

**GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO
DE AQUÊNIOS DE ARNICA
(*Lychnophora pinaster* Mart.) COLETADOS EM
DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

PAULO RÉGIS BANDEIRA DE MELO

2005

PAULO RÉGIS BANDEIRA DE MELO

**GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE AQUÊNIOS DE ARNICA
(*Lychnophora pinaster* Mart.) COLETADOS EM DIFERENTES
ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

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

Orientador

Prof. Dr. João Almir Oliveira

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2005**

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

Melo, Paulo Régis Bandeira de

Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.)
coletados em diferentes estádios de maturação / Paulo Régis Bandeira de Melo. -- Lavras :
UFLA, 2005.

79 p. : il.

Orientador: João Almir Oliveira.
Dissertação (Mestrado) – UFLA.
Bibliografia.

1. Arnica. 2. Planta medicinal. 3. Asteraceae. 4. Semente. 5. Raios X. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.88355
-583.55

PAULO RÉGIS BANDEIRA DE MELO

**GERMINAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE AQUÊNIOS DE ARNICA
(*Lychnophora pinaster* Mart.) COLETADOS EM DIFERENTES
ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

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

APROVADA em 02 de fevereiro de 2005

Profa Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães UFLA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira EPAMIG

Prof. Dr. João Almir Oliveira

UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2005**

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, pelos recursos disponibilizados para a realização do curso de mestrado.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Ao professor Dr. João Almir Oliveira, pela orientação e capacidade de trabalho.

Aos professores Dr. Renato Mendes Guimarães, Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho e ao pesquisador Antônio Rodrigues Vieira, pela troca de conhecimentos e experiências.

Aos funcionários da ECOMED/Hospital Vaz Monteiro, pela presteza nos serviços radiográficos.

Ao colega Carlos Eduardo Pereira, em nome do qual saúdo os demais alunos, bolsistas e estagiários, pelo auxílio dispensado.

Ao pessoal do Laboratório de Sementes Florestais e do Laboratório de Patologia de Sementes.

Ao professor Dr. José da Cruz Machado, pelas palavras de alento em relação aos fatos da vida.

Às funcionárias Elza, Dalva, Elenir e Andréa, do Laboratório de Análise de Sementes e demais funcionários da UFLA, pela colaboração.

Aos professores Dr. José Eduardo Brasil Pereira Pinto e Dr. Evaristo Mauro de Castro, pela coorientação.

Aos componentes da banca de defesa, pela avaliação e contribuições.

À família do Setor de Sementes.

Aos meus pais, Francisco de Paula de Moraes Melo e Irismere Bandeira de Melo, pelo incentivo incondicional.

Aos meus irmãos, César e Regianne, pois, afinal, estamos no mesmo barco.

À minha companheira, Renata e filhas, Júlia e Luana, pelo amor e dedicação.
A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho, em especial à natureza.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	iii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução geral.....	1
2 Referencial teórico.....	3
2.1 Descrição botânica e importância fitoterápica da arnica (<i>Lychnophora pinaster</i> Mart.).....	3
2.2 Propagação.....	6
2.3 Maturação e colheita.....	8
2.4 Germinação.....	9
2.5 Teste de raios X.....	11
2.6 Armazenamento de sementes.....	13
3 Referências bibliográficas.....	17
CAPÍTULO 2: Efeito da temperatura e da luz sobre a germinação de aquênios de arnica (<i>Lychnophora pinaster</i> Mart.) em dois estádios de coleta.....	22
1 Resumo.....	22
2 Abstract.....	24
3 Introdução.....	25
4 Material e métodos.....	27
4.1 Coleta dos aquênios.....	27
4.2 Determinação do grau de umidade.....	27
4.3 Secagem.....	29
4.4 Beneficiamento.....	29
4.5 Teste de germinação.....	30
4.6 Procedimento estatístico.....	30
5 Resultados e discussão.....	31
6 Conclusões.....	37
7 Referências bibliográficas.....	38

CAPÍTULO 3: Aplicação do teste de raios X no estudo da morfologia interna de aquênios de arnica (<i>Lychnophora pinaster</i> Mart.).....	39
1 Resumo.....	39
2 Abstract.....	41
3 Introdução.....	42
4 Material e métodos.....	44
4.1 Coleta dos aquênios.....	44
4.2 Determinação do grau de umidade.....	44
4.3 Secagem.....	45
4.4 Beneficiamento.....	45
4.5 Teste de raios X.....	45
4.5.1 Adequação da técnica.....	45
4.5.2 Separação das categorias.....	46
4.6 Teste de germinação.....	46
4.7 Procedimento estatístico.....	47
5 Resultados e discussão.....	48
6 Conclusões.....	56
7 Referências bibliográficas.....	57
CAPÍTULO 4: Germinação de aquênios de arnica (<i>Lychnophora pinaster</i> Mart.) armazenados em diferentes condições.....	59
1 Resumo.....	59
2 Abstract.....	61
3 Introdução.....	62
4 Material e métodos.....	63
4.1 Coleta dos aquênios.....	63
4.2 Determinação do grau de umidade.....	63
4.3 Secagem.....	64
4.4 Beneficiamento.....	64
4.5 Armazenamento.....	65
4.6 Teste de germinação.....	65
4.7 Teste de sanidade.....	66
4.8 Procedimento estatístico.....	66
5 Resultados e discussão.....	67

6 Conclusões.....	74
7 Referências bibliográficas.....	75
ANEXOS.....	76

RESUMO

MELO, Paulo Régis Bandeira de. **Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação.** 2005. 79 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) é uma espécie da família Asteraceae, com propriedades medicinais, natural de campos rupestres, considerada endêmica e ameaçada de extinção. O objetivo deste trabalho, realizado na Universidade Federal de Lavras, foi contribuir com estudos referentes à coleta, germinação e armazenamento de aquênios de arnica, visando garantir sua perpetuação via propagação sexuada e sua futura domesticação para cultivos comerciais. Os aquênios utilizados foram coletados em dezembro de 2003, no município de Itumirim, MG, em dois estádios de maturação, baseados nos caracteres morfológicos dos capítulos, ou seja, aquênios com papus interno presente e aquênios com papus interno ausente, já em dispersão. Os aquênios passaram por processo de secagem, pré-limpeza e separação utilizando soprador vertical. Em relação à morfologia dos aquênios, foi utilizado o teste de raios X como auxílio na identificação de aquênios cheios, mal formados e vazios. Nos demais ensaios foram avaliados o efeito da luz e cinco temperaturas na germinação dos aquênios, bem como seu comportamento no período de seis meses de armazenamento em diferentes condições. O teste de raios X, na regulagem de 30 Kv/45 segundos, permitiu a melhor visualização radiográfica, mostrando-se eficiente na determinação da qualidade dos aquênios. A melhor época para a coleta de aquênios de arnica ocorre por ocasião da sua dispersão, com aquênios sem os papus interno presente. A temperatura 20-30°C foi a mais eficiente para a germinação dos aquênios. Em relação à incidência de luz, os aquênios apresentaram tendência ao fotoblastismo positivo, principalmente sob temperaturas contínuas. Não houve diferença para as quatro condições de armazenamento, podendo-se, dessa forma, armazenar aquênios de arnica por um período de seis meses em embalagens de papel ou plástico e em câmara fria a 10°C/50%UR ou em ambiente de laboratório. No transcorrer do armazenamento,

* Comitê Orientador: João Almir de Oliveira – UFLA (Orientador), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

ocorreu o incremento da germinação, principalmente do estágio menos maduro, cujo papus interno encontrava-se aderido aos aquênios.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: semente, raios X, planta medicinal.

ABSTRACT

MELO, Paulo Régis Bandeira de. **Germination and storage of arnica seeds (*Lychnophora pinaster* Mart.) collected at different maturation stages.** 2005. 79 p. Dissertation (Master degree in Plant Science) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Arnica (*Lychnophora pinaster* Mart) is from Asteraceae family, with medicinal properties, natural from rocky fields, considered endemic and threatened species. The objective of this work was to contribute with studies referring to seed collection, germination and storage, aiming to guarantee perpetuation through sexual propagation and future domestication of the species for commercial cultivations. The seeds used were collected in December of 2003, in the district of Itumirim, MG, at two maturation stages, based on the morphologic characters of the capitulum, seeds showing internal papus and seeds with absence of internal papus at the time of dispersion. The seeds were dried, cleaning and separated with vertical blower. X-rays machine was used to identify formed, badly formed and empty seeds. The effect of light and five temperatures for germination, as well as storage behavior during six months of storage at different conditions were evaluated. The radiation of 30Kv per 45 seconds allowed the best visualization of the internal structures of the seeds. The maturation stage capitulum with seeds without internal papus at the time of dispersion is the best time for seed collection. The temperature of 20-30°C was the more efficient for seed germination. In relation to light incidence, the seeds showed a tendency of being photoblastic positive, mainly under continuous temperatures. There was no difference regarding the four different storage conditions; arnica seeds may be storage for a period of six months in paper packing or plastic in cold chamber at 10°C/50%RH or room temperature. During storage there was an increase in germination for the unripe seeds, when the internal papus is still attached to the seeds.

INDEX TERMS: seed, X-rays, medicinal plant.

* Guidance Committee: João Almir de Oliveira – UFLA (Supervisor), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

A arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.), da família Asteraceae, é uma espécie medicinal, considerada endêmica do Brasil, com distribuição restrita aos campos rupestres de Minas Gerais. Estes campos são formados por um tipo de vegetação natural que se desenvolve em área com afloramento de rochas, entre 800m e 2000m de altitude nos planaltos de serras e de alguns platôs altos, apresentando uma flora, em grande parte, endêmica (Barreto, 1956; Eiten, 1977; Giulietti et al., 1987 e Dias, 1992).

A espécie possui folhas e flores aromáticas com propriedades medicinais, cuja ação farmacológica predominante ocorre no sistema circulatório. A medicina popular a utiliza como antiinflamatório, anestésico, cicatrizante, para traumatismos, contusões e picadas de insetos, como descrito por Rodrigues & Carvalho (2001), que constataram o uso popular da arnica em um levantamento etnobotânico no domínio dos cerrados da região do Alto Rio Grande em Minas Gerais.

A “arnica mineira”, assim definida por Semir (1991), por apresentar sua distribuição restrita a algumas localidades de Minas Gerais, é encontrada, na região de Lavras, MG, com frequência na Serra da Bocaina (Carvalho, 1992). Ela vem sendo explorada predatoriamente pela população, além de sofrer queimadas sistemáticas todos os anos, o que tem levado a uma preocupante diminuição de sua ocorrência. Atualmente, a *L. pinaster* encontra-se na categoria de plantas vulneráveis, cujas populações encontram-se em declínio em consequência da exploração excessiva, destruição dos habitats e alterações

ambientais, e cuja sobrevivência definitiva ainda não tenha sido assegurada, o que poderá levar a espécie à extinção (Sociedade Botânica do Brasil, 1992).

Portanto, os estudos referentes à coleta, germinação e condições de armazenamento dos aquênios de *Lychnophora pinaster* permitirão uma melhor compreensão de sua reprodução sexuada o que, dentre outras aplicações, servirão como base para o manejo racional da espécie, evitando assim o seu desaparecimento, além de fornecer subsídios para cultivos com fins comerciais, especificamente para a indústria farmacêutica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição botânica e importância fitoterápica da arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.)

O gênero *Lychnophora* é considerado endêmico do Brasil, tendo as suas espécies uma distribuição restrita aos complexos rupestres de quartzito da Bahia, Goiás e Minas Gerais (Semir, 1991). Caracteriza-se pela presença de capítulos em glomérulos congestos apicais (capítulo de capítulos), papus paleáceos, bisseriados, com a série interna mais longa e precocemente caduca na maturação dos aquênios (Martius, citado por Leitão Filho & Semir, 1979). Estes autores enfatizam a importância do papus como característica básica do gênero e acrescentam que a série externa do papus é curta e persistente. As espécies do gênero ocorrem em solos superficiais retidos em arenito, quartzito ou depósitos ferrosos, ou areia branca profunda, aparentemente edaficamente restritas à um substrato particular ou a diferentes regimes de umidade (Coile & Jones, 1981). Nesse sentido, Oliveira Júnior (2004), estudando a influência da calagem e adubação no crescimento de mudas e no teor e rendimento de óleo essencial da *Lychnophora pinaster*, concluiu que a arnica tolera a acidez do solo, mostrando-se pouco exigente em fertilidade, sobretudo de macronutrientes, porém, necessitando de atenção em relação às exigências a micronutrientes.

Segundo Semir (1991), a espécie *L. pinaster* ocorre em ambientes extremamente xéricos, sendo encontrada em campos de canga (Serra de Rola Moça, Moeda e Curral) crescendo entre blocos de rochas ou altos de pequenos morros expostos à intensa insolação e em carrascais nos serrotes, como visto nas Serras do Cipó, do Caraça e em Lavras. Carvalho (1992) observou arbustos dessa espécie crescendo nos campos rupestres da Serra da Bocaina sobre pequenas depressões rochosas, onde há acúmulo de matéria orgânica. Segundo

Silva (1994), a floração ocorre entre os meses de agosto a outubro; a dispersão dos frutos se dá entre os meses de dezembro, janeiro e fevereiro, época mais provável para a coleta dos aquênios.

De acordo com Semir (1991), *L. ericoides* Mart. é uma espécie muito semelhante à *L. pinaster*. Às vezes, a separação entre elas é difícil e problemática. Ambas, e principalmente a *L. pinaster*, são bastante pólimórficas no porte, diâmetro dos ramos, forma, comprimento e largura das folhas. Dessa forma, segundo o autor, variantes destas espécies podem sobrepor caracteres e serem confundidas entre si.

