

PAULO ARTUR PEREIRA

**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
Paspalum paniculatum ARMAZENADAS SOB DIFERENTES
CONDIÇÕES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado 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
1999

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

Pereira, Paulo Artur

Alterações bioquímicas e germinação de sementes de *Paspalum paniculatum* L. armazenadas sob diferentes condições / Paulo Artur Pereira. -- Lavras : UFLA, 1999.

34 p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Armazenamento. 2. Semente. 3. Germinação. 4. *Paspalum paniculatum*. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.20821

PAULO ARTUR PEREIRA

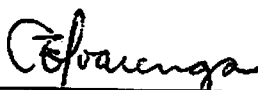
**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
Paspalum paniculatum ARMAZENADAS SOB DIFERENTES
CONDIÇÕES**

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

APROVADA em 25 de outubro de 1999

Prof. José Donizeti Alves

Prof. João Almir de Oliveira



Prof. Amauri Alves de Alvarenga
Orientador

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1999**

**Aos meus Pais, Maria e Laércio,
aos meus irmãos, José Odair, Darcy, Oswaldo,
Rita e Selma
pelo apoio e carinho**

DEDICO

**À minha esposa Cesária,
meus filhos Matheus e Beatriz,
pela compreensão e amor**

OFEREÇO

Germinará a semente no solo

Água e calor...

Desenvolverá a plântula em planta

Enfim...

Desabrochará a flor !

Novamente semente

Início de tudo...

Plena Fisiologia Vegetal

Filosofia plena de vida

Vegetal, Animal, Amor...

BIOGRAFIA

PAULO ARTUR PEREIRA, filho de Laércio Pereira e Maria Olímpia de Lima Pereira, nasceu em 27 de junho de 1971 em São Simão - SP. Iniciou seus estudos no Colégio Capitão Virgílio Garcia, no qual concluiu primeiro grau. Em 1987, transferiu-se para a cidade de Ribeirão Preto-SP, onde cursou o ensino médio no Colégio Oswaldo Cruz (COC). Em 1991, foi aprovado no vestibular para Agronomia, na Universidade Federal de Lavras, terminando-o em julho de 1997. Durante o período de graduação, desenvolveu trabalhos de pesquisa, durante três anos, no setor de Fisiologia Vegetal da UFLA, vindo também a ser monitor em Fisiologia Vegetal. Logo após a graduação, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia Fisiologia Vegetal na UFLA, em agosto de 1997, concluindo-o em outubro de 1999.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Setor de Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realização do curso.

À CAPES (Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior), pela concessão de bolsa de estudo.

Ao Prof. Amauri Alvarenga pela orientação e amizade.

Aos professores José Donizeti, Luiz Edson, Ângela Soares e Renato Paiva, pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos funcionários do Setor: Dartagnam, Izonel, Evaristo, Maria Helena, Joel, Odorêncio e Mauro.

Aos colegas de turma: Cláudia, Patrícia, Bárbara, Márcia, Alessandro, Guilherme, Rupert, Simone, Nair, José Carlos, Luciano Pessoa, Luciano Botuca pelos momentos de alegria e auxílio nas horas difíceis.

Aos colegas da iniciação científica: Rodrigo, Rafael, Darlan, Magrão.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

AGRADEÇO

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Áreas de Depleção.....	3
2.2 <i>Paspalum paniculatum</i>	5
2.3 Armazenamento de Sementes	6
3 MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1 Considerações Gerais.....	12
3.2 Armazenamento.....	13
3.3 Teor de umidade de Sementes.....	13
3.4 Teste de Germinação	13
3.5 Análises Bioquímicas	14
3.5.1 Obtenção do Extrato Bruto.....	14
3.5.2 Açúcares Solúveis Totais	14
3.5.3 Açúcares Redutores	15
3.5.4 Proteínas.....	15
3.5.5 Aminoácidos.....	15
3.5.6 Amido	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Teor de Umidade.....	17
4.2 Teste de germinação	18
4.3 Açúcares Redutores	20
4.4 Açúcares Solúveis Totais.....	21
4.5 Amido	23

4.6 Proteínas.....	25
4.7 Aminoácidos	27
5 CONCLUSÃO	29
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

RESUMO

PEREIRA, Paulo Artur. Alterações bioquímicas e germinação de sementes de *Paspalum paniculatum* armazenadas sob diferentes condições. UFLA, 1999. 34p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia / Fisiologia Vegetal) *

Este trabalho foi realizado no Departamento de Biologia, Setor de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Lavras, no período de fevereiro a julho de 1999. O *Paspalum paniculatum* está entre as espécies que melhor se adaptam às áreas sujeitas à inundação temporária. Entretanto, são poucos os estudos relacionados à produção de sementes e sua conservação, visto que a principal via de reprodução desta espécie ocorre via sexuada. O objetivo deste trabalho foi avaliar as possíveis alterações na germinação e nos constituintes de reserva das sementes de *Paspalum paniculatum* ao longo de um período de armazenamento. Para isto, foram utilizados três tipos de embalagens: vidro, sacos plásticos e sacos de papel. Os tratamentos térmicos foram temperatura ambiente e câmara fria (10 ° C, U. R. 40 %). Os tempos de armazenamento foram: 0, 30, 60 e 90 dias. As análises realizadas em cada tratamento foram: grau de umidade das sementes, percentual de germinação, proteínas, aminoácidos, açúcares redutores, açúcares solúveis totais e amido. Os teores de água (11%) e o percentual de germinação (80%) mantiveram-se constantes em todos os tratamentos realizados. As poucas alterações nos constituintes de reserva não foram determinantes no processo de deterioração das sementes. Os resultados obtidos demonstram que as sementes de *Paspalum paniculatum* mantiveram a sua qualidade fisiológica em todo o período de armazenamento, independente das condições em que as mesmas foram submetidas.

Comitê Orientador: Amauri Alves de Alvarenga - UFLA (Orientador), José Donizeti Alves (UFLA).

ABSTRACT

Pereira, Paulo Artur. Biochemical alterations and germination of *Paspalum paniculatum* L. seeds stored under different conditions . UFLA , 1999. 34p. (Dissertation in Agronomy / Plant Physiology.)

This work was conducted at the Biology Department , Sector of Plant Physiology of the Federal University of Lavras , over the period of February to July of 1999. *Paspalum paniculatum* L. lies among the species which best adapt to the areas subject to temporary flooding. However, there are few studies related to seed production and conservation , since the main via of reproduction of this species is sexually. The objective of this work was to evaluate possible alterations in germination and storage components of *Paspalum paniculatum* L. seeds during a storage period . Three types of packages were used: glass, plastic bag and paper bag. Thermal treatments were room temperature and cold chamber (10C⁰, R.H. 40%) . Storage periods were 0, 30 , 60 and 90 days . The analyses conducted in each treatment were: degree of seed moisture, germination percentage, proteins, aminoacids, reducing sugars, total soluble sugars and starch. The water content (11%) and germination percentage (80%) were kept constant in all treatments. Few alterations in storage components were not determinant for the seed deterioration process. The results obtained show that seeds of *Paspalum paniculatum* L. maintained their physiological quality throughout the storage period, regardless the conditions to which they were submitted.

Guidance committee : Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser), José Donizeti Alves (UFLA)

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, vem aumentando o interesse por gramíneas adaptadas às áreas úmidas ou inundadas temporariamente, visando à recuperação de áreas degradadas e de depleção de reservatórios hidrelétricos e, também, à preservação desses mananciais aquáticos.

