. Os dados foram transformados em arco seno da raiz quadrada da porcentagem de germinação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sementes de *P. major* submetidas a diferentes tratamentos de priming não apresentaram diferenças quanto a porcentagem de germinação, conforme mostram os resultados apresentados na Figura 2.

Os resultados obtidos nesta espécie diferem dos observados em sementes de amor-perfeito (Yoon, Lang e Cobb, 1997) e em sementes de brócolis (Mauromicale e Cavallaro, 1995). Segundo estes autores e outros como Bewley e Black (19940), Sung e Chang (1993), Lanteri et al. (1996) e Smith e Cobb (1992) o osmocondicionamento um tratamento eficiente para promover o aumento tanto da porcentagem de germinação como no Índice de Velocidade de Germinação (IVG). Desta maneira, sementes de diferentes espécies podem apresentar comportamentos diferenciais ao tratamento osmótico. É sabido, no

entanto, que potenciais hídricos mais baixos podem prejudicar a germinação de muitas espécies, fato que não observado no presente estudo. Verifica-se que, quanto mais negativo o potencial hídrico do substrato, menor a germinação, o que parece ocorrer em razão do acréscimo no período de tempo correspondente à fase desse processo, segundo o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1978), no qual ocorreria elevação na tensão de ácido abscísico nas sementes e consequente inibição do alongamento celular (Córdoba et al., 1995). Por outro lado, os resultados obtidos permitem inferir que as sementes de *Plantago major* são mais tolerantes a potenciais hídricos mais baixos. Esta inferência tem suporte científico, considerando que sementes de várias espécies, quando semeadas em solo com potenciais mátricos inferiores a -0,6 Mpa, apresentam problemas no processo germinativo (Gurmur e Naylor, 1991; Braccini, 1996). As soluções de osmocondicionamento utilizadas no presente trabalho, apresentaram potenciais osmóticos entre -0,5 e -0,8 MPa, o que pode ter levado as sementes a não responderem aos tratamentos.

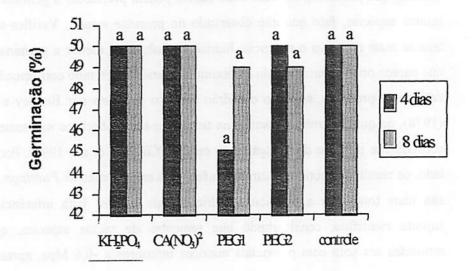


FIGURA 2. Porcentagem de germinação de sementes expostas a diferentes tratamentos de osmocondicionamento. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras-MG, 1999.

Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que não houve grande variação no conteúdo hídrico das sementes de *P. major* após o priming.

TABELA 3: Teor de umidade das sementes de P. major após o osmocondicionamento

Tratamentos de Priming	% de umidade
	da semente
Priming por 4 dias com solução de PEG 1 - 354,4 g.l ⁻¹	30%
Priming por 8 dias com solução de PEG 1 - 354,4 g.l ⁻¹	20%
Priming por 4 dias com solução de PEG 2 - 177,2 g.l ⁻¹	40%
Priming por 8 dias com solução de PEG 2 - 177,2 g.l ⁻¹	30%
Priming por 4 dias com solução de KH ₂ PO ₄ - 31,5 g.l ⁻¹	30%
Priming por 8 dias com solução de KH ₂ PO ₄ - 31,5 g,l ⁻¹	30%
Priming por 4 dias com solução de Ca(NO ₃) ² – 25,8 g.l ⁻¹	30%
Priming por 8 dias com solução de Ca(NO ₃) ² – 25,8 g.l ⁻¹	30%
Controle (água destilada) por 4 dias	40%
Controle (água destilada) por 8 dias	30%

Fonte: Dados da pesquisa

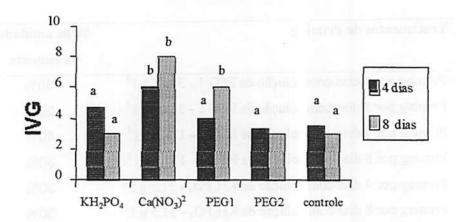


FIGURA 3. Influência dos tratamentos de osmocondicionamento no índice de velocidade de germinação (IVG). Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, ae 5% de probabilidade. UFLA, Lavras-MG, 1999.