Lychnophora pinaster (syn. *Vernonia pinaster* (Mart) Less.) é uma planta que varia de subarbusto ereto com muitos ramos a pequenos arbustos ericóides e, mais raramente, a arbustos mais altos, candelabroiformes, com 0,4 a 2,4m e, muito dificilmente, com até 3,6m. Ramos alternos a subverticilados flexuosos e delicados até mais robustos, densamente tomentosos a velutinos ou curtamente subvilosos, geralmente de coloração cinérea a negriscente abaixo e mais ou menos canescente acima, às vezes variadamente ocrácea até atrofusca com cicatrizes triangulares a circulares, ou formando alvéolos subrômnicos, dando aos ramos o aspecto tesselado com 0,5 a 2,0cm de diâmetro, com o eixo principal basal (tronco) atingindo 2,5 a 5,0 cm de diâmetro nas regiões mais velhas das plantas arbustivas maiores. Folhas muito imbricadas e ascendentes na parte superior dos ramos e mais patentes até pouco reflexas abaixo, geralmente lineares, linear-oblongas, rosmariinóides e ericoides, às vezes longamente lineares em forma de fita, base arredondada a auriculada às vezes ligeiramente atenuada, ápice obtuso a pouco arredondado, raramente pouco agudo, margem revoluta; venação broquidódroma; face adaxial densamente tomentosa canescente com nervura principal subvilosa quando jovem, subglabrescente, permanecendo pouco pubérula até totalmente glabra quando velha, geralmente muito rugosa e bulada, às vezes quase lisa, nervura principal alargada, afinando

da base para o ápice, com indumento subviloso às vezes permanente, nervuras de outras ordens variadamente evidentes e impressas; face abaxial inferior totalmente tomentosa com tricomas subvilosos entremeados a tomentosos, cobrindo todas as nervuras, com principal subquadrática, não alada, sulcada longitudinalmente e bem evidente e saliente com geralmente 0,5 a 6,0 cm de comprimento, mais raramente podendo atingir até 12,0 cm de comprimento e cerca de 0,1cm de largura. Inflorescência em glomérulos simples folhosos, geralmente muito congestos, hemisféricos com folhas esparsas entre eles com 1,0 a 1,5 cm de comprimento e 2,0 a 3,0 cm de diâmetro, em ramos folhosos com até 10,0 cm de comprimento e até 0,3 cm raramente 1,0 cm de diâmetro. Capítulos campanulados a cilíndricos com 3 a 5 flores, com 6,5 a 8,0 mm de comprimento e 3,0 a 5,0 mm de diâmetro. Brácteas involucrais em 4 a 5 séries, com as exteriores triangulares a subovais, as interiores mais lanceoladas a oval-lanceoladas, côncavas de ápice largamente obtuso a arredondado com mancha marrom, margem inteira membranácea, escariosa de coloração mais pálida, superfície tomentosa quando jovem, glabrescente com 2,0 a 8,0 mm de comprimento e 1,0 a 2,0 mm de largura. Flores lilazes a púrpuras com 8,0 a 10,0mm de comprimento, lacíneos glabros, glandulosos com até 4,0 mm de comprimento. Anteras alvas com até 4,0 mm de comprimento. Aquênio obcônico a oval cilíndrico, glabro, glanduloso oliváceo a castanho, às vezes com manchas atropurpúreas, costado, às vezes com costas pouco evidente, anguloso, com 1,5 a 3,0 mm de comprimento e 0,8 a 1,5 mm de diâmetro, papus externo quadrático, pouco coroniforme com ápice truncado a ligeiramente eroso a crenulado com 0,5 a 2,0 mm de comprimento, série interna às vezes pouco espiralada com 10 a 15 páleas com 5,5 a 6,0 mm de comprimento (Semir, 1991).

De acordo com Silva (1994), pesquisas sobre as propriedades medicinais das espécies do gênero *Lychnophora* têm demonstrado que há potencial dessas plantas para uso farmacêutico. Foram constatados 100% de atividade

tripanossomicida em seis espécies da família Asteraceae, dentre as quais encontram-se *Lychnophora passeriana* (Mart. ex DC.) Gardn., *L. pinaster* Mart. e *L. trichocarpha* (Spreng.) Spreng., das quais foram isoladas substâncias ativas (Chiari et al., 1994). Saúde et al. (1994) constataram que uma substância ativa obtida do extrato alcoólico de *L. trichocarpha* (Spreng.) Spreng., apresentou atividade contra várias formas de câncer. Rizzo (1981) cita que, em trabalho preliminar realizado pelo Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Goiás, a espécie *L. ericóides* Mart., apresentou um poder antiinflamatório surpreendente. Estes efeitos assemelham-se àqueles relatados na espécie européia denominada *Arnica montana* L. (Asteraceae), que é utilizada pela medicina oficial desde o século XVIII (Teske & Trentini, 1997, citados por Pinheiro, 2002). Talvez devido à semelhança dos efeitos clínicos entre a *L. pinaster* e a *Arnica montana*, estas sejam conhecidas vulgarmente por arnica.

Trabalhos realizados por Pinheiro (2002) com a espécie *Lychnophora pinaster*, testando a influência de diferentes métodos de secagem sobre o rendimento de óleo essencial, permitiram obter como resultado um maior rendimento deste quando empregaram-se folhas frescas na extração por refluxo etanólico. Não houve diferença significativa quando foram utilizadas flores frescas; validando cientificamente o uso empírico das folhas e flores como extrato alcoólico pela população.

2.2 Propagação

A estratégia de domesticação das plantas de ocorrência espontânea deve contemplar estudos no local de origem (solo, clima e propagação natural), coleta de plantas e sementes para pesquisa, estudo da propagação por sementes ou parte vegetativa e do crescimento inicial das plantas, testes de técnicas de manejo da cultura (irrigação, fertilização e datas de plantio), estudos

fitopatológicos e levantamentos de ordem econômica (Franz, 1986 e Palevicht, 1987).

Segundo Hartmann et al. (1990), citados por Marques (1998), a propagação por sementes é o principal método pelo qual as plantas se reproduzem na natureza e é a maneira mais usual de propagação nos cultivos agrícolas. Para as espécies medicinais que se encontram em estado selvagem na natureza, a reprodução sexuada assume especial importância, pois é a maneira de manter a variabilidade genética mesmo após o início da domesticação do vegetal. Também deve-se considerar que a propagação por sementes é mais fácil e econômica que a propagação vegetativa e a micropopagação (Pereira et al., 1995).

Dentro deste contexto, Silva (1994) estudou a espécie *Lychnophora pinaster* quanto aos aspectos da fenologia e reprodução sexuada, por meio da germinação de aquênios em solo, areia e papel, utilizando caixa gerbox, por considerar importante e urgente a obtenção de informações científicas sobre o seu comportamento em habitat natural e seus aspectos reprodutivos. Seu trabalho permitiu concluir que a arnica apresenta um comportamento fenológico sazonal com relação aos seus aspectos vegetativos, reprodutivos e dispersão dos frutos, em função das variações climáticas. Além disso, uma maior porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) dos aquênios são possíveis em condições de laboratório, quando se utilizam substrato entre papel e temperaturas alternadas 20-30°C.

Contudo, Souza (2003) demonstrou que a cultura de tecidos é altamente segura na produção de plântulas da espécie *Lychnophora pinaster* com qualidade, pois a técnica de micropopagação não afeta a anatomia das plântulas de arnica. Plantas dessa espécie, aptas a serem levadas ao campo, podem ser perfeitamente obtidas quando se utiliza o solo do local de ocorrência da espécie para aclimação das plântulas advindas da cultura de tecido.

2.3 Maturação e colheita

A maturação compreende as transformações morfológicas, fisiológicas e funcionais que se sucedem ao óvulo fertilizado e que culminam com o máximo acúmulo de matéria seca pela semente. Neste ponto, para determinadas espécies, a semente atinge também o máximo poder germinativo e máximo vigor, sendo, por isso, denominado por Popinigis (1985) como o “ponto de maturidade fisiológica”.

As principais modificações durante a maturação ocorrem no grau de umidade, no tamanho, no peso da matéria seca, no poder germinativo e no vigor da semente. De acordo com Harrington (1972), citado por Carvalho & Nakagawa (2000), o máximo da matéria seca, freqüentemente, indica a maturidade fisiológica. Caracteres morfológicos de frutos e sementes são importantes para auxiliar na determinação do ponto de maturidade fisiológica, bem como antecipar a colheita com objetivo de evitar possíveis deteriorações no campo, em função das variáveis ambientais. Carvalho & Nakagawa (2000) comentam sobre a dificuldade de se determinar o ponto final do processo de acúmulo de matéria seca e sobre a necessidade de maior atenção para a morfologia do fruto e das sementes que teriam atingido esse estágio.

Sementes que apresentam imaturidade do embrião, ou seja, aquelas em que o embrião ainda necessita se desenvolver após a dispersão, atingirão um estado em que estejam aptas para germinar somente após sua completa maturação. Popinigis (1985) conceitua embrião imaturo como aquele que já encontra-se diferenciado, porém, retoma o crescimento quando a semente se reidrata, não germinando antes que tenha atingido determinado tamanho. De acordo com Bryant (1989), as melhores temperaturas para a maturação do embrião são aquelas que induzem a um crescimento normal.

Segundo Carvalho & Nakagawa (2000), em algumas espécies, o atraso em relação ao momento ideal para a colheita pode resultar em perdas

quantitativas e qualitativas em função da degrana das sementes maduras e, se antecipada, pode ter sua realização dificultada pela presença de grande quantidade de imaturas. Esse problema acentua-se nas plantas medicinais, por serem espécies pouco ou recém-domesticadas, nas quais a desuniformidade de florescimento e de maturação, somada à degrana e à deiscência, constituem-se em relevantes mecanismos de dispersão das sementes e conseqüente perpetuação das espécies.

2.4 Germinação

A germinação é um processo biológico que garante a perpetuação da espécie e é regulada por vários fatores ambientais, como água, temperatura, luz para certas espécies e nutrientes, os quais determinarão a taxa em que esta ocorrerá (Bewley & Black, 1985 e Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). A germinação é definida como sendo a retomada do crescimento e desenvolvimento do embrião da semente, após um período de quiescência, que se inicia com a absorção de água (Popinigis, 1985; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000).

A absorção de água pela semente constitui a primeira etapa de uma série de eventos que culminam com a retomada do crescimento do embrião, ou seja, a emissão da radícula (Bewley & Black, 1994). A embebição é um tipo de difusão que acontece quando as sementes absorvem água, dando início a uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos no interior da semente que, na ausência de outro fator limitante, resulta na emergência da plântula (Popinigis, 1985).

Segundo Bewley & Black (1994), a absorção de água pela semente, em função da velocidade, ocorre em três fases distintas. A fase I ou de embebição é caracterizada por uma grande velocidade de absorção de água, determinada pela diferença do potencial hídrico entre o substrato e a semente, de forma que esta

fase ocorre tanto em tecidos vivos como em tecidos mortos, independentemente da atividade metabólica da semente, embora o metabolismo se inicie rapidamente como consequência desta hidratação. A fase II é determinada por uma redução na velocidade de embebição; a hidratação das partes da semente é completada e as enzimas são ativadas. Nesta fase, acontece uma preparação para a germinação pela digestão enzimática das reservas, ou seja, ocorre a degradação das grandes moléculas armazenadas nas sementes em compostos de cadeia mais simples, passíveis de serem mobilizadas para o eixo embrionário. Esta fase é a mais longa do processo e precede a fase III, que é caracterizada pelo crescimento e desenvolvimento do eixo embrionário, o que acarreta um novo aumento na velocidade de embebição. No início desta última fase acontece a germinação visível e o processo se torna irreversível, de forma que a ausência de um dos fatores essenciais à germinação implique na morte da semente.

O controle ambiental de ativação do processo germinativo tem uma função relativamente distinta em aumentar o potencial de sobrevivência das espécies (Koslowski, 1972). A luz é um dos mais importantes fatores ambientais responsáveis pela superação da dormência de sementes de muitas espécies. A classificação das espécies quanto à resposta à luz tem sido dividida em três categorias distintas: fotoblásticas positivas, cujas sementes dependem da luz para promover a germinação; fotoblásticas negativas, que têm a germinação reduzida ou inibida na presença da luz e fotoblásticas independentes, que apresentam-se indiferentes à presença ou à ausência de luz para germinarem.

Em muitas espécies, o estímulo da semente à germinação pela luz está relacionada a um sistema de pigmento denominado fitocromo. Bastante sensível à luz, o fitocromo apresenta-se em duas formas, uma ativa (F_{ve}) e outra inativa (F_v), ambas reversíveis. Ou seja, a forma ativa se inativa ao ser irradiada com luz vermelha-extrema (730nm) e, ao contrário, a forma inativa se ativa quando irradiada com luz vermelha (660nm) (Copeland & McDonald, 1985).

Para Arnold et al. (1990), é essencial a quantificação do efeito da temperatura alternada em populações de sementes com diferentes níveis de dormência, para se conhecer a época de interrupção da mesma no campo. Algumas das interações de temperaturas com luz podem ser relevantes para o comportamento das sementes em seu ambiente natural (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989). Grande número de espécies possui uma reação germinativa favorável a uma alternância de temperatura, devido à semelhança do que acontece ao natural, no qual as temperaturas diurnas são mais altas que as temperaturas noturnas (Popinigis, 1985 e Carvalho & Nakagawa, 2000).

Dentre outros fatores, o substrato exerce influência no processo germinativo sendo que, para ser utilizado em teste de germinação, este deve preencher certos requisitos, ou seja, ser atóxico à semente, ser isento de microrganismos e manter uma proporção adequada entre a disponibilidade de água e aeração (Popinigis, 1985; Copeland & McDonald, 1985). De acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), a escolha do substrato ocorre em função das características da espécie a ser analisada, tais como o tamanho da semente, sua exigência com relação à quantidade de água e incidência luminosa e a facilidade que o mesmo oferece para realização da contagem e avaliação das plântulas.

2.5 Teste de raios X

O teste de raios X foi desenvolvido, em caráter pioneiro, por Simak & Gustafsson (1953), para avaliar a qualidade de espécies florestais, sendo atualmente utilizado com diversas finalidades no âmbito da tecnologia de sementes.

Segundo Copeland (1976), o teste de raios X pode auxiliar na avaliação potencial da viabilidade, podendo detectar deficiências morfológicas associadas à qualidade fisiológica das sementes. Entretanto, embora o teste de raios X seja

um método não destrutivo, que auxilia na análise de caracteres morfológicos, é importante ressaltar não se tratar de um teste de viabilidade, pois, dentre outros, não avalia determinados atributos da qualidade das sementes radiografadas. Burg et al. (1994) comentam a respeito de diferenças nos resultados do teste de raios X em relação aos de germinação devido a possíveis infecções de microrganismos, não visíveis, a eventuais condições desfavoráveis à germinação e a sementes fisiologicamente mortas decorrentes do envelhecimento.