O *Paspalum paniculatum* está entre as forrageiras que melhor se adaptam às áreas sujeitas à inundação temporária. Entretanto, são poucos os estudos relacionados com a produção de sementes, bem como sua conservação, visto que a principal via de reprodução desta espécie ocorre por sementes, as quais desempenham um importante papel na conservação da biodiversidade. Constituem, pois, fonte de material genético para melhoramento de plantas, funcionam como reservatório de genes e, em muitos casos, podem ser armazenadas e preservadas por décadas.

Vários autores mencionam que as condições de armazenamento, embora sejam fatores determinantes na longevidade das sementes e, conseqüentemente, de sua qualidade fisiológica, quando mal condicionadas, alteram, via de regra, suas atividades metabólicas, levando a uma perda rápida de sua viabilidade.

Durante o processo de armazenamento das sementes, devem ser considerados como fatores de relevância, o tipo de embalagens e a composição atmosférica do ambiente (temperatura, umidade e concentração de gases).

Considerando que sementes de espécies forrageiras, normalmente, são armazenadas em galpões comuns (sem controle de temperatura e umidade relativa do ar), torna-se necessário estudar as condições de armazenamento, bem como os tipos de embalagens, buscando aliar maior e melhor conservação das mesmas.

Os estudos básicos sobre as alterações metabólicas pelas quais passam as sementes, o conhecimento das bases bioquímicas que regem a perda da viabilidade e a compreensão da sua fisiologia são essenciais para um melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na manutenção da viabilidade.

Diante dessas considerações e da carência de informações referentes ao tempo de viabilidade das sementes de *Paspalum paniculatum*, procurou-se neste trabalho estabelecer possíveis relações entre tipo de embalagens e condições de armazenamento, associados às mudanças bioquímicas e, no processo germinativo das sementes, visando o emprego desta espécie na recuperação de áreas marginais de reservatórios hidrelétricos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ÁREAS DE DEPLEÇÃO

Como consequência de um novo estado de consciência ambiental que se observa em muitos países, o tema recuperação de matas ciliares passou a ser uma preocupação recente também aqui no Brasil (Lima, 1989 e Durigan e Dias, 1990). Preocupação semelhante tem sido direcionada à recuperação de áreas de depleção e margens de reservatórios hidrelétricos, como o de Camargos, no município de Itutinga, MG. O crescente interesse na recuperação destas áreas sinaliza em direção a um aumento de pesquisas nessa linha. Muitas questões persistem e representam desafios para o pleno desenvolvimento de programas de recuperação de áreas degradadas, usando a regeneração artificial com espécies nativas (Kageyama, Reis e Carpanazzi, 1992).

As áreas ciliares são ecossistemas que funcionam como reguladores do fluxo de água, retendo sedimentos e nutrientes entre os terrenos mais altos da bacia hidrográfica e o ecossistema aquático. A estabilização das ribanceiras do rio, pelo desenvolvimento e manutenção de um complexo radicular, funciona como tampão e filtro entre os terrenos mais altos e o ecossistema aquático. Estas áreas participam do controle do ciclo de nutrientes, tanto no escoamento superficial quanto na sua absorção, contribuindo para a manutenção da qualidade da água. Pela sua interação com a superfície da água, proporciona cobertura e alimentação para peixes e outros componentes da fauna aquática (Lima, 1989).

As revegetações ciliares dos reservatórios das usinas hidrelétricas, via de regra, têm sido implantadas até os limites da cota máxima de operação. Em algumas represas, durante o ciclo anual de variação do nível da água entre as cotas máxima e mínima, surgem faixas de solo geralmente destituídas de

vegetação, denominadas faixas de depleção. Estas faixas, pelas suas características e, dependendo da declividade do terreno, são por vezes submetidas a intensas ações erosivas provocadas pelo embate de ondas, cujos efeitos manifestam-se principalmente por meio dos deslizamentos marginais, que contribuem para o assoreamento do reservatório (Salvador, 1986). Nesses reservatórios, o assoreamento diminui a energia potencial e as partículas em suspensão aumentam o efeito abrasivo, atuando como um desgaste prematuro das turbinas (Salvador, 1986). Por outro lado, a água parada (como nos reservatórios) causa mais injúrias às plantas do que a água corrente, sendo necessário plantas com um maior grau de tolerância à inundação (Gill, 1970).

Em áreas que apresentam um certo declive até as margens dos cursos d'água, a umidade do solo constitui o gradiente de maior importância na determinação da adaptação ou não das espécies vegetais em áreas inundáveis. Tal adaptação pode ser expressa pela tolerância ou não da vegetação a períodos de hipoxia (Jackson e Drew, 1984).

A ecofisiologia das espécies vegetais de ecossistemas inundáveis possibilita que sua composição vegetal atue como filtro e, por isso, seja denominada "sistema-tampão". A alta condutividade hidráulica na superfície do solo sob vegetação ciliar reduz o deflúvio superficial, diminuindo assim os riscos de erosão (Reichardt, 1989 e Lombardi Neto, 1993).

Algumas gramíneas do gênero *Setaria* toleram inundações, sendo freqüentemente encontradas em biótopos aquáticos (Skerman, 1977 e Souza Filho, Meirelles e Pimentel, 1985). Essa tolerância pode ser expressa pela presença de estruturas morfo-anatômicas de escape à anoxia do ambiente radicular (Kozłowski, 1984), que podem possibilitar a manutenção da atividade metabólica aeróbica mesmo nas partes submersas.

No estado de Minas Gerais, a degradação das matas ciliares e das áreas de cerrado provocada pelo desmatamento e construções de hidrelétricas têm

contribuído efetivamente para o assoreamento, turbidez das águas, erosão das margens dos rios, riachos e reservatórios, além do empobrecimento da ictiofauna destes ecossistemas aquáticos. A implantação de programas de revegetação ciliar e de áreas de depleção depende do desenvolvimento de tecnologias, que vão desde a seleção das espécies até práticas agrícolas mais apropriadas (Pelacani, 1993).

2.2 *Paspalum paniculatum* L

De acordo com Kissman (1991), o *Paspalum paniculatum* L. é uma espécie nativa da América do Sul, ocorrendo do México até a Argentina, incluindo-se as ilhas do Caribe. No Brasil, tem ampla distribuição, ocorrendo com maior intensidade na Região Centro-Leste, mas, também, com expressão nas regiões Norte e Sudeste. Ocorre ainda na África, Austrália Nova Guiné e Polinésia.

É uma planta perene, reproduzida por semente, inicialmente de caule simples, ocorrendo intensa ramificação a partir do desenvolvimento da primeira inflorescência. Prefere locais com boa umidade, com radiação difusa ou sombreamento parcial. Por isso é mais freqüente nas orlas, em clareiras de matas e em culturas com arbustos ou árvores.

As plantas apresentam panículas esverdeadas, formadas por muitos ráceros, sendo os inferiores mais distanciados. As espiguetas são pareadas sobre raque estreita de coloração verde, com cerca de 15 mm de comprimento.

Lula (1998), estudando a germinação das sementes dessa espécie, concluiu que a mesma apresenta uma dormência física, em decorrência de uma impermeabilidade do tegumento à água, impedindo a retomada do crescimento do eixo embrionário. O mesmo autor conclui que o melhor método para a

superação da dormência dessas sementes, é o seu tratamento com ácido sulfúrico concentrado por um período de 20 minutos.

2.3 ARMAZENAMENTO DE SEMENTES

Existe um período de tempo entre a colheita da semente e o plantio, durante o qual há necessidade de armazenamento; faz-se necessário, então, preservar a sua qualidade fisiológica, para minimizar a velocidade de deterioração (Delouche et al., 1973).

O armazenamento de sementes requer considerável atenção para manutenção dos embriões viáveis, sendo particularmente importante se as sementes forem armazenadas por um período superior a um ano. A melhor condição de armazenamento pode variar de região para região, dependendo do conteúdo de umidade e de outras características da semente. Durante o armazenamento, é importante prevenir a perda excessiva de água da semente, respiração ou atividades bioquímicas indesejáveis (Kramer e Kozlowski, 1960).