Resultados semelhantes também foram obtido por Dell Áquila e Tritto (1990, 1991), em sementes de trigo, onde o osmocondicionamento com PEG não afetou a germinação final, mas reduziu o Índice de Velocidade de Germinação (IVG).

Mauromicale e Cavallaro (1995), trabalhando com sementes de tomate, verificaram que sais inorgânicos como o KNO₃ e K₃PO₄ são mais eficientes em reduzir o IVG do que o PEG. Além disso, diferentes soluções de PEG não foram eficientes na redução de IVG em sementes de ervilha (Sivritepe e Dourado, 1995).

6 CONCLUSÃO

Os tratamentos de osmocondicionamento com PEG e sais inorgânicos não afetaram a porcentagem de germinação total em sementes de *P. major*.

Os tratamentos de Ca(NO₃)₂. 4H₂O por 4 e 8 dias, e PEG 1 por 8 dias, reduziram o índice de velocidade de germinação em sementes de *P. major*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOHM, B.A. Intraespecific flavonoid variation. Botanical Review. Lancaster, v. 53, n. 2, p. 201-205, 1987.
- DARROW, K.; BOWERS, M.D. Phenological and population in iridoid glycosides of *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae). Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 25, n. 1, p. 1-11, 1997.
- HARBORNE, J.B. Flavonoids and the evolution of the angiosperms. Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 7, p. 7-22, 1977.
- MARKHAM, K.R. Techniques of flavonoid identification. London: Academic, 1982. 201 p.
- NICHOLLS, K.W.; BOHM, B.A. Quantitative flavonoid variation in *Lupinus* sericeus. Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 10, n. 3, p. 225-231, 1982.
- OGBEIDE, O.N.; PARVEZ, M. A simple colorimetric quantification in the flowers of *Lonchocarpus cyanescens* genus: *Lonchocarpus*. Plants Foods for Human Nutrition, Dordrecht, v. 41, p. 233-239, 1991.
- SAKER, M.M. Tissue culture and flavonoids content of *Nepeta* and *Plantago* species endemic in Egypt. Fitoterapia, Milano, v. LXIX, n. 4, p. 358-363, 1998.

- STAHL, E.; SCHILD, W. Pharmazeutiche biologie 4. Drogennanalyse II. Innhatsstoffe und Isolieniongen. Gustav Fisher: Verlog Stuttgart, 1981. p.126-127.
- SMITH, P.T.; COBB, B.G. Physiological and enzymatic characteristics of primed pepper seeds (*Capsicum annum*). Seed Science and Technology, Zurich, v. 20, p. 503-513, 1992.
- VANDER, P.J.M.; VULTO, J.C. General biology of *Plantago* Evolutionary status. In :VANDER, P.J.M.; VULTO, J.C. *Plantago*: a multidisciplinary study. Ecological studies. Berlim: Springer Verlag, 1992. 85-162 p.
- WILT, F.M.; GEDDES, J.D.; TAMMA, R.V.; MILLER, G.C.; EVERETT, R.L. Interespecific variation of phenolic concentration in persistent leaves among six taxa from subgenus *Tridentatae* of *Artemisia* (Asteraceae). Biochemical Systematic and Ecology, Elmsford, v. 20, n.1, p. 41-52, 1992.