O procedimento para a aplicação do teste é considerado simples e rápido, baseando-se na obtenção de imagens radiográficas das sementes após submissão à radiação dos raios X. Em função da espessura, densidade e composição da sementes, dependendo do comprimento de onda, forma-se uma imagem permanente no filme radiográfico (Bino et al., 1993). A qualidade da imagem obtida para análise depende, então, da espécie em questão, do tempo de exposição das sementes à radiação, da regulação da potência do aparelho utilizado, medida em quilovoltagem, da miliamperagem fixa do aparelho e sensibilidade do filme radiográfico (ISTA, 1993). Ainda segundo esta associação, as sementes podem ser classificadas em cheias, vazias, danificadas por insetos e danificadas fisicamente, tendo os resultados expressos em porcentagem. Dessa forma, os dados provenientes do teste de raios X poderão auxiliar na interpretação e avaliação dos resultados obtidos no teste de germinação.

A incidência de raios X é potencialmente nociva. Contudo, a baixa dose absorvida durante a realização do teste não afeta a germinação e nem chega a causar mutações genéticas às sementes (Simak & Gustafsson, 1953; Bino et al., 1993).

Com a percepção da utilização potencial do teste de raios X para diversas finalidades, acentuam-se os estudos para descobrir as melhores condições de exposição das sementes, de diversas espécies, à radiação.

Obando Flor (2000), utilizando um aparelho Faxitron, Hewlett-Packard (modelo 43855A), regulado a 25 Kv/45 segundos, obteve nítida visualização dos danos internos de secagem nas sementes de milho. Assim, dependendo da cultivar, época de avaliação e tipo de dano, o vigor das sementes de milho com danos internos de secagem pode ser afetado de diferentes maneiras. Regulado a 25 Kv/60 segundos, Oliveira (2000) apontou serem estas as condições de exposição que permitiram melhor visualização de danos internos em sementes de canafístula. Este trabalho permitiu avaliar a qualidade das sementes de canafístula, classificando-as em função da severidade do dano observado. Neste mesmo aparelho, estudando a superação de dormência de diásporos de cajazeira, Silva (2003) conseguiu uma nítida visualização interna na regulagem de 60 Kv/30segundos, o que permitiu a observação da presença ou ausência das sementes nos lóculos. Tonetti (2004), utilizando 30Kv/45segundos, obteve sucesso na visualização e conseqüente separação das sementes de candeia nas categorias cheias, mal formadas e vazias. Assim, foi possível a avaliação da qualidade física das sementes.

A imagem radiográfica obtida, usando um aparelho de raios X Faxitron, Hewlett-Packard (modelo MX-20) regulado a 13Kv/5 minutos, possibilitou a detecção de danos e anormalidades em embriões de sementes de aroeira-branca, que afetaram negativamente a germinação (Machado, 2002). Regulado a 15 Kv/5 minutos, Cícero & Júnior (2003), desenvolveram um método cujos resultados permitiram relacionar o dano mecânico com eventuais prejuízos ocasionados ao vigor das sementes de milho.

2.6 Armazenamento de sementes

As condições de armazenamento estão diretamente relacionadas com a preservação da qualidade das sementes. As sementes adquirem melhor qualidade por ocasião da maturação fisiológica; a partir desse ponto, o poder germinativo e

o vigor declinam em intensidade variável, dependendo das condições a que ficam sujeitas (Pelegri, 1982). Fatores, como longevidade das sementes, qualidade inicial, estágio de maturação, teor de umidade, condições físicas da semente, condições ambientais de armazenamento, tratamento fitossanitário e tipo de embalagem, que afetam a qualidade das sementes armazenadas, deverão ser manejados de maneira a bloquear os mecanismos de envelhecimento (Pelegri, 1982; Carvalho & Nakagawa, 2000).

A deterioração de sementes é um processo degenerativo contínuo, que se inicia no estágio após maturidade fisiológica e continua até a perda da viabilidade e a morte da semente. Dependendo das condições ambientais e de manejo, pode haver, a seguir, a redução da qualidade fisiológica das sementes, pela intensificação do fenômeno da deterioração (Harrington, 1971). Para Abdul-Baki & 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.

A viabilidade das sementes resulta da influência de vários fatores: características genéticas da espécie ou cultivar, vigor da planta-mãe, condições climáticas predominantes durante a maturação das sementes, grau de dano mecânico e as condições nas quais é realizado o armazenamento (Carvalho & Nakagawa, 2000). Segundo Bewley & Black (1994), para a maioria das espécies, a viabilidade da semente é mantida quando seca e, por isso, é comum a secagem das sementes, para armazená-las com baixo conteúdo de umidade. Ainda de acordo com esses autores, 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.

O armazenamento das sementes se inicia no momento em que a maturidade fisiológica é atingida no campo, sendo este o ponto de maior qualidade. Após a semente ter atingido seu ponto máximo de qualidade fisiológica, fatores adversos devem ser eliminados para que essa qualidade seja preservada. Desde que a semente tenha sido colhida, seca, beneficiada, eliminando-se fatores desfavoráveis que reduzem a qualidade fisiológica durante essas operações, a preservação da qualidade fica na dependência das condições de armazenamento da semente (Popinigis, 1985). Segundo Almeida et al. (1997), citados por Vieira (2000), a função do armazenamento é proporcionar às sementes um ambiente no qual as mudanças fisiológicas sejam mantidas em um nível aceitável, evitando perdas desnecessárias, tanto no aspecto qualitativo como no quantitativo.

Durante o armazenamento, a temperatura e a umidade relativa do ar, que envolvem as sementes, constituem dois fatores extremamente importantes para que se mantenha o poder germinativo das mesmas. 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 (Popinigis, 1985).

Outro fator relacionado à conservação da qualidade fisiológica da semente, sob determinadas condições de umidade relativa do ar e de temperatura, é a embalagem utilizada durante o período de armazenamento. De acordo com Toledo & Marcos Filho (1977), os materiais usados para embalagem de sementes são: tecido de juta e de algodão, papel, celofane, alumínio, polietileno, vidro e metal, que podem ser empregados isoladamente ou em

composição (laminados). Portanto, baseado no tipo de material utilizado, Popinigis (1985) classificou as embalagens empregadas no acondicionamento da semente em: permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis à umidade. Segundo Condé & Garcia (1984), a maior permeabilidade da embalagem promoverá facilidades para que a umidade do meio ambiente entre em contato com as sementes e, assim, haverá maior atividade de microrganismos, insetos e do metabolismo da própria semente que, dessa forma, proporcionará um maior consumo de reservas.

O aumento da temperatura do ambiente de armazenamento provoca aumento da taxa respiratória da semente, de fungos e de insetos que a acompanham (Popinigis, 1985). Duas categorias de fungos são associadas às sementes: fungos de campo e fungos de armazenamento. Os fungos de campo, segundo Bewley & Black (1985), têm sua incidência reduzida durante o armazenamento; por outro lado, fungos de armazenamento, dependendo das condições, desenvolvem-se e tendem a elevar sua ocorrência afetando negativamente a qualidade das sementes armazenadas.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOSLOWSKI, T. T. (Ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 2, Cap. 4, p. 283-315.

ARNOLD, R. L. B.; GHERSA, C. M.; SCHANCHEZ, R. A.; INSAUSTI, P. Temperature effects on dormancy release and germination rate in *Sorghum haelpense* (L.) Pers. Seeds: a quantitative analysis. **Weed Research**, Oxford, v. 30, n. 1, p. 81-89, Feb. 1990.

BARRETO, H. L. M. Regiões fitogeográficas de Minas Gerais. **Boletim Geográfico-IBGE**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 130, p. 14-28, 1956.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. v. 2, 306 p.

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

BINO, R. J.; AARTSE, J. W.; VAN DER BURG, W. J. Non-destructive X-ray analysis of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wellington, v. 3, n. 3, p. 167-170, Sept. 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Ambiental, 1992. 365 p.

BRYANT, J. A. **Fisiologia da Semente**. São Paulo: EPU, 1989. 86 p.

BURG, W. J. van der; AARTSE, J. W.; ZWOL, R. A. van; JALINK, H.; BINO, R. J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 119, n. 2, p. 258-263, Mar. 1994.

CARVALHO, D. A. Flora fanerogâmica de campos rupestres da Serra da Bocaina, Minas Gerais: caracterização e lista de espécies. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 16, n. 1, p. 97-122, jan./mar. 1992.

CARVALHO, N. M.; NACAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CHIARI, E.; RASLAN, D. S.; BOAVENTURA, M. A. D.; DUARTE, D. S.; SAÚDE, D. A.; SILVA, K. P. P.; OLIVEIRA, A. B.; Atividade tripanossomicida de sesquiterpenos de espécies do gênero *Lychnophora* (Asteraceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 1994.

CICERO, S. M.; JUNIOR, H. L. B. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2003.

COILE, N. C.; JONES JR., S. B. *Lychnophora* (Compositae: Vernoniaeae), a genus endemic to the Brazilian planalto. **Brittonia**, New York, v. 33, n. 4, p. 528-542, 1981.

CONDÉ, A. dos R.; GARCIA, J. Armazenamento e embalagens de forrageira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 111, p. 44-49, mar. 1984.

COPELAND, L. O. **Principles of seed science and technology**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1976. 369 p

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 2. ed. New York: Macmillan, 1985. 321 p.

DIAS, B. F. S. Cerrado: uma caracterização. In: INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E RECURSOS NATURAIS/FUNDAÇÃO PRÓ-NATURA. **Alternativas de desenvolvimento dos cerrados: manejo e conservação dos recursos renováveis**. Brasília, 1992. p. 11-34.

EITEN, G. Delimitação do conceito de cerrado. **Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro v. 21, p. 125-134, 1977.

FRANZ, C. Actual problems on the quality of medicinal e aromatic plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 188, p. 21-31, 1986.

GIULIETTI, A. M.; MENEZES, N. L.; PIRANI, J. R.; MEGURO, M.; WANDERLEY, M. G. L. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 9, p. 1-151, 1987.

HARRINGTON, J. F. Drying, storage and packaging: present status and future needs. In: SHORT COURSE FOR SEEDSMEN, 14., 1971, Mississippi. **Proceedings...** Mississippi: Mississippi State University, 1971. p. 133-139.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 21, p 1993. Supplement.

KOZLOWSKI, T. T. **Seed biology – germination control, metabolism and pathology**. New York: Academic Press, 1972. 447 p.

LEITÃO FILHO, H.; SEMIR, J. Uma nova combinação para o gênero *Vernonia*. Schreb. (Compositae): *Vernonia damazoi* (Beauverd.). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 113-116, dez. 1979.

MACHADO, C. F. **Metodologia para condução do teste de germinação e utilização de raios-x para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.)**. 2002. 51 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MARQUES, F. C. Análise da qualidade de sementes e do crescimento inicial de marcela, *Achyrocline satureoides* Lam. D. C. (Asteraceae). In: MING, L. C. (Coord.). **Plantas Medicinais aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v. 1, p. 43-69.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. New York: Pergamon-Press, 1989. 210 p.

OBANDO FLOR, E. P. **Danos internos de secagem avaliados pelo teste de raios-X e seus efeitos na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) armazenadas**. 2000. 62 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. C. de. **Calagem e adubações orgânica e mineral no crescimento de mudas e no teor e rendimento de óleo essencial da arnica [*Lychnophora pinaster* (Mart)]**. 2004. 55 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, L. M. de. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-X**. 2000. 111 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PALEVICHT, D. Recent advances in cultivation of medicinal plants. **Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 208, p. 29-35, 1987.

PELEGRINI, M. F. Armazenamento de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 9, n. 91, p. 56-60, 1982.

PEREIRA, M. L.; ZANON, A.; SHEFFER, M. C. Germinação de sementes de guaco-*Mikania glomerata* Spreng. (Asteraceae). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 104, 1995. (Resumo).

PINHEIRO, R. C. **Abordagem fitoquímica, rendimento do óleo essencial de *Lychnophora pinaster* Mart. utilizando dois métodos de secagem.** 2002. 41 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** 2. ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289 p.

RIZZO, J. A. Bancos de dados-Plantas medicinais e tóxicas. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 32., 1981, Terezina. **Anais...** Terezina: SBB, 1981. p. 319-322.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. de. **Plantas medicinais no domínio dos cerrados.** Lavras: UFLA, 2001. 180 p.

SAÚDE, D. A.; RASLAN, D. S.; OLIVEIRA, A. B. Testes de atividade antitumoral e anti-HIV de lactonas sesquiterpênicas de *Lychnophora trichocarpha* Spreng. (Asteraceae). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 13., 1994, Fortaleza. **Resumo de temas livres.** Fortaleza, 1994.

SEMIR, J. **Revisão taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernoniaceae: Compositae).** 1991. 515 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade de Campinas, Campinas.

SILVA, L. M. da. **Superação de dormência de diasporos de cajazeira (*Spondias monbin* L.).** 2003. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, S. M. P. da. **Aspectos da fenologia e da reprodução sexuada da arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) – Asteraceae.** 1994. 45 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Landskrona, v. 39, n. 3/4, p. 458-468, 1953.

SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL. **Centuria Plantarum Brasiliensium exstintionis minitata**. Brasília, 1992. 167 p.

SOUZA, A. V. de. **Propagação in vitro e aspectos anatômicos de arnica (*Lychnophora pinater*) Mart.** 2003. 127 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIEIRA, A. R. **Aplicação do GA₃ na superação da dormência e na atividade da α -amilase em sementes de arroz e alterações fisiológicas no armazenamento.** 2000. 117 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TOLEDO, F. F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes** – tecnologia de produção. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1977. 244 p.