Outras importantes funções podem, ainda, ser atribuídas ao armazenamento, tais como: guardar o produto para obter um preço mais compensador, regulador de mercado e manutenção de material suficiente para suprir o mercado em épocas de escassez (Toledo e Marcos Filho, 1977).

Para Abdul-Baki e Anderson (1972), a deterioração das sementes pode ser considerada como toda e qualquer transformação degenerativa irreversível na sua qualidade, após terem atingido um nível máximo da qualidade fisiológica. Segundo Delouche, citado por Popinigis (1985), a deterioração é um processo inevitável e irreversível, sendo mínima na maturação e o seu processo é variável entre as espécies, entre lotes de sementes da mesma espécie e entre sementes do mesmo lote. Dentre os fatores que afetam a velocidade de deterioração das sementes, estão incluídos: características

genéticas, condições climáticas durante a maturação e a colheita, manejo pós colheita, ataque de insetos e fungos e as condições de armazenamento (Harrington, 1973; Justice e Bass, 1978; Carvalho e Nakagawa, 1983; Popinigs, 1985).

Vários são os fatores relacionados com a manutenção da viabilidade e do vigor durante o armazenamento: umidade inicial das sementes, umidade relativa do ar, temperatura de armazenamento, microrganismos, insetos, tipo de embalagem e duração do período de armazenamento (Popinigs, 1985).

Segundo Bewley e Black (1994), as sementes podem ser classificadas em dois grupos, de acordo com o teor de umidade: a) sementes ortodoxas, que podem ser armazenadas com baixos teores de umidade e b) sementes recalcitrantes, que durante o armazenamento devem manter um teor de umidade relativamente alto para manter a viabilidade e o vigor.

As alterações na fase inicial do armazenamento de sementes recalcitrantes sugerem associação ao processo de germinação. Trabalhando com *Avicennia marina*, uma espécie de mangue e recalcitrante, Pammenter et al. (1984) observaram que quando as sementes são armazenadas em recipientes fechados, as modificações ultra-estruturais, embora deteriorativas, são indicativas do aumento da atividade intracelular a curto prazo. Se a dessecação continua, ou se não há disponibilidade adicional de água, a viabilidade é perdida. Segundo Bewley e Black (1994), alterações citológicas e metabólicas são os fatores que melhor se associam com a perda da viabilidade. Como causas citológicas, o autor cita danos ao núcleo, às mitocôndrias, aos plastídeos, aos dictiosomos, aos ribossomos, ao vacúolo, no retículo endoplasmático e à membrana celular.

Modificações expressivas nas principais reservas ocorrem quando as sementes se deterioram. Uma das alterações associadas com a deterioração de sementes, em geral, e de sementes oleaginosas, em particular, é a sua

acidificação (Abdul-Baki e Anderson, 1972). Estudos mostram que esta acidificação é o resultado do aumento de ácidos graxos livres, de fosfatos ácidos e de aminoácidos, produzidos pela ação das lipases, fitases e proteases, respectivamente. Entre esses três grupos de compostos, o maior e o mais rápido aumento ocorre nos ácidos graxos (Smith e Berjak, 1995).

Abdul-Baki e Anderson (1972) salientaram que a relação entre a redução nos compostos poliméricos de armazenagem (lipídios, proteínas e carboidratos) e o aumento das suas subunidades (ácidos graxos, aminoácidos e açúcares) não é equivalente. Em geral, a hidrólise desses compostos ocorre sob condições de armazenagem desfavoráveis, apropriadas ao rápido crescimento de fungos e à alta atividade metabólica das sementes. Os produtos da hidrólise de lipídios, proteínas e carboidratos servem como substrato para o crescimento de microorganismos e para o aumento dos processos metabólicos nas sementes. A sua utilização explica a perda da estequiometria entre os polímeros perdidos e os produtos hidrolizados formados.

Ching e Schoolcraft (1968), trabalhando com sementes de *Trifolium incarnatum* e *Lolium perenne*, observaram redução no teor de proteínas apenas depois da perda da viabilidade, tendo sido a redução no teor de proteínas, em ambos os casos, dependente do grau de severidade das condições de armazenamento. Abdul-Baki e Anderson (1972) estudaram alterações em proteínas de sementes de *Triticum aestivum*, armazenadas por 24 meses, e observaram redução da solubilidade das proteínas em água e redução da digestibilidade por enzimas proteolíticas. Pereira (1980) não encontrou uma tendência definida no comportamento de proteínas durante o armazenamento de sementes de *Hevea brasiliensis*, tendo sido observada uma variação descontínua entre e dentro dos tratamentos. Basavarajapa et al. (1991) observaram que, durante o envelhecimento, as proteinases das sementes estão ativas, provavelmente contribuindo para elevar o conteúdo de aminoácidos. Smith e

Berjak (1995) salientam que, considerando que enzimas são também proteínas, essa degradação poderia levar a um distúrbio geral no funcionamento da célula. Taylor et al. (1995), trabalhando com cinco espécies de olerícolas, observaram aumento significativo de aminoácidos, concomitante à queda da qualidade em todas as espécies estudadas, tendo esse aumento sido mais acentuado quando as sementes envelheceram e perderam a viabilidade.

Ching e Schoolcraft (1968) investigaram alterações do amido em sementes de *Oriza sativa*, *Trifolium incarnatum* e *Lolium perene*, e observaram pouca ou nenhuma alteração nesse constituinte, quando as sementes se deterioravam. Koster e Leopold (1988) verificaram que, em sementes armazenadas de *Zea mays*, ocorreu o desaparecimento de sacarose e rafinose e o aumento de glicose e frutose, quando estas sementes tornaram-se inviáveis. Zeleny (1954) salienta que, durante a deterioração de sementes, embora o conteúdo de açúcares não redutores tende a diminuir, o conteúdo de açúcares redutores aumenta. Bernal-Lugo e Leopold (1992) observaram que, em sementes de *Zea mays*, a perda do vigor foi associada com a perda de carboidratos solúveis e que o conteúdo de monossacarídeos foi reduzido nos primeiros 30 dias de armazenamento. Segundo os autores, o desaparecimento desses monossacarídeos pode ser devido à participação desses açúcares nas reações de Amadori e de Maillard. Wettlaufer e Leopold (1991), trabalhando com sementes de *Glycine max*, concluíram que açúcares redutores presentes em sementes estariam envolvidos nessas reações e associaram o acúmulo dos produtos de Maillard à perda da viabilidade. De acordo com esses autores, tais reações envolvem o ataque não-enzimático ao grupamento amina de aminoácidos e de proteínas pelos açúcares redutores, formando derivados frutossil ou glicosilamina (reação de Amadori), com a subsequente interação entre esses produtos, formando compostos poliméricos, responsáveis pela chamada "reação de escurecimento" (reação de Maillard).

As alterações no sistema de membranas das células têm sido avaliadas por meio de observações da lixiviação de solutos na embebição de sementes. De acordo com Bewley e Black (1994), a desestruturação de membranas em virtude do envelhecimento pode levar a diversas alterações metabólicas, que contribuem para a deterioração de sementes e a perda do vigor e da viabilidade. Os autores explicam que, nos primeiros minutos de absorção de água, mesmo por sementes viáveis, há um rápido efluxo de compostos orgânicos e inorgânicos para o meio de embebição, pois a integridade da membrana plasmática é incompleta. A situação é invertida no decorrer da embebição, quando a membrana adquire uma configuração mais estável ou torna-se reparada por algum mecanismo enzimático ainda não identificado. Segundo esses autores, em sementes de baixa viabilidade ou não-viáveis, tais mecanismos de reparo podem estar ausentes ou ineficientes, ou, ainda, as membranas podem estar tão danificadas que os reparos tornam-se impossíveis.