CAPÍTULO 4

Efeitos da temperatura no armazenamento e germinação de sementes de Plantago major

1 RESUMO

Com a finalidade de avaliar o efeito da temperatura no armazenamento e germinação de sementes de tansagem (*Plantago major* L.), foi conduzido um experimento no setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, no município de Lavras-MG. Sementes acondicionadas em sacos plásticos transparentes e sacos de papel foram armazenadas sob condições de laboratório (25°C), geladeira (5°C) e freezer (-6°C), por 30, 70 e 100 dias. Após o período de armazenamento, as sementes foram colocadas para germinar sob temperatura de 30°/20°C D/N,

25°/20°C D/N e 25°C constante e fotoperíodo de 12 horas. Não houve diferenças na porcentagem de germinação de sementes acondicionadas em saco plástico e saco de papel. Sementes armazenadas em condições de laboratório e germinadas sob temperatura de 30°/20°C, apresentaram maior porcentagem de germinação nos períodos de 30, 70 e 100 dias de armazenamentos.

Effects of temperature in storage and germination of Plantago major seeds

2 ABSTRACT

With the aim of evaluating the effect of temperature in the storage and germination of "tansagem" seeds (*Plantago major* L.), an experiment was conducted in Setor de Fisiologia Vegetal/DBI/UFLA, in Lavras – Minas Gerais. Seeds packaged in transparent plastic sacks and paper bags were stored under laboratory conditions (25°C), refrigerator (5°C) and freezer (-6°C), for 30, 70 and 100 days. After the storage period the seeds were put to germinate under temperatures of 30°/20°C D/N, 25°/20°C D/N and 25°C constant and photoperiod of 12 h. There were no differences between the percentage of germination of seeds packaged in plastic sacks and those in paper bags. Seeds stored in laboratory conditions and germinated under temperature of 30°/20°C showed higher germination percentage in periods of 30, 70 and 100 days of storage.

3 INTRODUÇÃO

O fluxo germinativo das espécies invasoras está em grande parte condicionado aos padrões de resposta das sementes à influência dos fatores ambientais predominantes. Os fatores ambientais mais importantes no controle da germinação são temperatura, luz e umidade do solo (Leal et al., 1993). A temperatura afeta o processo germinativo de três maneiras distintas: sobre o total de germinação, sobre a velocidade de germinação, sobre a uniformidade de germinação, além de atuar sobre a velocidade de absorção de absorção de água, fator decisivo no desencadeamento dos eventos metabólicos (Delouche, 1973).

A condição de armazenamento é um fator importante para a preservação da qualidade das sementes. As sementes devem ser armazenadas em condições que permitam a manutenção de sua qualidade até o momento de plantio. Os fatores que mais influenciam a velocidade de deterioração das sementes armazenadas são a temperatura e a umidade relativa do ar.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Germinação de sementes de $Plantago\ major$ sob diferentes temperaturas e condições de armazenamento

As sementes de *Plantago major* foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais – Departamento de Agricultura/UFLA.

Após a coleta, as amostras de sementes foram acondicionadas em sacos de papel e sacos plásticos transparentes e armazenadas sob condições de laboratório (25°C), em geladeira (5°C) e em freezer (-6°C).

As sementes foram colocadas para germinar em câmara tipo BOD, mod. TE 400/1 com controle de termo e fotoperíodo, sob regimes térmicos de 30°/20°C D/N, 25°/20°C D/N e 25°C constante sob fotoperíodo de 12 horas.

O experimento obedeceu a um delineamento inteiramente casualisado (DIC) em fatorial completo 2 X 3 X 3, sendo dois tipos de embalagem, três condições de armazenamento e três temperaturas de germinação, com três repetições de uma placa cada contendo 50 sementes.

No início do armazenamento (tempo 0) e após 30, 70 e 100 dias foram avaliados os percentuais de germinação. Os dados foram transformados em arc. sen. da raiz quadrada da porcentagem de germinação e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Tipos de embalagem

Os resultados apresentados na Figura 4 mostram que não houve diferenças na porcentagem de germinação das sementes quando submetidas a diferentes tipos de embalagem (saco plástico e saco de papel).