TONETTI, O. A. O. **Melhoria da qualidade física e estudo da germinação de sementes de candeia (*Eremanthus incanus* (Less)Less e *Eremanthus erythropapus* (DC). Mac Leish).** 2004. 81 p. Dissertação (Mestrado em Florestas de Produção)- Universidade Federal de Lavras, MG.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA TEMPERATURA E DA LUZ SOBRE A GERMINAÇÃO DE AQUÊNIOS DE ARNICA (*Lychnophora pinaster* Mart.) EM DOIS ESTÁDIOS DE COLETA

1 RESUMO

MELO, Paulo Régis Bandeira de. Efeito da temperatura e da luz sobre a germinação de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) em dois estádios de coleta. **In:_____Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação.** 2005. p. 22-38. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)– Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) é considerada uma espécie medicinal, endêmica, ameaçada de extinção e pertencente à família Asteraceae. A frutificação dos aquênios ocorre de maneira desuniforme na planta, formando capítulos de subcapítulos, sendo que a presença do papus é uma característica básica do gênero. Nesse contexto, uma melhor compreensão da sua reprodução sexuada é fundamental para garantir sua perpetuação e conseqüente preservação. Este trabalho teve como objetivo verificar a influência da temperatura e da luz no processo germinativo dos aquênios de arnica. Foram utilizados aquênios provenientes do município de Itumirim, MG, coletados em dezembro de 2003 em dois estádios de maturação, em função da presença ou ausência de papus interno. Os aquênios foram submetidos à secagem, pré-limpeza e separados com auxílio de soprador vertical. O teste de germinação foi conduzido em mesa de termogradiente regulada nas temperaturas 15°C, 20°C, 25°C e 30°C ± 2°C, sob luz contínua e BOD ajustada à temperatura 20-30°C com fotoperíodo de 12 horas. Foram utilizadas 4 repetições de 100 aquênios para cada tratamento, dispostos em gerbox, tendo como substrato papel mata-borrão. Foi utilizado papel alumínio para envolver os gerbox e simular a condição sem luz. As avaliações da velocidade e porcentagem de germinação foram realizadas em dias

* Comitê Orientador: João Almir de Oliveira – UFLA (Orientador), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

alternados, por um período total de 60 dias. Com base nos resultados para os aquênios mais maduros, verificou-se que a temperatura alternada 20-30°C propiciou germinação em maior porcentagem e maior velocidade em relação às demais, principalmente na ausência de incidência luminosa. Aquênios de arnica demonstram comportamento tendendo ao fotoblastismo positivo, principalmente sob temperaturas contínuas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: semente, maturação, planta medicinal.

2 ABSTRACT

MELO, Paulo Régis Bandeira de. Effect of the temperature and light on germination of arnica seeds (*Lychnophora pinaster* Mart.) collected at two maturation stages. **In: Germination and storage of arnica seeds (*Lychnophora pinaster* Mart) collected at different maturation stages.** 2005. p. 22-38. Dissertation (Masters Degree in Plant Science)–Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) from the Asteraceae family is a medicinal plant considered as a threatened species. Seeds of *Arnica* ripen unevenly throughout the plant forming capitulum, in which the presence of papus is a basic characteristic of the genus. Therefore, a better understanding of the sexual reproduction is fundamental to guarantee perpetuation and preservation of the species. Therefore, this work had the objective to verify the influence of temperature and light on germination of arnica seeds. *Arnica* seeds were collected in December 2003 in the district of Itumirim, in the State of Minas Gerais-Brazil at two maturation stages considering the presence or absence of internal papus. The seeds were dried, cleaning and separated with vertical blower. The germination test was performed in a thermo gradient table adjusted at temperatures of 15°C, 20°C, 25°C and 30°C ± 2°C, under continuous light and incubator (BOD) adjusted at temperatures of 20-30°C with photoperiod of 12 hours. Four repetitions of 100 seeds were used for each treatment, placed in gerbox in a towel paper. Aluminum foil was used to involve the gerbox to simulate the absence of light. Evaluations of germination speed and germination percentage were performed in alternate days by a total period of 60 days. The results showed that mature seeds had higher germination percentage and higher germination speed at alternate temperature 20-30°C than the others, mainly in the absence of light. *Arnica* seeds showed behavior tending to photoblastic positive mainly under continuous temperatures.

INDEX TERMS: seed, maturation, medicinal plant.

* Guidance Committee: João Almir de Oliveira – UFLA (Supervisor), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

A arnica é uma espécie que apresenta propriedades medicinais, pertence à família Asteraceae e possui hábito de crescimento arbustivo. Sua ocorrência é restrita a campos rupestres, que constituem-se de afloramento de rochas, entre 800 a 2000m de altitude, sendo considerada endêmica.

Entretanto, a arnica encontra-se com a sua perpetuação ameaçada nos dias atuais, pois o constante extrativismo, associado à queimadas constantes, tem levado a espécie a enquadrar-se na categoria de plantas vulneráveis (Sociedade Botânica do Brasil, 1992). Nesse sentido, como parte integrante de estratégia para futura domesticação da espécie, o estudo da propagação sexuada apresenta-se com especial importância, pois, além de ser o processo natural de reprodução e ser considerada economicamente viável, essa é a forma de manter a variabilidade genética das populações em seu estado selvagem.

A germinação é um processo biológico, regulado por vários fatores, ocorrendo numa sucessão de eventos fisiológicos. A luz e a temperatura são fatores que influenciam de maneiras distintas a germinação, tendo significado expressivo na evolução e adaptação ecológica das espécies. A exigência à luz relaciona-se normalmente à espécies cuja colonização ocorre em áreas abertas (Bryant, 1989). Em relação à temperatura, existe uma faixa de maior eficiência, ou seja, em que ocorre a máxima germinação no menor período de tempo (Popinigis, 1985; Bewley & Black, 1994; Carvalho & Nakagawa, 2000). Em algumas espécies, a alternância de temperatura está associada à quebra da dormência, necessária para desencadear o processo germinativo.

Diante do exposto, este capítulo teve como objetivo verificar as exigências de temperatura e luz, demandadas pelos aquênios de arnica visando,

dessa forma, contribuir com informações referentes ao comportamento germinativo da espécie.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LAS) e no Laboratório de Análise de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras, no período de 2003 a 2004.

4.1 Coleta dos aquênios

A coleta dos aquênios foi realizada no município de Itumirim, MG, no mês de dezembro de 2003, sendo efetuada em plantas adultas com tamanho superior a um metro de altura. Os capítulos foram cortados com tesoura, em diversas posições nas plantas, e acondicionados em sacos plásticos com capacidade para 20 litros.

Foram realizadas quatro coletas em dias distintos, sendo as duas primeiras referentes ao estádio cujo papus interno, estrutura de dispersão, apresentava-se aderido aos aquênios presentes nos capítulos (Estádio 1). As coletas subsequentes referiram-se ao estádio em que não havia mais a presença de papus interno, sendo que os aquênios já encontravam-se em dispersão (Estádio 2). As Figuras 1 e 2 ilustram os estádios mencionados.

Após separação manual de aquênios dos capítulos, de uma pequena amostra, foi determinada a umidade no momento da coleta.

4.2 Determinação do grau de umidade

A umidade dos aquênios foi determinada pelo método de estufa à 105°C, durante 24 horas, conforme as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foram utilizadas duas amostras de um grama para cada um dos estádios, e os resultados foram expressos em porcentagem.



FIGURA 1 Caracterização do estágio 1: A) Capítulos com papus interno presente B) Aquênios agrupados, com papus interno aderido, formando subcapítulo C) Aquênio com papus interno aderido. UFLA, Lavras, MG, 2005.



FIGURA 2 Caracterização do estágio 2: A) Capítulos com aquênios sem o papus interno, já em dispersão B) Aquênios agrupados, sem papus interno aderido, formando subcapítulo C) Aquênio sem papus interno aderido. UFLA, Lavras, MG, 2005.

4.3 Secagem

Subseqüente à coleta, os capítulos foram submetidos à secagem em estufa de circulação de ar forçado, com temperatura variando de 25°C a 30°C por 72 horas, até a umidade aproximada de 10%. Após a secagem, os capítulos foram debulhados e, juntamente com os aquênios eventualmente desprendidos, foram submetidos ao beneficiamento.

4.4 Beneficiamento

Os capítulos foram debulhados manualmente e posteriormente passaram por um processo de pré-limpeza utilizando-se um protótipo da máquina de ar e peneira para retirada das impurezas. Foi efetuado repasse para retirada do excesso do material indesejável. O peso do material obtido foi de 1.036,78g para o estádio 1 e 707,40g para o estádio 2. Logo em seguida, utilizando um soprador vertical modelo South Dakota, marca De Leo, foi realizado o beneficiamento dos aquênios utilizando-se a abertura 3,75 com repasse, no tempo de 2' e 40", tendo o mecanismo de ventilação desacionado automaticamente após esse período. O peso final de aquênios apurados foi de 134,32g para o estádio 1, correspondendo a 13%, e 98,18g para o estádio 2, ou seja, 13,9%.

Foi utilizada a técnica de raios X para se verificar a porcentagem de aquênios efetivamente cheios nos lotes após o beneficiamento. A potência e o tempo adotados, que permitiram melhor visualização e distinção dos aquênios, foram obtidos em pré-testes. Os aquênios foram dispostos sobre fita adesiva transparente de dupla face, aderida a uma placa de acrílico transparente, com dimensões 24 x 18cm e espessura de 2mm. Após montagem, a placa com os aquênios foi sobreposta ao filme radiográfico Kodak, Min-R 2000, tamanho 18x24 cm e submetida à radiação de 30 Kv, por 45 segundos, em equipamento de raio-X Faxitron HP, modelo 43855A X. Os filmes radiográficos foram

revelados e analisados visualmente sobre transiluminador. Foram utilizadas 4 repetições de 50 aquênios.

4.5 Teste de germinação

Os aquênios foram dispostos sobre substrato de papel mata-borrão, com umidade de 2,5 vezes o peso do papel seco e acondicionados em caixas acrílicas do tipo “gerbox”. Foi utilizado papel alumínio para envolver os gerbox e simular a condição sem luz. O teste foi conduzido em mesa de termogradiante, tendo as temperaturas reguladas a 15°C, 20°C, 25°C e 30°C \pm 2°C, sob luz contínua e BOD regulada à temperatura alternada 20-30°C com fotoperíodo de 12 horas associado à temperatura mais elevada. Foram utilizadas 4 repetições de 100 aquênios para cada tratamento.

Foi adotado o critério de protrusão radicular para o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962). As avaliações foram realizadas em dias alternados. Para o teste de germinação adotou-se a porcentagem de plântulas normais, sendo as mesmas computadas e eliminadas periodicamente até 60 dias após a semeadura. A avaliação da germinação, no tratamento sem luz, foi realizada em ambiente reservado sob luz verde.

4.6 Procedimento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2x2 (5 temperaturas x 2 estádios x 2 luminosidades). Para aproximação da curva normal, seguindo recomendações de Banzatto & Kronka (1995), os dados do teste de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, submetidos à análise de variância e analisados pelo programa estatístico SISVAR. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se, na Tabela 1A, que para as variáveis germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) houve interação entre temperatura e estágio de maturação. Foi também observada interação entre temperatura e luz para a germinação. Nota-se ainda que, para o IVG, houve diferença em relação à incidência de luminosidade.

O grau de umidade, por ocasião da coleta dos aquênios, foi de 30% para o estágio 1 e 14% para o estágio 2 sendo que, na montagem do teste de germinação, ambos os estádios encontravam-se com grau de umidade próximo a 10%. Para o estágio 1, os aquênios submetidos às temperaturas 30°C e 20-30°C obtiveram germinação superior quando comparadas à temperatura 15°C, porém, não diferindo em relação às temperaturas 20°C e 25°C (Tabela 1).

TABELA 1 Resultados médios de germinação (%) de aquênios de arnica em dois estádios de maturação submetidos a cinco temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Temperatura	Estádio	
	1	2
15	0,75B a	2,13 Ba
20	1,25 BAa	2,13 Ba
25	1,75 BAa	2,38 Ba
30	3,50 Aa	3,00 Ba
20-30	2,63 Ab	7,88 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical e minúsculas na horizontal, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Analisando-se a temperatura dentro do estágio 2, aquênios mais maduros, ficou evidenciado que a temperatura 20-30°C destacou-se em relação às demais. Esse fato é ratificado quando observa-se o índice de velocidade de germinação (IVG) na Tabela 2. Contudo, no estágio 1, não ocorreu distinção no IVG para as diferentes temperaturas. Seguindo o comportamento apresentado na Tabela 1, nota-se que houve diferença entre os estádios apenas na temperatura 20-30°C.

Os aquênios maduros responderam ao estímulo promovido pela alternância de temperatura mais prontamente que os aquênios imaturos. Isso talvez seja um indício de que, uma vez estando maduros, e tendo os fatores externos apropriados, dentre os quais a disponibilidade de água, a germinação dos aquênios poderá ser desencadeada mais rapidamente e em maior número, ocorrendo ao longo do tempo devido a uma possível dormência.

TABELA 2 Resultados médios do índice de velocidade de germinação (IVG) de aquênios de arnica em dois estádios de maturação submetidos a cinco temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Temperatura	Estádio	
	1	2
15	0,0151 Aa	0,0512 Ba
20	0,0320 Aa	0,0568 Ba
25	0,0899 Aa	0,0571 Ba
30	0,1009 Aa	0,0922 Ba
20-30	0,0626 Ab	0,2178 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical e minúsculas na horizontal, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Foi notada desuniformidade dos dados de germinação entre as repetições e tratamentos. Dessa forma, o coeficiente de variação elevado (Tabela 1A), sobretudo para a germinação, poderia ser explicado em função dos aquênios não terem atingido uniformemente a maturidade fisiológica e pelo fato de, possivelmente, haver distintos graus de dormência entre os aquênios. Este fato é constatado pela desuniformidade no florescimento e maturação dos aquênios num mesmo indivíduo, conforme demonstrado na Figura 2. Carvalho & Nakagawa (2000) comentam que o fenômeno de dormência pode influenciar no teste de germinação, dificultando sobremaneira sua avaliação. Ainda em relação à baixa germinação encontrada no ensaio, é importante ressaltar que, pela radiografia obtida anteriormente à realização do teste de germinação, apenas 38,5% de aquênios do estágio 1 e 42% para o estágio 2 apresentavam-se, de fato, cheios. Esses dados auxiliam na interpretação da real germinação ocorrida. Assim, na Tabela 1, por exemplo, a germinação para os aquênios do estágio 2 na temperatura 20-30°C, independentemente da incidência de luz, no período de 60 dias de avaliação, seria de 18,76%, e não 7,88%, se considerados somente os 42% de aquênios cheios verificados pelo teste de raios X.

Analisando-se os dados de germinação na Tabela 3, observa-se que a temperatura 20-30°C se destacou em relação às demais, na ausência de luz. Entretanto, na presença da luz, nota-se um comportamento de incremento na germinação em função do crescente aumento da temperatura. A incidência da luz para promoção da germinação foi relevante em todas as temperaturas, exceto para a 20-30°C, que mostrou-se menos sensível à mesma. Assim, constata-se que a luz teve um papel indutor e ou catalizador na germinação dos aquênios em temperaturas contínuas, porém, quando alternada, os aquênios passaram a ser menos responsivos. Percebe-se que a alternância de temperatura pode estar substituindo ou até contribuindo para o processo de quebra da dormência e aceleração da germinação.