Segundo Dias e Marcos Filho (1995), a desestruturação e a perda de integridade do sistema de membranas celulares são causadas, principalmente, pela oxidação de lipídeos, que promove o descontrole do metabolismo e das trocas de água e solutos entre as células e o meio exterior, tendo reflexos diretos sobre a qualidade fisiológica das sementes.

Ressaltando o índice de germinação em sementes de gramíneas durante o armazenamento, Condé e Garcia (1985a) colheram sementes de *Brachiaria decumbens* cv. IPEAN, que foram secas até 10 - 11 % de umidade e embaladas em sacos de tecido de algodão. As sementes foram armazenadas sob condições de ambiente não controladas e analisadas a cada quatro meses. Os autores observaram que não houve perda de germinação durante 8 meses de armazenamento.

Condé e Garcia (1985b) conduziram experimento semelhante ao anterior, armazenando sementes de *Panicum maximum* cv. Colômbio,

constatarem que sementes colhidas na maturidade fisiológica apresentaram germinação de 26,9 %, 16 meses após a colheita. Os mesmos autores, trabalhando com sementes de *Hyparrhenia rufa*, conseguiram um índice de germinação de 90 % dessas sementes mesmo após 16 meses de armazenamento, sob condições ambientais e embaladas em sacos de tecido de algodão.

Mastrocola (1982) estudou durante 5 anos o comportamento das sementes de 6 espécies de gramíneas forrageiras: *Agropyrum intermedium*, *Dactylis glomerata*, *Phleum pratense*, *Bromus inermis*, *Arrhenatherum elatius* e *Alopecurus pratensis*, quando submetidas ao armazenamento sob 4 diferentes temperaturas (5, 10, 15 e 21°C). Não se observou redução de germinação para todas as espécies quando mantidas a 5°C. *Phleum pratense* e *Arrhenatherum elatius* tiveram a mesma germinação após 5 anos, independente da condição de armazenamento. *Dactylis glomerata* e *Alopecurus pratensis* não perderam o poder germinativo quando armazenadas a 21°C, mas isto ocorreu quando as sementes foram armazenadas sob temperaturas de 10 e 15°C. As sementes de *Bromus inermis* e de *Agropyrum intermedium* apresentaram germinações reduzidas quando armazenadas a 10, 15 e 21°C. Na seqüência do experimento, o mesmo autor verificou que, após 10 anos de armazenamento a 5°C, somente as sementes de *Dactylis glomerata* e *Bromus inermis* apresentaram redução no percentual germinativo.

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações gerais:

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Crescimento e Desenvolvimento de Plantas e Biologia Molecular e Metabolismo, Setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, Estado de Minas Gerais.

As sementes utilizadas foram coletadas manualmente de plantas provenientes de painéis de gramíneas do próprio Campus Universitário, em fevereiro de 1999 e, posteriormente, beneficiadas no laboratório.

Nas sementes recém-colhidas, procedeu-se à determinação do teor de umidade e teste de germinação. Nesta oportunidade, tomou-se uma amostra destas sementes, a qual foi congelada em freezer a -86°C , para posteriores análises bioquímicas.

O delineamento experimental empregado para todas as avaliações foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial $2 \times 3 \times 4$, ou seja, 2 temperaturas, 3 embalagens e 4 tempos de armazenamento, com 3 repetições cada. As médias dos experimentos foram comparadas pelo teste de Tukey (5% de probabilidade). Para cada tempo de armazenamento foram determinados o percentual de germinação, grau de umidade das sementes e análise quantitativa de proteínas, aminoácidos, açúcares redutores, açúcares solúveis totais e amido.

3.2 Armazenamento

Logo após o beneficiamento e, estando as sementes com umidade de 11%, foram acondicionadas em três tipos de embalagens: potes de vidro, sacos de papel e sacos plásticos de polietileno. Os períodos de armazenamento foram: 0 (semente recém-colhida), 30, 60 e 90 dias. As condições de armazenamento foram: condição ambiente de laboratório e câmara fria (10 °C e U.R. de 40%).

3.3 Grau de umidade das sementes

Para a determinação do grau de umidade, foi empregado o método da estufa a 70° C por 72 horas ou peso constante, em que amostras de 0,3g das sementes de cada tratamento eram levadas à estufa, acondicionadas em sacos de papel para facilitar a liberação da umidade.

3.4 Teste de germinação

Para a determinação do percentual de germinação, as sementes foram inicialmente submetidas a um processo de escarificação química em ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 - 98%), durante 20 minutos, segundo recomendação de Lula (1998) para esta espécie. As sementes, após a escarificação, foram lavadas em água corrente por 5 minutos, a fim de se retirar todo o resíduo ácido. Após a lavagem, foram colocadas 50 sementes em placas de Petri, dispostas sobre duas camadas de papel tipo germitest e transferidas para uma câmara de germinação modelo TE - 400 TECNAL, a uma temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Foram realizadas contagens diárias e a protusão da radícula foi o critério para considerar as sementes germinadas.

3.5 Análises Bioquímicas

3.5.1 Obtenção do extrato bruto

As amostras das sementes de cada tempo de armazenamento foram congeladas em freezer a -86°C até o momento da realização das análises. A obtenção dos extratos brutos baseou-se na metodologia descrita por Lemos (1996). Uma amostra de 500 mg de sementes foi homogeneizada em 10 ml de um meio de extração composto de tampão fosfato de potássio 0,1 M pH 7,5 , $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,5 M (100 μL), EDTA 0.1 M (50 μL), DDT 1,0 M (10 μL), PMSF 0,4 M (10 μL), PVPP (100 mg). Para todas as amostras, a homogeneização se deu por maceração em graal de porcelana a 4°C . Em seguida procedeu-se a centrifugação a 5.000 g durante 30 minutos. O extrato obtido foi utilizado para as quantificações dos açúcares solúveis totais, açúcares redutores, proteínas e aminoácidos. O pellet foi utilizado para a quantificação de amido.

3.5.2 Açúcares solúveis totais

Os açúcares solúveis totais foram quantificados, segundo metodologia descrita por Yemm e Willis (1954), utilizando-se alíquotas de 30 μL do extrato, 970 μL de água destilada e 2,0 mL do reagente antrona, composto de 20 mg de antrona, 0,5 mL de H_2O destilada e 10 mL de H_2SO_4 concentrado. Após a homogeneização as amostras foram aquecidas em banho-maria a 100°C por 5 minutos e ao atingirem a temperatura ambiente, lidas em espectrofotômetro a 620 nm. A quantificação dos açúcares baseou-se na curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de glicose.

3.5.3 Açúcares redutores

A metodologia utilizada para a quantificação de açúcares redutores foi descrita por Miller (1959), na qual se utiliza o ácido 3,5 - dinitrosalicílico (DNS) para a oxidação destes compostos.

A alíquota utilizada foi de 200 μL do extrato bruto, sendo adicionados 1300 μL de água destilada e 1000 μL de DNS. Após a homogeneização, as amostras foram aquecidas em banho-maria a 100°C por 5 minutos e, após atingirem a temperatura ambiente, levadas para leitura em espectrofotômetro a 540 nm. A quantificação dos açúcares baseou-se na curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de glicose.

3.5.4 Proteínas

A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Bradford (1976), utilizando-se alíquotas de 100 μL do extrato bruto em 5 mL do reagente de Comassie, composto de 0,01% de Comassie Blue G-250, 8,5% de ácido fosfórico e 4,7% de etanol. Após a homogeneização, as amostras foram levadas para leitura em espectrofotômetro a 595 nm. As quantificações das proteínas foram baseadas numa curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de BSA (soro albumina bovina).