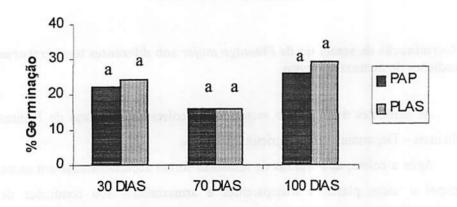


FIGURA 4. Porcentagem de germinação total de sementes acondicionadas em saco plástico (PLAS) e saco de papel (PAP). Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras-MG, 1999.

Em algumas espécies vegetais, o armazenamento em embalagens impermeáveis, como o saco plástico, proporciona melhor manutenção na viabilidade das sementes durante o período de armazenamento, por evitar a flutuação de umidade da sementes. Este comportamento também foi observado em sementes de *Brachiaria bryzantha* (Previero, Razera e Groth, 1998), goiabeira (Medina, 1991), marmeleiro (Dall Orto et al., 1985) e seringueira (Pereira, 1980).

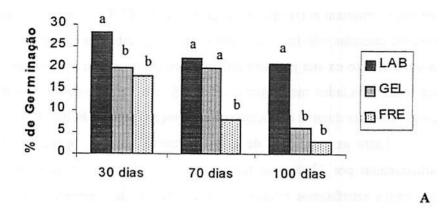
No entanto, segundo Popinigis (1985), as embalagens permeáveis permitem conservação satisfatória da qualidade fisiológica da semente. Sementes de goiaba, variedade Pirassununga Branca, apresentaram maior porcentagem de germinação quando armazenadas em saco de papel (Corrêa, 1997).

Os resultados observados em sementes de *Plantago major* podem ser atribuídos à invariabilidade do teor hídrico das sementes, uma vez que as sementes acondicionadas em saco plástico e as sementes acondicionadas em saco de papel não apresentaram grandes variações (40 e 50%), respectivamente.

5.2 Temperatura de armazenamento

Com relação à temperatura de armazenamento, as sementes armazenadas em condições de laboratório a 25°C apresentaram maior porcentagem de germinação, quando comparadas com sementes armazenadas em geladeira (5°C) e em freezer (-6°C), para os períodos de 30 e 100 dias (Figura 5A e 5B). Sementes de *P. major* mostraram-se mais sensíveis às temperaturas de armazenamento mais baixas (5°C) e (-6°C), o que possivelmente contribuiu para a redução da germinação.

Este resultado está de acordo com Blank et al. (1997) que, estudando a conservação de sementes de casaqueira (Campomanesia rufa Berg.), obtiveram os melhores resultados com sementes armazenadas em condições ambientais. Muller, Figueiredo e Muller (1991), trabalhando com o mangostão (Garcinia mangostona L.), também obtiveram as maiores porcentagens de germinação em sementes armazenadas em condições ambientais. Por outro lado, os resultados obtidos neste trabalho divergem dos relatados por Carpenter e Boucher (1992) em sementes de Delphinium X Cultorum, os quais afirmam que o armazenamento a baixa temperatura prolonga a vida da maioria das sementes, fenômeno que provavelmente esta relacionado com a redução do nível do metabolismo, incluindo o gasto de suprimento alimentar na respiração.



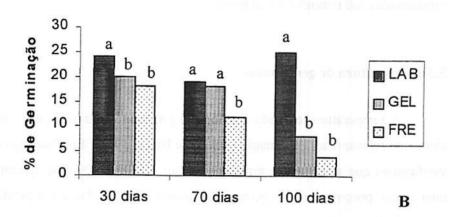


FIGURA 5. Porcentagem de germinação total das sementes armazenadas em temperatura de laboratório = 25°C (LAB), geladeira = 5°C (GEL) e freezer = -6°C (FRE). A, sementes acondicionadas em saco plástico e B, sementes acondicionadas em saco de papel. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras-MG, 1999.