TABELA 3 Resultados médios de germinação (%) de aquênios de arnica, com e sem incidência luminosa, submetidos a cinco temperaturas. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Temperatura	Luz	
	S/Luz	C/Luz
15	0,13 Bb	2,75 C a
20	0,50 Bb	2,88 CB a
25	0,13 Bb	4,00 CBAa
30	0,38 Bb	6,13 BAa
20-30	4,38 Aa	6,13 Aa

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical e minúsculas na horizontal, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Existem espécies nas quais os efeitos da luz e da variação de temperatura são somatórios (Bryant, 1989). Nesse caso, os efeitos dos mecanismos de quebra de dormência, para indução da germinação, não devem ser analisados isoladamente.

Fica evidenciado que a incidência da luz promoveu, de fato, uma germinação mais rápida e acentuada, pois, dentre outros, os dados médios do IVG, sem luz (0,0356) e com luz (0,1195), diferiram entre si, conforme demonstrado pelo teste F a 5% de probabilidade, Tabela 1A. Portanto, aquênios de arnica apresentam um comportamento tendendo ao fotoblastismo positivo. É importante ressaltar que a luminosidade utilizada na simulação da condição natural de campo foi um fotoperíodo de 12 horas. De acordo com Guimarães (1999), a promoção da germinação demanda, em geral, baixa quantidade de luz e, em alguns casos, apenas uma irradiação vermelha de curta duração, contínua ou intermitente é requerida. Nesse contexto, considera-se que o menor período de exposição dos aquênios à luz, na temperatura 20-30°C, em relação às demais

temperaturas contínuas, não influenciou na resposta do fitocromo à promoção da germinação.

Silva (1994), estudando a germinação de aquênios de arnica, apontou a temperatura 20-30°C como a melhor para promover a germinação em laboratório, quando se incidia luminosidade constante. Dessa forma, valendo-se da separação por densidade (Hammerton et al., 1989), foi possível obter 79,18% de germinação para aquênios de arnica, avaliados no período de 63 dias, dispostos em gerbox entre papel mata-borrão.

Aquênios de arnica apresentam germinação do tipo epígea, conforme observa-se na Figura 3. Em relação à adaptação ecológica no hábitat de ocorrência natural, é provável que a sensibilidade à luz e à temperatura alternada, demonstrada pelos aquênios, esteja relacionada à intensa insolação e à amplitude térmica comum nos campos rupestres.

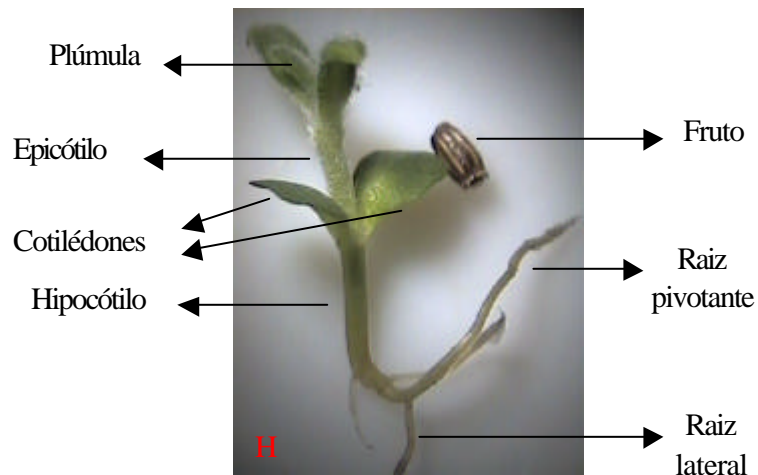
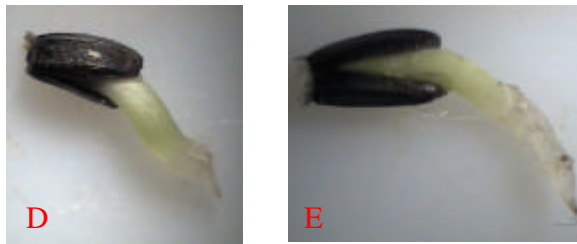
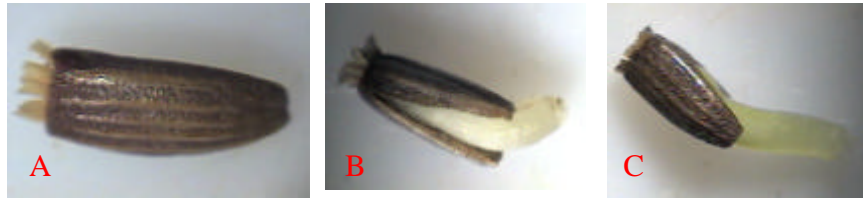


FIGURA 3 Evolução do processo germinativo de aquênio de *Lychnophora pinaster*, até a formação da plântula. UFLA, Lavras, MG, 2005.

6 CONCLUSÕES

O efeito da temperatura na germinação de aquênios de arnica varia em função do estágio de coleta. Aquênios maduros germinam a uma maior velocidade e taxa sob temperatura alternada 20-30°C.

Aquênios de arnica respondem à incidência de luz, apresentando tendência ao fotoblastismo positivo, principalmente sob temperaturas contínuas.

Na ausência de incidência luminosa, sob temperatura 20-30°C, a germinação é maior, independente do estágio de maturação, evidenciando-se, assim, a contribuição da alternância de temperatura para a quebra de dormência de aquênios de arnica.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: Funep, 1995. 247 p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Ambiental, 1992. 365 p.
- BRYANT, J. A. **Fisiologia da Semente**. São Paulo: EPU, 1989. 86 p.
- CARVALHO, N. M.; NACAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 79 p.
- HAMMERTON, R. D.; SMITH, M. T.; VAN STANDEN, J. Factors influencing seed variability and germination in *Hypoxis hemerocallidea* Fisch & Meyer. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 17, p. 613-624, 1989.
- MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar/Apr. 1962.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289 p.
- SILVA, S. M. P. da. **Aspectos da fenologia e da reprodução sexuada da arnica (Lychnophora pinaster Mart.) – Asteraceae**. 1994. 45 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL. **Centuria Plantarum Brasiliensium extinctionis minitata**. Brasília, 1992. 167 p.

CAPÍTULO 3

APLICAÇÃO DO TESTE DE RAIOS X NO ESTUDO DA MORFOLOGIA INTERNA DE AQUÊNIOS DE ARNICA (*Lychnophora pinaster* Mart.).

1 RESUMO

MELO, Paulo Régis Bandeira de. Aplicação do teste de raios X no estudo da morfologia interna de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.). **In:_____Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação.** 2005. p. 39-58. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O teste de raios X vem sendo empregado em programas de qualidade e como auxílio nos estudos morfológicos e fisiológicos das sementes de diversas espécies. A arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) é uma espécie considerada medicinal que apresenta um número elevado de aquênios cheios ou mal formados por ocasião da frutificação. Assim, o presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito do estágio de coleta de aquênios de arnica na qualidade fisiológica das sementes, utilizando-se o teste de raios X como ferramenta para determinar a qualidade dos aquênios. Os aquênios utilizados foram coletados no mês de dezembro de 2003, provenientes de uma população do município de Itumirim, MG. Na coleta, foram considerados os capítulos cujos aquênios apresentavam os papus internos aderidos, estágio menos maduro e com papus interno ausente, aquênios mais maduros já em dispersão. Após a coleta, os aquênios foram submetidos à secagem, pré-limpeza e separados com auxílio de um soprador vertical. Os aquênios foram dispostos em placa de acrílico transparente sobre fita adesiva de dupla face, radiografados e separados em três categorias, de acordo com a morfologia interna visualizada na radiografia: cheios, mal formados e vazios. O tempo e a potência adotados para visualização foi determinado em pré-testes. As 4 repetições de 50 aquênios de

* Comitê Orientador: João Almir de Oliveira – UFLA (Orientador), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

cada categoria, para ambos os estádios de coleta, foram previamente pesadas e os aquênios foram dispostos em papel mata-borrão, sendo acondicionados em gerbox e mantidos por um período de 90 dias numa BOD regulada à temperatura alternada de 20-30°C e fotoperíodo de 12 horas. Foram avaliados o índice de velocidade e a porcentagem final de germinação. Os aquênios remanescentes foram submetidos ao teste de tetrazólio para verificar a viabilidade. O teste de raios X mostrou-se eficiente na separação dos aquênios em categorias, baseadas na sua morfologia interna, tendo a melhor visualização radiográfica sido obtida com regulagem de 30Kv/45segundos. O estádio capítulos com aquênios sem o papus interno, já em dispersão, foi considerada como melhor para a coleta.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: semente, maturação, germinação, planta medicinal.

2 ABSTRACT

MELO, Paulo Régis Bandeira de. Application of the Xray test to study the internal morphology of arnica seeds (*Lychnophora pinaster* Mart.). **In: Germination and storage of arnica seeds (*Lychnophora pinaster* Mart.) collected at different maturation stages**. 2005. p. 39-58. Dissertation (Masters Degree in Plant Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The X-ray test is used in seed quality programs to assist morphological and physiological evaluations. Arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) is considered a medicinal species that has a remarkable number of badly formed seeds at the time of fruit dispersion. Thus, this work had the objective of verify the influence of the maturation stages on the physiological quality of the Arnica seeds through x-ray test as a tool to determine seed quality. The seeds used were collected in December of 2003 from natural population in the district of Itumirim, State of Minas Gerais-Brazil. At seed collection was considered the capitulum in which the seeds showed internal papus united, less mature stage, without internal papus and seeds that were dispersing. After collection the seeds were dried, cleaning and separated with vertical blower. The seeds were disposed in acrylic transparent plates, x-rayed and separated in three categories full, badly formed and empty seeds in agreement with the internal morphology observed on the radiographs. The time and potency used during x-ray test were previously tested. Four repetitions of 50 seeds for each treatment were used. The seeds were placed in gerbox on towel paper and kept for a period of 90 days in an incubator (BOD) adjusted at alternate temperature (20-30°C) and photoperiod of 12 hours. The parameters evaluated were speed of germination and final germination percentage. The remainig of seeds were subjected to tetrazolium test to verify seed viability. The x-ray test showed to be effective for separation of the seeds in categories based on the internal morphology. The radiation of 30Kv for 45 seconds allowed visualization of the internal structures of the seeds. The maturation stage capitulum with seeds without internal papus at the time of dispersion is the best time for seed collection.

INDEX TERMS: seed, maturation, germination, medicinal plant.

* Guidance Committee: João Almir de Oliveira – UFLA (Supervisor), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O teste de raios X, criado por Simak & Gustafsson (1953), vem sendo empregado em programas de qualidade pela ISTA e como auxílio nos estudos morfológicos e fisiológicos para diversas espécies. Trata-se de um teste não destrutivo de fácil e rápida aplicação, cuja radiação emitida não afeta negativamente as sementes.

A qualidade da imagem obtida, permanentemente formada no filme radiográfico, varia em função da espessura, densidade, composição da semente e comprimento de onda que as sementes foram submetidas (Bino et al., 1993), bem como do tempo de exposição das sementes à radiação, medida em quilovoltagem (Kv) e sensibilidade do filme radiográfico (ISTA, 1993).

Conforme Semir (1991), aquênios de arnica encontram-se em subcapítulos de capítulos, apresentando papus internos e externos como estrutura de dispersão. Silva (1994), estudando a fenologia da arnica, separou a frutificação em três fases distintas: após antese e simultaneamente à senescência das flores, aquênios com papus interno presente e aquênios com papus interno ausente, já em dispersão.

Devido às variações ambientais e à dificuldade de mensuração, em dias, para a sucessão de eventos relacionados às fases fenológicas, como florescimento e frutificação, a maturidade fisiológica pode apresentar inconvenientes para a sua determinação. Assim, urge a necessidade da associação de caracteres morfológicos, de fácil observação, visando uma definição precisa desta maturidade e, conseqüentemente, da viabilidade.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo verificar o efeito do estágio de coleta de aquênios de arnica na qualidade fisiológica das sementes e o

teste de raios X como ferramenta para determinar a qualidade de aquênios de arnica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Análise de Sementes Florestais do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras, no período de 2003 a 2004.

4.1 Coleta dos aquênios

A coleta dos aquênios foi realizada no município de Itumirim, MG, no mês de dezembro de 2003, sendo efetuada em plantas adultas com tamanho superior a um metro de altura. Os capítulos foram cortados com tesoura, em diversas posições nas plantas, e acondicionados em sacos plásticos com capacidade para 20 litros.

Foram realizadas quatro coletas em dias distintos, sendo as duas primeiras referentes ao estádio cujo papus interno, estrutura de dispersão, apresentava-se aderido aos aquênios presentes nos capítulos (Estádio 1). As coletas subsequentes referiram-se ao estádio em que não havia mais a presença de papus interno, sendo que os aquênios já encontravam-se em dispersão (Estádio 2).

Após separação manual de aquênios dos capítulos, de uma pequena amostra, foi determinada a umidade no momento da coleta.

4.2 Determinação do grau de umidade

A umidade dos aquênios foi determinada pelo método de estufa à 105°C, durante 24 horas, conforme as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Foram utilizadas duas amostras de um grama para cada um dos estádios e os resultados foram expressos em porcentagem.

4.3 Secagem

Subseqüente à coleta, os capítulos foram submetidos à secagem em estufa de circulação de ar forçado, com temperatura variando de 25°C a 30°C por 72 horas, até a umidade aproximada de 10%. Após a secagem, os capítulos foram debulhados e, juntamente com os aquênios eventualmente desprendidos, foram submetidos ao beneficiamento.

4.4 Beneficiamento

Os capítulos foram debulhados manualmente e posteriormente passaram por um processo de pré-limpeza utilizando-se um protótipo da máquina de ar e peneira para retirada das impurezas. Foi efetuado repasse para retirada do excesso do material indesejável. O peso do material obtido foi de 1.036,78g para o estádio 1 e 707,40g para o estádio 2. Logo em seguida, utilizando um soprador vertical modelo South Dakota, marca De Leo, foi realizado o beneficiamento dos aquênios utilizando-se a abertura 3,75 com repasse, no tempo de 2' e 40", tendo o mecanismo de ventilação desacionado automaticamente após esse período. O peso final de aquênios apurados foi de 134,32g para o estádio 1, correspondendo a 13%, e 98,18g para o estádio 2, ou seja, 13,9%. Os aquênios obtidos foram utilizados nas determinações subseqüentes.