3.5.5 Aminoácido

A determinação dos aminoácidos foi realizada segundo o método de Yemm e Cocking (1955). Em alíquotas de 100 μL de extrato foram adicionados 1,7 mL do reagente composto por 0,5 mL de tampão citrato de sódio (0,2 M e pH 5,0), 0,2 mL do reagente de ninhidrina e 1,0 mL de KCN (2% em

espectrofotômetro a 570 nm. Os resultados foram calculados com base na curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de glicina.

3.5.6 Amido

Após os processos de homogeneização e centrifugação do tecido vegetal , já descritos anteriormente, o pellet resultante foi resuspenso em 4 mL de ácido tricloroacético 10% (TCA) e submetido à centrifugação a 10.000 g durante 20 minutos a uma temperatura de 10^oC. Esta operação foi repetida por duas vezes, descartando-se o sobrenadante. Ao resíduo em TCA foi, finalmente, resuspenso em ácido perclórico 30% (PCA) e centrifugado a 10.000 g por 30 minutos, a uma temperatura de 20^oC.

A quantificação do amido foi realizada na fração sobrenadante, empregando-se a metodologia descrita para açúcares solúveis totais (Yemm & Willis, 1954), tomando-se para tal, alíquotas de 50 µL.

4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Grau de umidade das sementes

Os resultados dos teores de água das sementes de *Paspalum paniculatum* permaneceram inalterados em todos os tratamentos realizados. As sementes recém colhidas que apresentaram um percentual de 11 % de umidade sofreram pequenas alterações ao longo do tempo de armazenamento, sendo que estas alterações não foram estatisticamente diferentes. Dentro dos tratamentos referentes ao tipo de embalagens e condições de armazenamento estas alterações foram praticamente nulas (FIGURA 1).

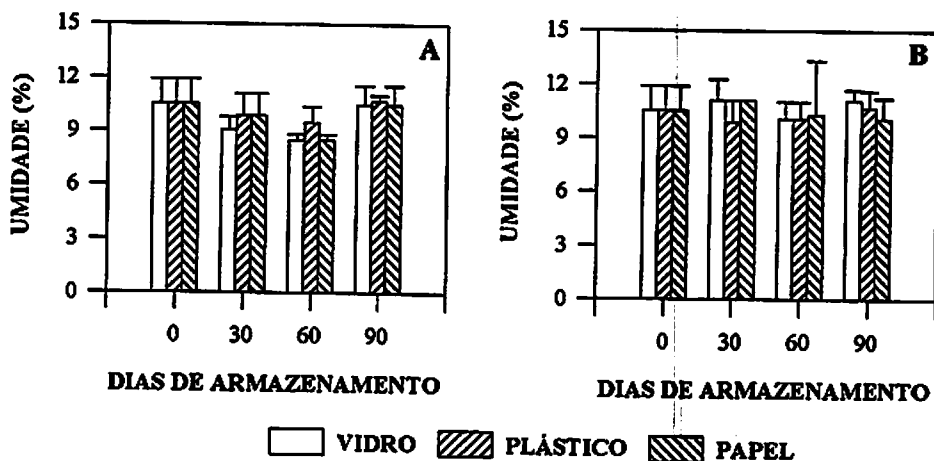


FIGURA 1: Grau de umidade das sementes de *Paspalum paniculatum* submetidas a diferentes períodos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.

Este tipo de comportamento pode caracterizar a presença de dormência tegumentar, associada à impermeabilidade sobretudo à água (Lula 1998). Resultados semelhantes foram observados por Jesus (1995), trabalhando com sementes de capim colônião (*Panicum maximum* Jacq). O autor observou pequenas alterações nos teores de água em função do tempo de armazenamento e dos diferentes tipos de embalagens utilizadas.

4.2 Teste de germinação

Os resultados dos testes de germinação das sementes de *Paspalum paniculatum* também não sofreram grandes alterações durante o armazenamento. Observa-se, pela figura 2, que foram obtidos percentuais relativamente altos, na ordem de 80 %, para as sementes recém colhidas, os quais mantiveram-se praticamente inalterados durante todo o período de armazenamento, nas diferentes condições e embalagens empregadas.

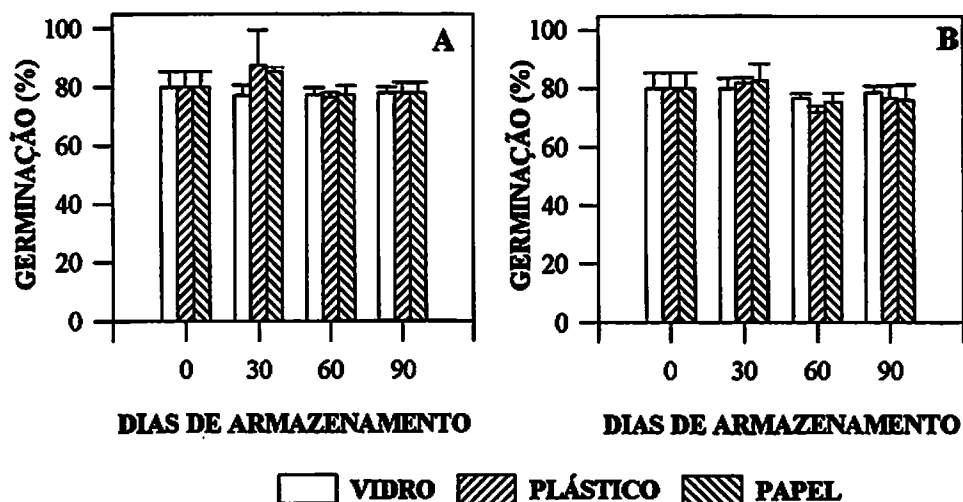


FIGURA 2: Percentual de germinação de sementes de *Paspalum paniculatum* nos diferentes períodos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.

Algumas inferências podem ser feitas para explicar as altas percentagens de germinação destas sementes durante o armazenamento. Uma delas está relacionada com o teor de umidade das sementes, como mostrado anteriormente, cujos teores mantiveram-se inalterados. O teor de umidade, como se sabe, está estreitamente relacionado à viabilidade e qualidade fisiológica das sementes, sendo que, se as sementes perderem o seu equilíbrio higroscópico, durante um certo período de tempo, os embriões poderão sofrer alterações nos seus constituintes celulares, vindo a perder sua viabilidade por completo (Baskin e Baskin, 1998).

De acordo com o comportamento apresentado pelas sementes de *Paspalum paniculatum* durante o armazenamento e com base nos teores de água, germinação e alterações metabólicas, que serão discutidos posteriormente, e, enfocando a classificação apresentada por Bewley e Black (1994), podemos sugerir que estas sementes podem ser enquadradas no grupo das sementes ortodoxas, que são sementes que podem ser armazenadas com baixos teores de umidade e, mantendo, conseqüentemente, a sua viabilidade por um período mais longo.

4.3 Açúcares redutores

Os resultados mostram uma queda nos teores de açúcares redutores durante o período de armazenamento, sendo essa queda pouco expressiva dentro dos tratamentos de embalagens. Considerando ao locais de armazenamento, pôde-se observar uma queda mais uniforme quando as sementes foram armazenadas em temperatura ambiente (FIGURA 3).