Segundo Deickman (1967), as sementes pequenas normalmente requerem baixas temperaturas de armazenamento, embora esse comportamento não tenha sido observado em sementes de *Plantago major*, as quais parecem

ser sensíveis a baixas temperaturas. Algumas espécies sensíveis ao estresse de frio não germinam em temperaturas abaixo de 10° C. Tem sido observado que as injúrias causadas pelo frio acarretam danos nas membranas celulares, levando-as a um aumento na sua permeabilidade e, consequentemente, a um desequilíbrio nas suas atividades metabólicas, resultando em grande perda de substâncias pelas sementes durante o processo de embebição (Smith e Berjak, 1995).

Entre as condições de armazenamento testadas, apenas as sementes armazenadas por 70 dias em temperatura de freezer (-6°C), não apresentaram resultados satisfatórios referentes à percentagem de germinação, ocasionando uma redução de até 45% e 40% em relação, respectivamente, às sementes armazenadas sob temperatura ambiente e geladeira.

5.3 Temperatura de germinação

<u>.</u>

A temperatura tem sido considerada por muitos autores como um fator altamente relevante na germinação (Bewley e Black, 1994). Em *Plantago major*, verificou-se que as sementes armazenadas por 30, 70 e 100 dias apresentaram uma maior porcentagem de germinação quando submetidas a temperatura de 30°/20°C (Figura 6).



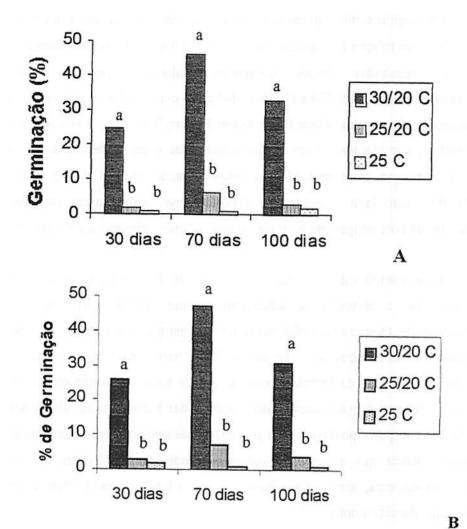


FIGURA 6. Porcentagem de germinação total de sementes germinadas sob temperaturas de 30/20°C, 25/20°C e 25°C. A, sementes acondicionadas em saco plástico e B, sementes acondicionadas em saco de papel. Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras-MG, 1999.

BIBLIOTECA CENTRAL - UFLA

Este regime térmico proporcionou aumentos na germinação da ordem de 80% e 90%, em relação à temperatura de 25°/20°C e a de 25°C, respectivamente.

Os resultados obtidos apresentam tendências semelhantes aos encontrados por Clemente Filha (1996) trabalhando com *Bauhinia forficata*, e o de algumas cultivares de alface (Dark Green Boston, Valmaine, Floricos 83 e Everglades), consideradas como termotolerantes, as quais apresentaram uma maior porcentagem de germinação sob temperatura de 30°/20°C (Sung et al., 1998). Por outro lado, sementes de *Trifolium spp.* apresentaram reduções acentuadas na porcentagem de germinação com valores inferiores a 35% (Evers, 1991).

A porcentagem de germinação das sementes de *Plantago spp.* tende a aumentar com a elevação da temperatura (Blom, 1992). Além disso a necessidade de temperaturas alternadas para a germinação parece ser uma exigência bastante específica. Teketay (1998), trabalhando com dezesseis espécies de herbáceas da Etiópia, constatou que de todas elas onze obtiveram maior porcentagem de germinação quando submetidas à temperaturas alternadas (25°/20°C). A resposta positiva para a germinação de sementes em temperaturas alternadas, indica que as espécies requerem condições semelhantes as que ocorrem na natureza, uma vez que durante o dia as temperaturas tendem a ser maiores que durante a noite.

A indução da germinação por temperaturas alternadas não é um fenômeno incomum, mas o modo de ação dessas temperaturas não está claro. Esse estímulo tem sido atribuído ao efeito dessas temperaturas sobre as reações enzimáticas que ocorrem durante a germinação ou mudanças estruturais ocorridas nas sementes (Smith e Berjak, 1995).