4.5 Teste de raios X

4.5.1 Adequação da técnica

Os aquênios foram dispostos sobre fita adesiva transparente de dupla face, aderida a uma placa de acrílico transparente, com dimensões 24 x 18cm e espessura de 2mm. Após montagem, a placa com os aquênios foi sobreposta ao filme radiográfico Kodak, Min-R 2000, tamanho 18x24 cm e submetida à radiação em equipamento de raio-X Faxitron HP, modelo 43855A X. Os filmes

radiográficos foram revelados e analisados visualmente sobre transiluminador. Foram avaliadas, em testes preliminares, imagens radiográficas de aquênios submetidos à potência de 25, 30, 35 e 50 Kv por 30, 45, 60 e 90 segundos de exposição.

4.5.2 Separação das categorias

Os aquênios foram separados em três categorias de acordo com a morfologia interna visualizada nas radiografias: aquênios cheios (semente ocupando totalmente a cavidade do aquênio), aquênios mal formados (apresentando estrutura rudimentar de semente no interior do aquênio) e aquênios vazios (ausência de semente no aquênio) de acordo com a ISTA (1993). Para ambos os estádios, após radiografadas e separadas por categorias, cada uma das 4 repetições, contendo 50 aquênios, foram pesadas em balança digital, com quatro casas decimais.

4.6 Teste de germinação

Os aquênios, após separados em três categorias, foram semeados sobre duas folhas de papel mata-borrão, previamente umedecidos com água destilada, com uma quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, acondicionados em caixas acrílicas do tipo “gerbox” e mantidas em BOD, à temperatura alternada de 20-30°C e iluminação de 12 horas associada à temperatura mais elevada. Foram utilizadas 4 repetições de 50 aquênios para cada tratamento.

Foi adotado o critério de protrusão radicular para o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962). As avaliações foram realizadas em dias alternados. Para o teste de germinação adotou-se a porcentagem de plântulas normais, sendo as mesmas computadas e eliminadas periodicamente até 90 dias após a semeadura.

Após decorrido o período do teste de germinação, foram retirados os aquênios remanescentes de cada gerbox, sendo os mesmos seccionados transversalmente com o auxílio de uma lâmina e imersos em solução de sal de tetrazólio (2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio) a 0,5%, por 24 horas, a 30°C. Após esse período e desenvolvida a coloração, os aquênios foram lavados em água corrente e examinados individualmente sob microscópio estereoscópico para a determinação da viabilidade.

4.7 Procedimento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 aquênios por tratamento, em esquema fatorial 2x3 (2 estádios x 3 categorias). Os dados obtidos no teste de germinação foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, conforme proposto por Banzatto & Kronka (1995), submetidos à análise de variância e analisados pelo programa estatístico SISVAR. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se a germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) (Tabela 1B), nota-se que houve interação entre estádios de maturação e as diferentes categorias (cheios, mal formados e vazios). Já em relação ao peso, foi observada diferença para estádios e categorias, isoladamente.

A potência e o tempo adotados, que permitiram melhor visualização e distinção dos aquênios, foram obtidos na regulagem 30Kv de potência e tempo de exposição de 45 segundos, sendo determinados em pré-testes. Na Figura 1, observa-se uma radiografia de aquênios de arnica, submetidos a 30Kv/45 segundos, ilustrando as três categorias: cheios, mal formados e vazios.

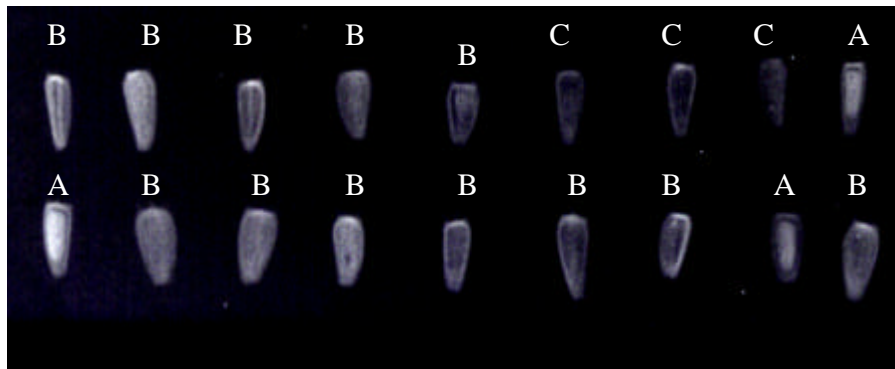


FIGURA 1 Radiografia de aquênios de *Lychnophora pinaster*: A) Aquênios cheios; B) Aquênios mal formados e C) Aquênios vazios. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Os aquênios de arnica utilizados neste trabalho encontravam-se com umidade aproximada de 10%, por ocasião da montagem do teste de germinação. Os aquênios da categoria cheios, para ambos os estádios, apresentaram germinação superior às categorias mal formados e vazios, de 16,0% e 40,5%

para o estágio 1 e 2 respectivamente (Tabela 1). Em relação ao vigor, representado pelo índice de velocidade de germinação (IVG), este seguiu a mesma tendência, ou seja, a categoria de aquênios cheios se destacou quando comparada às categorias mal formados e vazios, tanto para o estágio 1 quanto para o estágio 2. Quando foram analisados os aquênios remanescentes no teste de germinação, com auxílio do tetrazólio, notou-se que a categoria cheios possuía um número de aquênios que, embora não tivessem germinado, apresentavam-se ainda com viabilidade de 36,5% para o estágio 1 e 21% para o estágio 2. Na categoria mal formados, o estágio 1 apresentou 3,0% de germinação e o estágio 2 não apresentou germinação, sendo que, para os aquênios remanescentes, apenas 1,5% dos aquênios do estágio 1 e 0,5% do estágio 2 mostraram-se viáveis após a utilização do tetrazólio. Conforme esperado, os aquênios classificados como vazios não apresentaram viabilidade após 90 dias pelo teste de germinação, o que também foi comprovado pelo tetrazólio ao final do teste de germinação. Esses resultados demonstram a eficiência do teste de raios X no sentido de identificação de aquênios com maior probabilidade de germinação.

A baixa qualidade fisiológica dos aquênios, nos dois estágios de maturação, fica evidenciada quando observa-se que apenas 52,5% das sementes poderiam protrundir no estágio 1 e 61,5% para o estágio 2.

Quando analisa-se apenas a categoria dos aquênios cheios, fica evidente que a germinação e o vigor dos aquênios no estágio 2 foram superiores em relação aos aquênios do estágio 1, tendo, inclusive, suas respectivas médias diferidas entre si. Infere-se, dessa forma, que o grau de maturação do embrião, dos aquênios coletados no estágio 1, poderia estar incipiente quando comparado ao estágio 2 já em dispersão, refletindo, assim, os menores valores obtidos.

TABELA 1 Resultados médios de germinação (%) e índice de velocidade de germinação (IVG) de aquênios de arnica coletados em dois estádios de maturação e separados em três categorias de acordo com análise radiográfica. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Avaliação	Estádio	Categorias		
		Cheios	Mal formados	Vazios
Germinação	1	16,0Ba	3,0Ab	0Ab
	2	40,5Aa	0Ab	0Ab
IVG	1	0,2262Ba	0,0310Ab	0,0000Ab
	2	0,5390Aa	0,0000Ab	0,0000Ab

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na vertical e minúsculas na horizontal, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A disponibilidade de água no solo, para a planta, na fase de acúmulo de matéria seca, também é fundamental, pois a escassez, nesse período, pode ocasionar sementes de menor viabilidade ou até mesmo chochas (Carvalho & Nakagawa, 2000). Assim, as oscilações ambientais podem interferir na formação e maturação dos aquênios de arnica, provocando um grande número de aquênios chochos ou mal formados.

Embora a germinação e o vigor tenham sido superiores para a categoria dos aquênios cheios em relação a mal formados e vazios, para ambos os estádios, observa-se, na Figura 2, que os aquênios mal formados possuem o mesmo peso que os cheios. É importante ressaltar o reduzido coeficiente de variação da variável peso (Tabela 1B). Assim, fica evidenciado que, por peso, não separam-se aquênios com maior germinação.

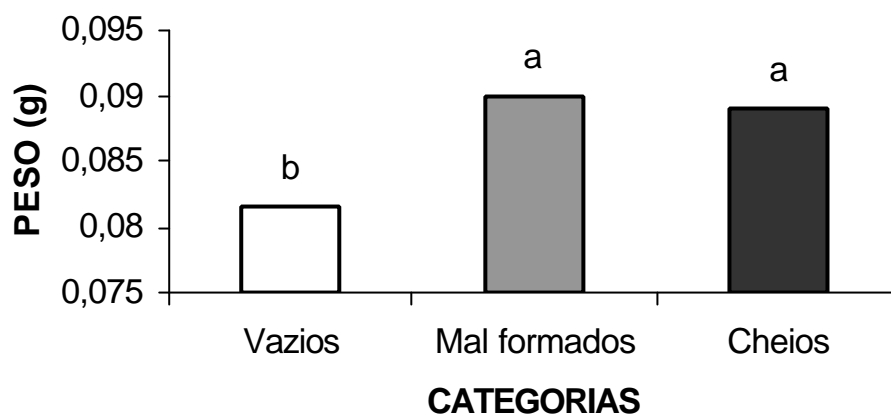


FIGURA 2 Resultados médios em peso (g) de 50 aquênios de arnica para cada categoria. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Com esse fato, pode-se inferir que a utilização do soprador, de maneira isolada, não apresenta-se como método eficiente para o beneficiamento dos aquênios de arnica, provavelmente pela pequena contribuição do peso da semente em relação ao peso total do aquênio.

Já Silva (1994), utilizando um método de separação por densidade proposto por Hammerton et al. (1989), conseguiu separar os aquênios chochos e mal formados dos aquênios cheios, obtendo, assim, alta germinação. Também, desenvolvendo um protocolo para a propagação assexuada da arnica via cultura de tecidos, utilizando-se o embrião extraído dos aquênios, Souza (2003) obteve sucesso utilizando o mesmo princípio de separação.

Pelo teste F, a 5% de probabilidade (Tabela 1B), houve distinção de peso entre os dois estádios de coleta, tendo os aquênios do estádio 2 (0,0879g) apresentado maior peso médio em relação aos do estádio 1 (0,0858g). Para determinadas espécies, quando a semente atinge o máximo de matéria seca, esta

apresenta o máximo de germinação e vigor, sendo este considerado o ponto de maturidade fisiológica (Popinigis, 1985). Dentre outros fatores, é possível que os aquênios no estágio 2 tenham se apresentado com mais matéria seca que os aquênios no estágio 1 por ocasião da coleta, refletindo, assim, numa maior germinação e vigor. Desta forma, aquênios sem o papus interno, já em dispersão, pode ser considerada como a melhor época de coleta para aquênios de arnica, embora já estivessem com 14% de umidade e, provavelmente, em equilíbrio higroscópico com o ambiente.

Guimarães (1999) comenta que o teor de água oscilando na faixa entre 30% e 50%, a semente, de espécies consideradas ortodoxas, teria alcançado o máximo de matéria seca e, para efeitos práticos, poderia ser considerada desligada da planta-mãe. No entanto, para a espécie em estudo, com a umidade de coleta aproximada de 30%, no estágio 1, os aquênios provavelmente ainda não tinham adquirido a maturidade fisiológica. Embora não se possa afirmar com exatidão o momento da abscisão, é provável que os aquênios, no estágio 1, ainda estivessem recebendo produtos de reserva em função do maior peso apresentado pelo estágio 2, não caracterizando, portanto, desprendimento da planta progenitora neste estágio.

Uma característica importante observada foi a não detecção de deiscência nos aquênios de arnica, ou seja, o aquênio não se abriu durante a dispersão, sendo considerado, dessa forma, indeiscente. De acordo com Carvalho & Nakagawa (2000), em algumas espécies, as sementes adquirem a capacidade de germinação somente após um período de tempo relativamente longo. Como, neste ponto, o decréscimo no teor de água já está se processando de modo cada vez mais acentuado, a capacidade de germinação cresce de maneira ininterrupta até um ponto máximo, já que a probabilidade de que as sementes germinem no próprio fruto é bem menor.

Analisando-se a germinação acumulada dos aquênios da categoria cheios, nos dois estádios de maturação (Figura 3), observa-se que a lenta germinação dos aquênios ao longo do tempo induz à presença de algum tipo de mecanismo desenvolvido para a dormência. A germinação das sementes, segundo Carvalho & Nakagawa (2000), é uma característica que pode ser influenciada pelo fenômeno da dormência, tendo sua avaliação dificultada no teste de germinação. Nesse sentido, torna-se importante ressaltar que, em testes preliminares, foi constatada germinação em aquênios do estágio 2, mais maduros, após 9 meses da data de coleta. Os aquênios haviam sido colocados para germinar em temperatura 20-30°C, com fotoperíodo de 12 horas associado a temperatura mais elevada, no mesmo dia da coleta, quando apresentavam em torno de 14,0% de umidade e não haviam sido submetidos à secagem.