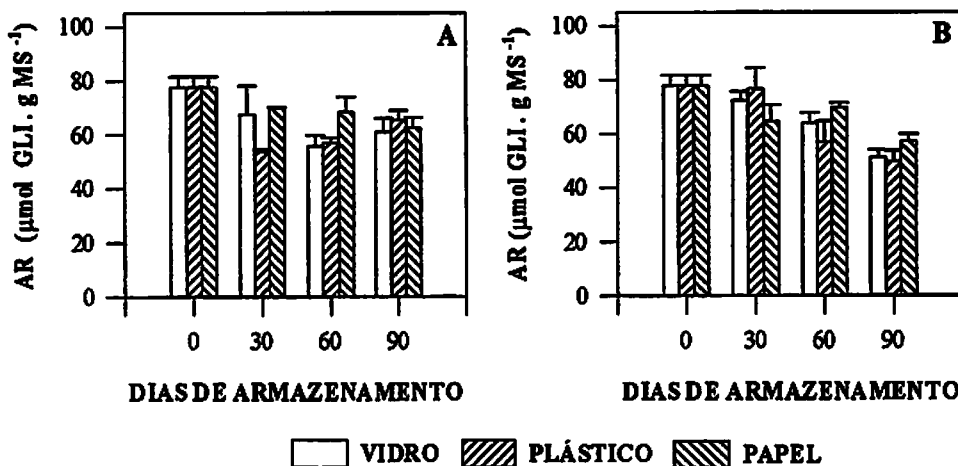


FIGURA 3: Açúcares redutores em sementes de *Paspalum paniculatum* submetidas a diferentes períodos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.

Conforme já comentado, Wettlaufer e Leopold (1991) mencionaram que a presença de açúcares redutores em sementes pode ameaçar a sua viabilidade por meio de reações de Amadori e Maillard. Esses autores relatam que, durante o envelhecimento, ocorre a liberação gradual desses açúcares, ressaltando que as enzimas que poderiam promover tal liberação, como a invertase e a α -galactosidase, requerem níveis de hidratação relativamente altos para sua atividade. Considerando que as sementes aqui utilizadas continham um baixo

nível de hidratação, em média 11 % , pode-se supor que a participação destes açúcares nas reações de Amadori e Maillard foram baixas, uma vez que a viabilidade das sementes foi mantida até os 90 dias de armazenamento. Os autores acreditam que a velocidade das reações seja maior sob condições de temperatura e umidade relativa mais altas, podendo explicar a queda mais acentuada dos açúcares redutores quando as sementes foram armazenadas em condições ambiente.

4.4 Açúcares solúveis totais

Analisando a figura 4, podemos verificar uma queda nos teores de açúcares solúveis nas duas temperaturas e no decorrer dos dias de armazenamento, sendo que estas alterações não foram significativas dentro das embalagens testadas.

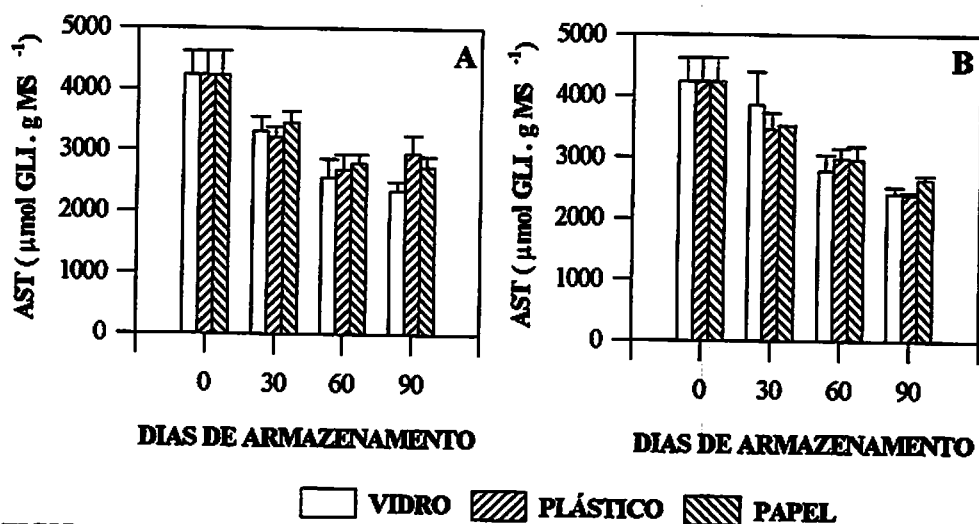



FIGURA 4: Açúcares solúveis totais em sementes de *Paspalum paniculatum* submetidas a diferentes períodos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.



A utilização desses açúcares durante o período de armazenamento, provavelmente esteja relacionada à manutenção da viabilidade das sementes, uma vez que, mesmo se mantendo dormentes, elas continuam suas atividades metabólicas, sobretudo a respiração, mesmo que em taxas reduzidas.

Silver e Karen (1981) relatam que os carboidratos solúveis em sua maioria são sacarose, e são hidrolizados pela enzima invertase em glucose e frutose, os quais participarão do metabolismo respiratório. Os autores ressaltam, ainda, que esta enzima tem uma maior atividade em sementes quando possuem um teor de umidade próximo a 16 %, mas podem atuar perfeitamente quando o teor de umidade estiver em torno de 12 %, umidade esta contida nas sementes usadas neste trabalho. Para termos certeza da participação destes açúcares no metabolismo respiratório das sementes, durante o armazenamento, teríamos de medir o consumo de oxigênio, ou seja, as trocas gasosas destas sementes e/ou a atividade da invertase no período em que elas foram armazenadas (Vertucci e Leopold, 1986).

4.5 Amido

Nota-se, pela figura 5, que o teor de amido apresentou-se em queda até os 30 dias de armazenamento, mantendo-se inalterado até os 90 dias. Pode-se supor, portanto, que alterações no teor de amido não sejam determinantes do processo de deterioração dessas sementes.

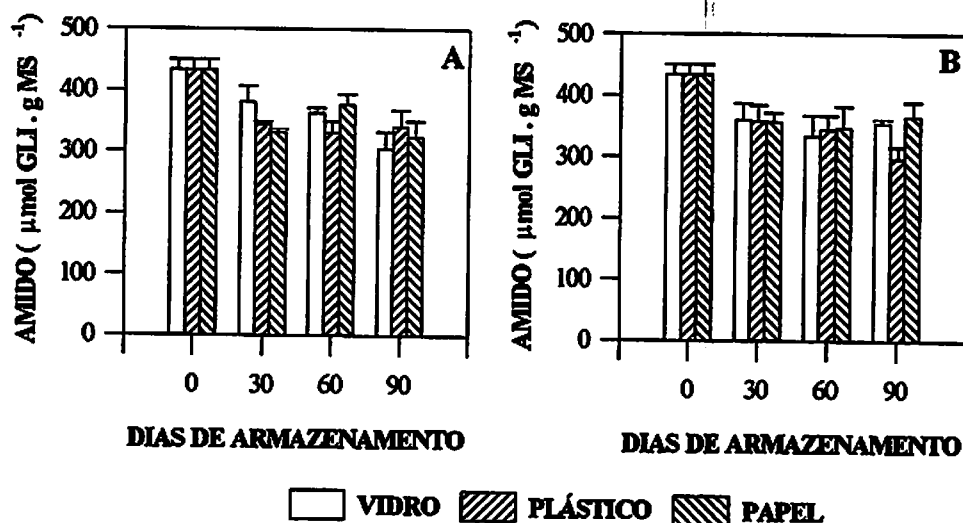


FIGURA 5: Amido em sementes de *Paspalum paniculatum* submetidas a diferentes tempos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.

Os resultados obtidos concordam com aqueles encontrados por Ching e Schoolcraft (1968), em sementes de *Trifolium incarnatum* e *Lolium perene*, em que o amido apresentou pouca ou nenhuma alteração.

A principal rota de degradação do amido é mediada pela enzima α amilase, a qual é sintetizada "de novo", durante o processo de germinação, após a hidratação da semente. Entretanto, nota-se pelos dados da figura 5, uma

redução nos teores de amido até os 30 dias de armazenamento, seguido de uma estabilização desses teores. Essa queda pode ser devido a outras enzimas responsáveis pela sua degradação, como a β amilase que, embora tenha um papel pouco expressivo na hidrólise do amido, é uma enzima pré-existente e pode ter contribuído para estas alterações (Goodwin, 1982).