6 CONCLUSÃO

Não houve diferenças quanto ao tipo de embalagens empregadas na porcentagem de germinação das sementes.

Sementes armazenadas sob temperatura de 25°C apresentam os maiores valores para porcentagem de germinação dentro dos períodos de 30 e 100 dias. Durante o período de 70 dias de armazenamento, apenas as sementes armazenadas sob condições de freezer (-6°C), tiveram redução na porcentagem de germinação.

A temperatura mais eficiente para elevar a porcentagem de germinação dentro dos períodos de 30, 70 e 100 dias foi a de 30/20°C.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology and Development of Germination. London: Plenum, 1994. 445 p.
- BLANK, M.F.; ALVARENGA, A.A.; BLANK, A.F.; CARVALHO, D.A. Armazenamento e viabilidade de semente de *Campanusi rufa* Berg. Ciência e Agrotecnologia, Fortaleza, v. 21, n. 1, p. 85-90, 1997.
- BLOM, C.W.P.M. General biology of *Plantago* Evolutionary status. In: *Plantago*; a multidisciplinary study. Ecological Studies. Berlim: Springer Verlag, 1992.
- CARPENTER, W.J.; BOUCHER, J.F. Temperature requirements for the storage and germination of *Delphinium X Cultorum*. Hortscience, Virgínia, v. 27, n. 9, p. 989-992, 1992.
- CLEMENTE FILHA, A.C. Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia* forficata Link. e *Plantago major* L. Lavras: UFLA, 1996. 96 p. (Dissertação-Mestrado em Fisiologia Vegetal).

- CORRÊA, F.L.O. Efeito da embalagem e do ambiente de armazenamento na germinação e vigor de sementes de goiabeira (*Psidium guajava L*). Lavras: UFLA, 1997. 57 p. (Dissertação-Mestrado em Fitotecnia).
- DALL ORTO, F.A. C.; OJIMA, M.; IGUET, T.; MAEDA, J.A.; MARTINS, F.P. Conservação De sementes de marmeleiro. Bragantia, v. 44, n. 1, p. 347-356, 1985.
- DELOUCHE, J.C.; MATHIS, R.K.; DOUGHERT, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in subtropical e tropical regions. Seed Science and Technology, Zurich, v. 1, n. 3, p. 671-700, 1973
- EVERS, G.W. Germination Response of Subterraneam, Berseem, and Rose Clovers to Alternating Temperatures. Agronomy Journal, Madison, v. 83, n. 100, p. 1000-1004, 1991.
- GUILLÉN, M.E.N.; EMIN, J.A.S.; SOUCCAR, C.; LAPA, A.J. Analgesic and Antiinflamatory Activies of The Aqueous extract of *Plantago major* L. Internatinal Jornal of Pharmacognosy, Lisse, v. 35, n. 32, p. 99-104, 1997.
- LEAL, T.C.A.B.; SILVA, J.F.; SILVA, R.F.; CONDÉ, A.R. Efeito de fatores ambientais sobre a germinação de sementes de *Solanum americanum*. Revista Ceres, Brasília, v. 40, n. 229, p. 314-318, 1993.
- MEDINA, J.C. Cultura In: Goiaba. Campinas: ITAL, 1991. 139 p.
- MULLER, C.H.; FIGUEIREDO, F.J.C.; MULLER, N.M.R. Armazenamento de sementes de mangostão. Brasília: EMBRAPA, 1991. 15 p.
- POPINIGIS, F. Fisiologia de sementes. Brasília: AGIPLAN, 1985. 78 p.
- PREVIERO, C.A.; RAZERA, L.F.; GROTH, D. Influence of moisture content and type of package on the preservation of *Brachiaria bryzantha* L. seeds. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasilia, v. 32, n.2, p. 191-197, 1998.