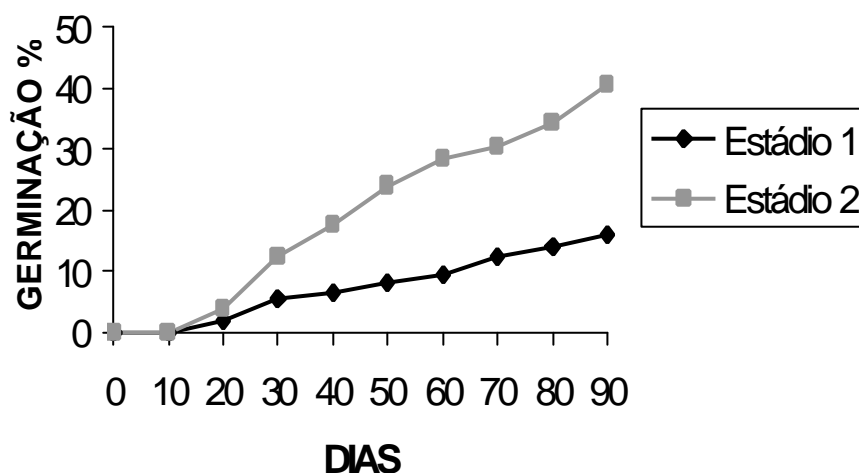


FIGURA 3 Germinação acumulada de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster*), para categoria aquênios cheios, em dois estádios de maturação, no período de 90 dias. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Em espécies não domesticadas, como no caso da arnica, a germinação das sementes no tempo é uma estratégia de perpetuação da espécie para adaptação e tolerância às adversidades ambientais. A desuniformidade no florescimento, e conseqüentemente da maturação dos aquênios, contribui com esse fato. Em espécies da família Asteraceae, a posição dos aquênios nos capítulos ou na planta-mãe, durante o amadurecimento, pode influir no grau de dormência.

É possível que a concentração de algum inibidor, como o ABA, esteja presente em concentrações distintas durante o processo de maturação, influenciando na menor germinação obtida pelos aquênios imaturos, ou até mesmo naqueles mais maduros, quando os aquênios já encontravam-se em dispersão, porém, apresentando dormência. Por outro lado, observando-se o aquênio, nota-se também que o pericarpo possui uma estrutura que pode ocasionar algum impedimento à entrada de água ou oxigênio na semente (Figura 4), inibindo ou retardando a germinação ao longo do tempo.

Em algumas espécies, de acordo com Carvalho & Nakagawa (2000), ao atingir um ponto de maturidade, considerando-se como sendo aquele em que a semente se desprende da planta progenitora, a semente apresenta-se com o embrião apenas parcialmente desenvolvido. Segundo Popinigis (1985), as causas da dormência encontradas nas sementes podem ser atribuídas à impermeabilidade do tegumento à água e às trocas gasosas; à resistência mecânica do tegumento ao crescimento do embrião, à presença de inibidores da germinação e à imaturidade fisiológica do embrião.

Portanto, em se tratando de dormência, vários fatores ou mecanismos podem estar atuando de maneira interligada, ao mesmo tempo ou em eventos subseqüentes. Dessa forma, sugere-se o aprofundamento no estudo da dormência dos aquênios de *Lychnophora pinaster*.



FIGURA 4 Aspecto da semente, aquênio, pericarpo e aquênio germinando.
UFLA, Lavras, MG, 2005.

6 CONCLUSÕES

A exposição de aquênios de arnica aos raios X, na potência de 30 Kv por 45 segundos, permite a separação em categorias de acordo com sua morfologia interna.

A melhor época para a coleta de aquênios de arnica ocorre por ocasião da sua dispersão, com aquênios sem o papus interno presente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: Funep, 1995. 247 p.
- BINO, R. J.; AARTSE, J. W.; VAN DER BURG, W. J. Non-destructive X-ray analysis of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wellington, v. 3, n. 3, p. 167-170, Sept. 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Ambiental, 1992. 365 p.
- CARVALHO, N. M.; NACAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de Sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 79 p.
- HAMMERTON, R. D.; SMITH, M. T.; VAN STANDEN, J. Factors influencing seed variability and germination in *Hypoxis hemerocallidea* Fisch & Meyer. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 17, n. 3, p. 613-624, 1989.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 21, 1993. Supplement.
- MAGUIRRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- OLIVEIRA JÚNIOR, A. C de. **Calagem e adubações orgânica e mineral no crescimento de mudas e no teor e rendimento de óleo essencial da arnica [*Lychnophora pinaster* (Mart)]**. 2004. 55 p. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289 p.

SEMIR, J. **Revisão taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernoniaceae: Compositae)**. 1991. 515 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade de Campinas, Campinas.

SILVA, S. M. P. da. **Aspectos da fenologia e da reprodução sexuada da arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) – Asteraceae**. 1994. 45 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOUZA, A. V. de. **Propagação in vitro e aspectos anatômicos de arnica (*Lychnophora pinaster*) Mart.** 2003. 127 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Landskrona, v. 39, n. 3/4, p. 458-468, 1953.

CAPÍTULO 4

GERMINAÇÃO DE AQUÊNIOS DE ARNICA (*Lychnophora pinaster* Mart.) ARMAZENADOS EM DIFERENTES CONDIÇÕES.

1 RESUMO

MELO, Paulo Régis Bandeira de. Germinação de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart) armazenados em diferentes condições. **In:_____Germinação e armazenamento de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.) coletados em diferentes estádios de maturação.** 2005. p. 59-75. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A antecipação da coleta pode contribuir para redução da rápida deterioração das sementes no campo, preservando, assim, sua qualidade fisiológica. No caso da arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.), a formação dos aquênios ocorre de maneira desuniforme na planta, sendo distribuída ao longo do período de frutificação. Assim, em se tratando de uma espécie medicinal não domesticada, ameaçada de extinção, e tendo seu potencial genético ainda pouco estudado, urge a necessidade de monitoramento do comportamento dos aquênios no armazenamento, visando garantir sua reprodução e conseqüente preservação. Esse trabalho foi conduzido com a finalidade de se verificar o desempenho germinativo de aquênios de arnica coletados em dois estádios de maturação e armazenados em diferentes condições. Os aquênios utilizados foram provenientes do município de Itumirim, MG, tendo a coleta sido realizada em dezembro de 2003, em função das características morfológicas dos capítulos, constituindo, assim, dois estádios de maturação. Após a coleta, os aquênios foram submetidos à secagem, pré-limpeza e separados com auxílio de um soprador vertical. Os aquênios foram acondicionados em dois tipos de embalagens (papel ou plástico) e armazenados em diferentes ambientes (câmara fria a 10°C/50%UR ou ambiente de laboratório), por um período de 6 meses. O teste de germinação foi conduzido em BOD ajustada à temperatura alternada

* Comitê Orientador: João Almir de Oliveira – UFLA (Orientador), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

20-30°C e fotoperíodo de 12 horas. O substrato utilizado foi o papel mata-borrão e os aquênios foram dispostos em caixas plásticas tipo gerbox. Foram utilizadas 4 repetições de 100 aquênios para cada tratamento. A análise sanitária foi efetuada pelo método “Blotter test” com 4 repetições de 50 aquênios por tratamento. As avaliações da umidade, da qualidade fisiológica e sanitária foram realizadas aos 0, 2, 4 e 6 meses. Pelos resultados, verificou-se que não houve diferença entre as quatro condições de armazenamento e, nestas condições, pode-se armazenar aquênios de arnica por um período de seis meses. Houve um aumento da germinação ao longo do período de armazenamento.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: semente, planta medicinal, maturação.

2 ABSTRACT

MELO, Paulo Régis Bandeira de. Seed germination of arnica (*Lychnophora pinaster* Mart) stored at different conditions. **In: Germination and storage of arnica seeds (*Lychnophora pinaster* Mart.) collected at different maturation stages**. 2005. p. 59-75. Dissertation (Masters Degree in Plant Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Advance seed collection may contribute to decrease of fast deterioration of seed preserving its physiological quality. In arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.), seed formation takes place unevenly in the plant being distributed throughout the fructification period. Thus, due to arnica plant show medicinal importance, wild species and under threaten there is a need of studies to monitor the seed quality during storage aiming to guarantee reproduction and perpetuation of the species. This work was performed with the objective of verifying the germinative performance of arnica seeds collected at two maturation stages and stored at different conditions. The seeds used in this study were collected in December 2003 at the district of Itumirim, State of Minas Gerais-Brazil with two maturation stage. After the collection, the seeds were submitted to the dry, cleaned and separate with a vertical blower. The seeds were placed in two types of packing (paper or plastic) and stored in different atmospheres (cold chamber 10°C/50%RH or room temperature), during 6 months. The germination test was performed in incubator (BOD) at alternate temperature (20-30°C) and photoperiod of 12 hours. The substrate used was paper towel and the seeds were placed in gerbox. Four replication of 100 seeds for each treatment were used. The sanitary quality of the seed was performed by "Blotter test" with 4 repetitions of 50 seeds for each treatment. Moisture content, sanitary quality and physiological quality were evaluated during 0, 2, 4 and 6 months. The results showed that there was not difference among the four storage conditions and, in these conditions, arnica seeds can be stored by a period of six months. There was an increase in the germination along the storage period.

INDEX TERMS: seed, medicinal plant, maturation.

* Guidance Committee: João Almir de Oliveira – UFLA (Supervisor), José Eduardo Brasil Pereira Pinto – UFLA e Evaristo Mauro de Castro – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

No caso da arnica, em se tratando de uma espécie não domesticada, inserida na categoria das plantas vulneráveis, conseqüentemente ameaçada de extinção e tendo seu potencial genético ainda pouco estudado, urge a necessidade de estudos a respeito do comportamento dos aquênios no armazenamento, visando garantir sua preservação e perpetuação.

O armazenamento inicia-se no campo, em decorrência das variáveis ambientais, podendo variar em função da espécie, qualidade inicial das sementes e condições às quais foram submetidas. Neste contexto, a antecipação da colheita torna-se relevante para preservar uma boa qualidade fisiológica, evitando-se uma rápida deterioração das sementes no campo e, posteriormente, no armazenamento.

De acordo com Carvalho & Nakagawa (2000), vários autores atribuem à umidade relativa influência direta na respiração das sementes, sendo esse o fator mais importante que afeta o potencial de armazenamento. Dessa forma, para várias espécies, a conservação será melhor com níveis baixos de umidade. Entretanto, existem espécies cuja viabilidade e vigor são perdidos com a desidratação, interferindo sobremaneira no armazenamento em condições secas. Bewley & Black (1985) classificam o primeiro grupo como ortodoxas e recalcitrante as sementes cujo comportamento enquadra-se no segundo grupo.

Portanto, este trabalho teve como objetivo verificar o desempenho germinativo de aquênios de arnica, coletados em dois estádios de maturação e armazenados em diferentes condições.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratórios de Análise de Sementes (LAS), de Patologia de Sementes (LPS) e de Análise de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras, no período de 2003 a 2004.

4.1 Coleta dos aquênios

A coleta dos aquênios foi realizada no município de Itumirim, MG, no mês de dezembro de 2003, sendo efetuada em plantas adultas com tamanho superior a um metro de altura. Os capítulos foram cortados com tesoura, em diversas posições nas plantas, e acondicionados em sacos plásticos com capacidade para 20 litros.

Foram realizadas quatro coletas em dias distintos, sendo as duas primeiras referentes ao estágio cujo papus interno, estrutura de dispersão, apresentava-se aderido aos aquênios presentes nos capítulos (Estádio 1). As coletas subsequentes referiram-se ao estágio em que não havia mais a presença de papus interno, sendo que os aquênios já encontravam-se em dispersão (Estádio 2).

Após separação manual de aquênios dos capítulos, de uma pequena amostra, foi determinada a umidade no momento da coleta.

4.2 Determinação do grau de umidade

A umidade dos aquênios foi determinada pelo método de estufa à 105°C, durante 24 horas, conforme as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Por ocasião da montagem do teste de germinação, foram retiradas duas amostras de um grama de aquênios para cada tratamento, tendo os resultados, sido expressos em porcentagem.

4.3 Secagem

Subseqüente à coleta, os capítulos foram submetidos à secagem em estufa de circulação de ar forçado, com temperatura variando de 25°C a 30°C por 72 horas, até a umidade aproximada de 10%. Após a secagem, os capítulos foram debulhados e, juntamente com os aquênios eventualmente desprendidos, foram submetidos ao beneficiamento.

4.4 Beneficiamento

Os capítulos foram debulhados manualmente e posteriormente passaram por um processo de pré-limpeza utilizando-se um protótipo da máquina de ar e peneira para retirada das impurezas. Foi efetuado repasse para retirada do excesso do material indesejável. O peso do material obtido foi de 1.036,78g para o estádio 1 e 707,40g para o estádio 2. Logo em seguida, utilizando um soprador vertical modelo South Dakota, marca De Leo, foi realizado o beneficiamento dos aquênios utilizando-se a abertura 3,75 com repasse, no tempo de 2' e 40", tendo o mecanismo de ventilação desacionado automaticamente após esse período. O peso final de aquênios apurados foi de 134,32g para o estádio 1, correspondendo a 13%, e 98,18g para o estádio 2, ou seja, 13,9%.

Foi utilizada a técnica de raios X para se verificar a porcentagem de aquênios efetivamente cheios nos lotes após o beneficiamento. A potência e o tempo adotados, que permitiram melhor visualização e distinção dos aquênios, foram obtidos em pré-testes. Os aquênios foram dispostos sobre fita adesiva transparente de dupla face, aderida a uma placa de acrílico transparente, com dimensões 24 x 18cm e espessura de 2mm. Após montagem, a placa com os aquênios foi sobreposta ao filme radiográfico Kodak, Min-R 2000, tamanho 18x24 cm e submetida à radiação de 30 Kv, por 45 segundos, em equipamento de raio-X Faxitron HP, modelo 43855A X. Os filmes radiográficos foram

revelados e analisados visualmente sobre transiluminador. Foram utilizadas 4 repetições de 50 aquênios.

4.5 Armazenamento

Os aquênios foram acondicionadas em dois tipos de embalagem: sacos de papel kraft bifoliado e embalagens plásticas cilíndricas (pote escuro com volume de 30 ml, utilizado para acondicionamento de filme fotográfico) e armazenados em condição ambiente de laboratório e câmara fria (10°C e UR 50%). Constituíram-se, assim, quatro condições de armazenamento.

Para cada tratamento (estádios de maturação, condições e períodos de armazenamento) os recipientes continham 5g de aquênios. Os períodos de armazenamento foram: 0, 2, 4 e 6 meses.

4.6 Teste de germinação

Os aquênios foram semeados sobre duas folhas de papel mata-borrão previamente umedecidas com água destilada com uma quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco, acondicionados em caixas acrílicas do tipo “gerbox” e mantidas em BOD, à temperatura alternada de 20-30° C e iluminação de 12 horas. Foram utilizadas quatro repetições de 100 aquênios para cada tratamento. Foi adotado o critério de protrusão radicular para o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando-se a fórmula proposta por Maguire (1962), sendo as avaliações realizadas em dias alternados. Para o teste de germinação, as avaliações foram realizadas aos 0, 2, 4 e 6 meses, e adotou-se a porcentagem de plântulas normais, sendo as mesmas computadas e eliminadas periodicamente até 60 dias após a semeadura.