Vale ressaltar que os teores de amido foram obtidos provenientes de uma ressuspensão do "pellet" do extrato bruto em ácido perclórico 30 %, sendo que a exposição deste substrato ao ácido foi por um período de tempo relativamente curto (2-3 minutos). Suspeitando-se de uma hidrólise parcial do amido, foram testados vários tempos de hidrólise, em alguns extratos de sementes, e pode-se verificar que os teores de amido aumentam em até 3 vezes, quando este substrato é hidrolisado por 5 horas.

4.6 Proteínas

Observou-se, nas condições de armazenamento, uma pequena queda nos teores de proteínas, à medida que as sementes se deterioravam (FIGURA 6). Esses resultados concordam com o relatado por Smith e Berjak (1995), segundo os quais, nos processos de envelhecimento, ocorre redução no conteúdo de proteínas, em consequência da ativação de enzimas proteolíticas.

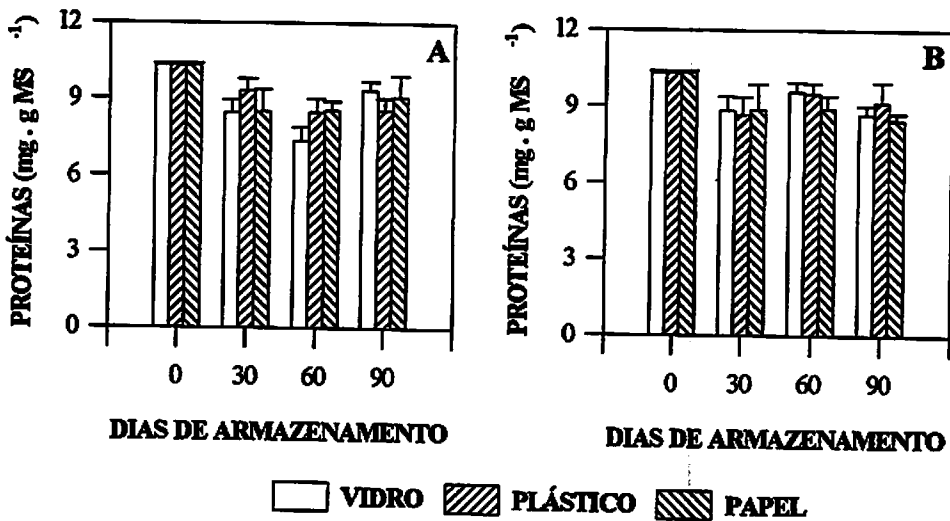


FIGURA 6: Proteínas em sementes de *Paspalum paniculatum* submetidas a diferentes tempos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.

As proteínas das sementes são classificadas pela sua solubilidade e as principais são: albuminas, solúveis em água e soluções diluídas de sais; globulinas, insolúveis em água, mas solúveis em soluções diluídas de certos sais; prolaminas, solúveis em álcool etílico entre 70-80 %; glutelinas, solúveis em bases e ácidos diluídos.

As proteínas aqui quantificadas foram extraídas de uma solução tampão fosfato de potássio pH 7,5 , portanto, vale ressaltar que estas estão enquadradas, na sua maioria, dentro das albuminas e possivelmente uma fração de globulinas, que são as proteínas de reserva mais importante. Para termos um resultado de proteínas totais, ou seja, todas as classes das proteínas de reserva, teríamos de realizar um fracionamento destas proteínas em seus respectivos solventes.

4.7 Aminoácidos

Os teores de aminoácidos das sementes sofreram uma queda até os 60 dias de armazenamento em todas as condições de armazenagem (FIGURA 7).

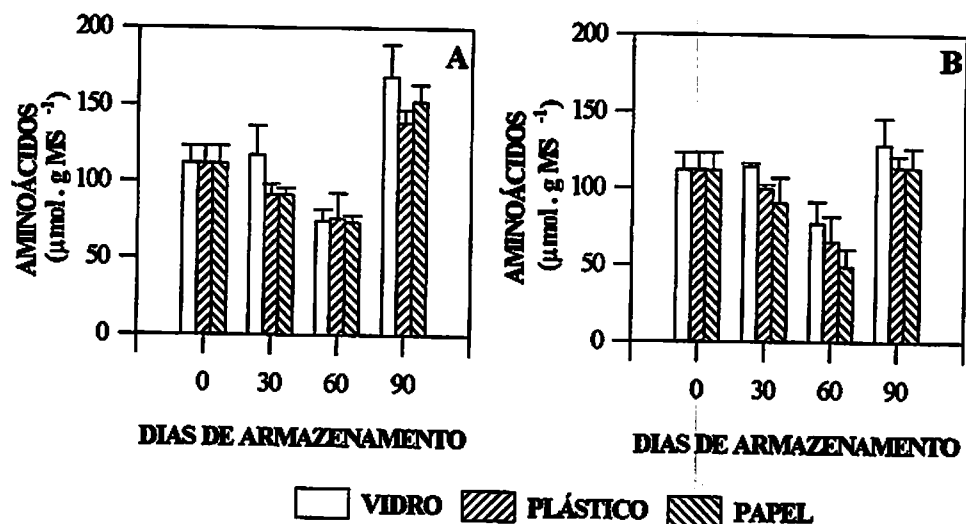


FIGURA 7: Aminoácidos em sementes de *Paspalum paniculatum* submetidas a diferentes tempos de armazenamento, tipos de embalagens e diferentes condições: (A) - Câmara fria /10°C e (B) - condição ambiente. UFLA, Lavras - MG, outubro - 1999.

Esta queda pode estar associada à destruição dos aminoácidos pelas reações de Amadori e Maillard, relatado por Wettlaufer e Leopold (1991). Essas reações são caracterizadas pelo ataque não enzimático aos grupos amina pelos açúcares redutores. Comparando estes dados com os de açúcares redutores, podemos supor que o comportamento de ambos estejam de alguma forma associados.

Após os 60 dias de armazenamento, houve um aumento nos teores de aminoácidos. Este aumento pode ser justificado pela provável ativação de enzimas proteolíticas, pois, segundo Smith e Berjak (1995), com o envelhecimento das sementes, há um acréscimo no conteúdo de aminoácidos

livres. Como as sementes se mantiveram vivas por este período, a síntese de novos aminoácidos também pode ter contribuído para este aumento. Resultados semelhantes foram encontrados por Paula (1997), trabalhando com sementes de seringueira.

5.0 Conclusão

- As sementes de *Paspalum paniculatum* se mantiveram viáveis, em todo o período de armazenamento.
- As embalagens e condições de armazenamento testadas não influenciaram a qualidade das sementes.
- As análises bioquímicas utilizadas durante o período de armazenamento não revelaram alterações no processo de deterioração das sementes.

6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDUL-BAKI, A . A . , ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOSLOWSKI, T. T. Seed biology. New York: Academic Press, 1972. V.1, 416p.
- BASKIN, J. M . , e BASKIN, C. C. Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormency and germination. San Diego: Academic Press, 1998. 666 p.
- BASAVARAJAPPA, B., SHETTY, H., PRAKASH, H. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with ageing of maize seeds. Seed Science and Tecnology, v.19, n. 2, p.279-286, 1991.
- BERNAL-LUGO, I., LEOPOLD, A . C. Changes in soluble carbohydrates during seed storage. Plant Physiology, n.98, p.1207-1210, 1992.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. Seeds: Physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994, 2ª ed. 445 p.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, New York, v.72, p. 248-254, 1976.
- CARVALHO, A.M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência e tecnologia de produção. 2.ed. Campinas, Fundação Cargill, 1983. 429p.
- CHING, T. M . , SCHOOLCRAFT, I. Physiological and chemical differences in aged seeds. Crop Science, v.8, p. 407-409, 1968.
- CONDÉ, A . dos R. & GARCIA, J. Efeito de época de colheita sobre o potencial de armazenamento das sementes de capim braquiária, em condições ambientais. Revista Brasileira de Sementes, 7 (2) : 85-92, Brasília, 1985a.
- CONDÉ, A. dos R & GARCIA, J. Efeito da maturação e do armazenamento sobre a qualidade das sementes de capim Colonião. Revista Brasileira de Sementes, 7 (3) : 115-122, Brasília, 1985b.
- DIAS, D. C. F. S., MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: I. Condutividade elétrica. Informativo ABRATES, v.5, n.1, p.26-36, 1995.

- DELOUCHE, J.C.; MATTHES, R.K.; DOUGHERT, G.M.; BOYD, A.H. Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.1, n.3, p.671-700. 1973.
- DURIGAN, G; DIAS, H. C. S. Abundância e diversidade da regeneração natural sob mata ciliar implantada. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6, Campos do Jordão, 1990. *Anais...* São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1990. P. 308.
- GILL, C. J. The flooding tolerance of woody species - a review. *Forestry Abstracts*, Farnham Royal, v.31, p.671-688, 1970.
- HARRINGTON, J.F. Biochemical basis of seed longevity. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.1, n.2, p.453-461, 1973.
- JACKSON, M B.; DREW, M. C. Effects of flooding on growth and metabolism of herbaceous plants. In: KOZŁOWSKI, T. T. Flooding and growth. Madison, Academic Press, 1984. P. 47-127.
- JESUS, J. C. de. Conservação de sementes de capim colônião (*Panicum maximum* Jacq) efeito do teor de água e da embalagem. Piracicaba: ESALQ, 1995, 68 P. (Tese- Doutorado em Fitotecnia).
- JUSTICE, O.; BASS, L. Principle and practices of seed storage. Washington: Protect, 1978. 289p. (Agriculture Handbook, n.556).
- KAGEYAMA, P. Y.; REIS, A.; CARPANEZZI, A.A. Potencialidades e restrições da regeneração artificial na recuperação de áreas degradadas In: SIMPÓSIO NACIONAL, RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS. Curitiba, 1992. *Anais...* Curitiba: FUPEF, 1992. P. 1-7.
- KRAMER, P.J.; KOZŁOWSKI, T.T. *Physiology of trees*. New York: McGraw-Hill Book Company. 1960. 642p.
- KOSTER, K. L., LEOPOLD, A. C. Sugar and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology*, v.88, p. 829-832, 1988.
- KOZŁOWSKI, T. T. *Flooding and plant growth*. Madison: Academic Press, 1984. P. 10-42.
- LEMOS, G. B. Crescimento e atividade de enzimas de assimilação do nitrogênio em plantas jovens de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell.

Arg.) cultivadas com diferentes concentrações de nitrato e amônio. Lavras: UFLA, 1996, 56p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).

LIMA, W. P. Função hidrológica da mata ciliar. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILAR, 1, São Paulo, 1989. Anais... Campinas: Fundação Cargil, 1989. P. 25-42.

LOMBARDI NETO, F. Degradação das pastagens. In: ENCONTRO SOBRE RECUPERAÇÃO DE PASTAGENS, Nova Odessa, 1993. Anais... Nova Odessa, 1993. P. 49-60.

LULA, A. de A., Estudos fisiológicos da germinação de *Setaria anceps* cv. Kazungula e *Paspalum paniculatum*. Lavras: UFLA, 1998. 59p. (Tese de Mestrado - Fisiologia Vegetal).

MASTROCOLA, M. A., Armazenamento de sementes de capim Colômbio (*Panicum maximum* Jacq.). Piracicaba, 1982. 82p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Biochemistry*, New York, v. 31, p. 426-428, 1959.

MULLER, A. C.; ZELAZOWSKI, V. H. Reflorestamento ecológico da faixa de proteção do reservatório de Itapu - ME. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILAR, 1, São Paulo, 1989. Anais... Campinas: Fundação Cargil, 1989. P. 231-232.

PAMMENTER, N. W. , FARRANT, J. M. , BERJAK, P. Recalcitrant seeds: short-term storage effects in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. May be germination associated. *Annals of Botany*, v. 54, p. 843-46, 1984.

PAULA, N. F. de. Alterações fisiológicas em sementes de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) durante o armazenamento. Viçosa: UFV, 1997. 52p. (Tese de Mestrado - Ciência Florestal).

PELACANI, C.R. Estratégias de sobrevivência de espécies herbáceas em áreas inundáveis e comportamento fisiológicos de espécies arbóreas e arbustivas submetidas à condições de inundação do sistema radicular. Lavras: ESAL, 1993, 110p. (Tese de Mestrado - Fisiologia Vegetal).

- PEREIRA, J. da P. Conservação da viabilidade do poder germinativo da semente de seringueira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.15, n.2, p. 237-244, 1980.
- POPINIGIS, F. *Fisiologia de sementes*. 2. ed. Brasília. AGIPLAN, 1985. 289p.
- REICHARDT, K. Relações água-solo-plantas em mata ciliar. In: SIMPÓSIO SOBRE MATA CILIAR, Campinas 1989. Anais. Campinas, Fundação Cargil, 1989. P. 20-42.
- SALVADOR, J. L. G. Comportamento de espécies florestais nativas em áreas de depleção reservatórios. *IPEF*, Piracicaba, v.33, p.73-78, 1986.
- SILVER, M. e KAREN, M. The behavior of invertase in model systems at low moisture contents. *Journal Food Biochemistry*, 5: p.283-311, 1981.
- SKERMAN, P. J. Tropical forage legumes. Romé, FAO, 1977. 609p. (FAO Plant Production and Protection Series, 2).
- SMITH, M. T., BERIAK, P. Deteriorative changes associated with the loss of storage desiccation-tolerant seeds. In: KIMOJEL, Y., GOLILI, G. Seed development and germination. New York: Marcel Dekker Inc., 1995. 853p.
- SOUZA FILHO, A. P. S.; MEIRELLES, P. R. L.; PIMENTEL, D. M. Introdução de gramíneas forrageiras em área de várzea do Amapá. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 22, Santa Catarina, 1985. Anais... Santa Catarina, SBZ, 1985. P.201.
- TAYLOR, A. G., LEE, S. S., BERESNIEWICZ, M. M. et al. Amino-ácido leakage from aged vegetable seeds. *Seed Science and Technology*, v.23, n.1, p. 113-122, 1995.
- TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. *Manual de sementes: tecnologia de produção*. São Paulo, Ceres. 1977. 233p.
- VERTUCCI, C. W., LEOPOLD, A. C. Physiological activities associated with hydration level in seeds. In: AC Leopold, ed, *Membranes, Metabolism and Dry Organisms*. Cornell University Press, Ithaca, New York, p: 35-49. 1986.

WETTLAUFER, S. H., LEOPOLD, A . C. Relevance of Amadori and Maillard products to seed deterioration. **Plant Physiology**, v.97, p. 165-169, 1991.

YEMM, E. W. e COCKING, C. The determination of amino acids with ninhydrin, **Analyst**, London, v. 80, p. 209-214, 1955.

YEMM, E. W. ; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plants extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, London, v. 90, n.3, p. 508-514, 1954.

ZELNY, L. Chemical, physical, and nutritive changes during storage. In: **ANDERSON, J. A . , ALCOCK, A . W.** Storage of cereal grains and their products. Minnesota, 1954. 515p.