4.7 Teste de sanidade

A análise de sanidade dos aquênios foi efetuada pelo método de papel de filtro (“Blotter test”), conforme descrito por Machado (1988) sem, contudo, utilizar pré-tratamentos para inibir a germinação. Foram utilizadas quatro repetições de 50 aquênios para cada tratamento. Os aquênios foram mantidos em câmara de incubação por um período de 7 dias, sob regime alternado de luz e escuro por 12 horas, a uma temperatura de 20°C. Decorrido esse período, foi realizado o exame dos aquênios sob microscópio estereoscópico, sendo determinado o percentual e a identificação dos fungos ocorrentes.

4.8 Procedimento estatístico

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4x2x4 (4 condições de armazenamento x 2 estádios x 4 épocas). Os dados obtidos no teste de germinação foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$, conforme sugerido por Banzatto & Kronka (1995), submetidos à análise de variância e analisados pelo programa estatístico SISVAR. Foi utilizada regressão para estádios e épocas de armazenamento. Para o teste de sanidade e grau de umidade não foi realizada análise de variância.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade apresentado pelos aquênios, independente das embalagens e locais de armazenamento, para ambos os estádios, não sofreu grandes oscilações durante o período, permanecendo com um teor de água abaixo de 13%, conforme ilustrado nas Figuras 1 e 2.

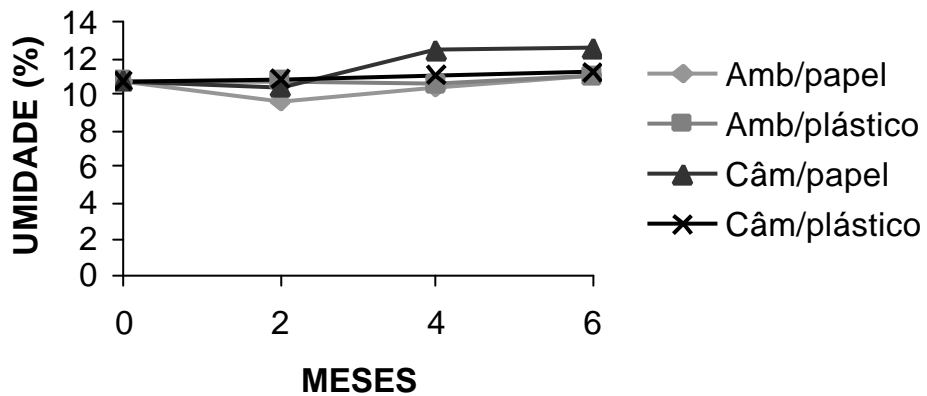


FIGURA 1 Teor de água de aquênios de arnica coletados no estádio 1 de maturação, acondicionados em embalagens de saco de papel (papel) e embalagens plásticas (plástico) e armazenados por um período de seis meses em ambiente de laboratório (amb) e em câmara fria (câm). UFLA, Lavras, MG, 2005.

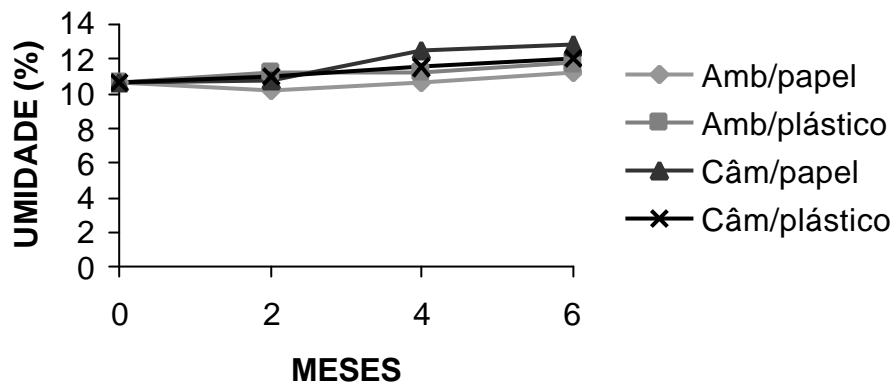


FIGURA 2 Teor de água de aquênios de arnica coletados no estágio 2 de maturação, acondicionados em embalagens de saco de papel (papel) e embalagens plásticas (plástico) e armazenados por um período de seis meses em ambiente de laboratório (amb) e em câmara fria (câm). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Na Tabela 1C, evidencia-se a interação significativa entre época de armazenamento e estágio de maturação, tanto para a germinação quanto para o índice de velocidade de germinação (IVG). Nas variáveis analisadas, não foi constatada diferença em relação às condições de armazenamento testadas.

Observa-se que houve uma tendência de aumento na germinação dos aquênios do estágio 2, somente aos seis meses de armazenamento (Figura 3). Nota-se, ainda, que os aquênios neste estágio apresentaram um decréscimo da germinação no segundo e quarto meses, quando comparados aos aquênios da época zero, retomando o incremento apenas no sexto mês. Esse comportamento pode ser explicado pela redução da qualidade fisiológica inicial de alguns aquênios, em função da desuniformidade de maturação e eventual processo de

deterioração no armazenamento, decorrente do maior período que os aquênios do estágio 2 ficaram no campo expostos às condições ambientais variáveis, com posterior superação de dormência dos aquênios que se encontravam dormentes. É relevante ressaltar que a maturação dos aquênios ocorre de maneira desuniforme na planta o que, provavelmente, contribuiu para os resultados de deterioração de alguns e superação de outros aquênios com diferentes intensidades de dormência. Carvalho & Nakagawa (2000) comentam que, na fase em que ocorre uma rápida desidratação, fase final da maturação, chuvas intensas podem promover um rápido processo de deterioração das sementes já maduras no campo.

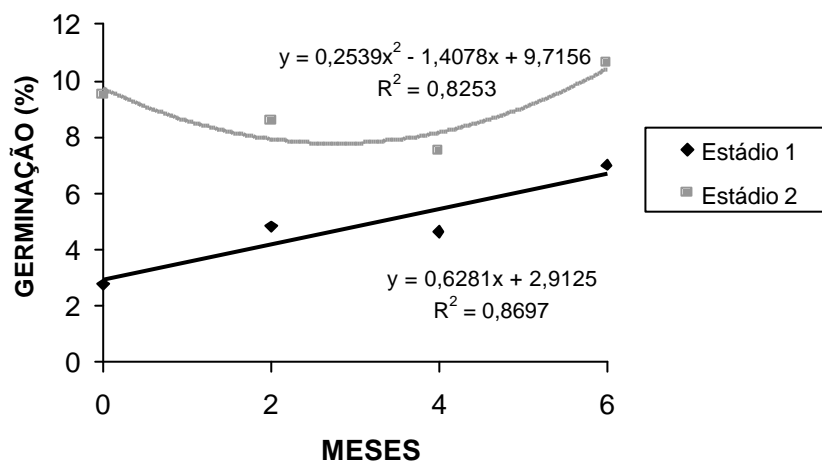


FIGURA 3 Porcentagem de germinação de aquênios de arnica, em dois estádios de maturação, armazenados no período de seis meses e submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Em relação ao estágio 1, aquênios menos maduros, ocorreu uma tendência ao contínuo acréscimo da germinação ao longo dos meses.

Possivelmente, houve, nesse caso, uma remoção ou redução de dormência dos aquênios no período de armazenamento.

Ainda em relação à germinação, a avaliação dos aquênios cheios, considerados potencialmente viáveis, demonstrada em radiografia obtida previamente à destinação dos aquênios para as respectivas embalagens e condições de armazenamento, foi correspondente a 38,5% para o estádio 1 e 42% para o estádio 2. Esses dados, juntamente com a dormência apresentada pelos aquênios de arnica, auxiliam na interpretação da baixa germinação ocorrida.

O índice de velocidade de germinação (IVG) apresentado no sexto mês, para os aquênios do estádio 1, foi superior em relação à época zero e quarto mês sendo que, para os aquênios do estádio 2, o vigor pôde ser diferenciado apenas entre o sexto e o quarto mês, apresentando-se maior para o sexto mês (Figura 4). A distinção entre os estádios de maturação foi observada para todas as épocas avaliadas, exceto no quarto mês. Neste ponto, houve uma tendência à aproximação do vigor dos dois estádios, pois os aquênios no estádio 1 encontravam-se num processo de superação da dormência mas, sobretudo em função do decréscimo acentuado da qualidade fisiológica dos aquênios no estádio 2, cujo vigor só viria a aumentar com a quebra de dormência ocorrida no armazenamento, refletida apenas no sexto mês.

O armazenamento pode variar em função da espécie, qualidade inicial das sementes e condições de armazenamento às quais foram submetidas. Em relação às condições de armazenamento, pelo teste F a 5% de probabilidade (Tabela 1C), observa-se que as médias para a germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) não diferiram entre si. Dessa forma, admiti-se que as condições de armazenamento não interferiram na variação da germinação ocorrida ao longo do período de armazenamento.

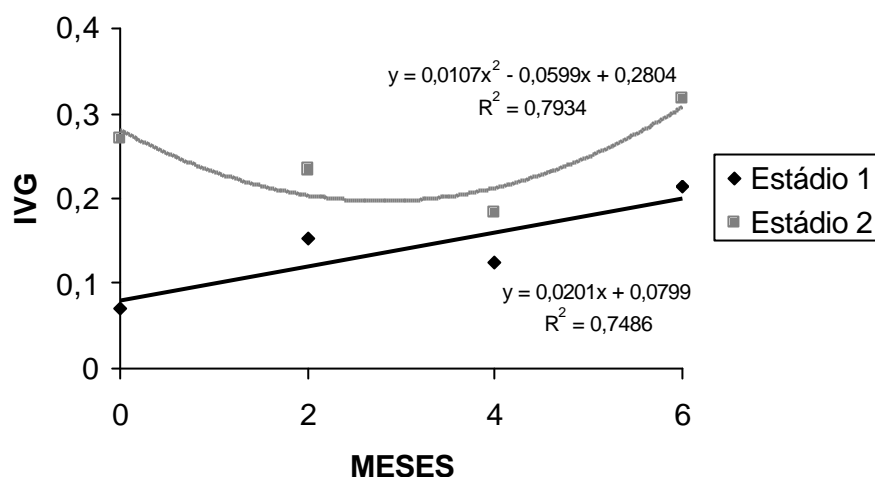


FIGURA 4 Índice de velocidade de germinação (IVG) de aquênios de arnica, em dois estádios de maturação, armazenados por seis meses. UFLA, Lavras, MG, 2005.

É importante ressaltar que a umidade de coleta do estágio 2, aquênios mais maduros já em dispersão, encontrava-se em torno de 14%. Nesta faixa de umidade, sementes consideradas ortodoxas encontram-se quiescentes e prontas para a dispersão, podendo apresentarem-se dormentes, dependendo da espécie (Bryant, 1989). Contudo, em pré testes realizados, observou-se que alguns aquênios colocados em condições de germinação, logo após a coleta do estágio 1, com aproximadamente 30% de umidade e sem terem passado pelo processo de secagem, assim como o estágio 2, também germinaram ao longo do período de 9 meses.

Pelos resultados do teste de sanidade (Tabela 1), observa-se que, nas condições de ambiente em laboratório, para ambas as embalagens, houve um decréscimo na incidência do fungo *Alternaria alternata* com o transcorrer do

armazenamento. Em se tratando de um fungo saprófita, a sua constante presença nos aquênios em câmara fria, tanto em embalagens de papel quanto em plástico, não alterou os resultados de germinação. Em relação aos fungos característicos de armazenamento, *Penicillium* sp e *Aspergillus* sp, observa-se que a incidência manteve-se constante ao longo do período de armazenamento pois, de acordo com Bewley & Black (1985), dependendo das condições, esses normalmente tendem a aumentar sua incidência no armazenamento. Esse controle eficiente pode ter sido proporcionado durante o armazenamento pela umidade abaixo de 13% (Popinigis, 1985), pois os aquênios de arnica não foram submetidos ao tratamento químico. Assim, a baixa qualidade fisiológica dos aquênios, refletida na germinação, sobretudo do estágio 2, que passou mais tempo exposto às variáveis ambientais no campo, pode ser atribuída às condições ambientais após a maturação dos aquênios.

Por outro lado, em função da germinação e grau de umidade apresentados pelos aquênios, por ocasião da coleta e no período de seis meses de armazenamento, nas embalagens e condições testadas, pode-se inferir que os dados tenderam a refletir o comportamento característico de sementes ortodoxas, que são sementes cuja viabilidade pode ser mantida por um período longo quando armazenadas com baixos teores de água (Bewley & Black, 1985).

TABELA 1 Porcentagem média de incidência de fungos em aquênios de amíca, em dois estádios de maturação, no início do armazenamento e aos 2, 4 e 6 meses, nas diferentes condições. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Microorganismo	Estádio	Ambiente/papel						Ambiente/plástico						Câmara fria/papel						Câmara fria/plástico					
		0	2	4	6	0	2	4	6	0	2	4	6	0	2	4	6	0	2	4	6	0	2	4	6
Alternaria alternata	1	11,5	0,5	0,5	0,0	11,5	0,5	0,5	0,0	11,5	13,5	15,0	8,5	11,5	12,5	11,0	9,5								
	2	24,5	5,5	2,0	0,0	24,5	0,5	0,0	0,0	24,5	20,0	16,0	17,0	24,5	15,0	20,0	15,0								
<i>Penicillium sp.</i>	1	4,0	0,5	1,5	0,5	4,0	0,0	0,0	0,0	4,0	1,5	0,0	2,5	4,0	1,0	0,0	1,0								
	2	0,5	0,0	0,5	0,5	0,5	1,0	0,0	0,0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,0	0,5	0,5								
<i>Aspergillus sp.</i>	1	0,5	1,5	1,5	0,5	0,5	0,5	0,0	2,0	0,5	2,0	0,0	0,5	0,5	0,5	0,0	0,5								
	2	1,5	0,0	0,0	0,5	1,5	2,5	0,0	2,0	1,5	4,0	0,0	2,0	1,5	3,5	0,0	1,0								

6 CONCLUSÕES

O desempenho germinativo de aquênios de arnica não é afetado pelas condições de armazenamento no período de seis meses, independentemente do recipiente (papel ou plástico) ou do local de armazenamento (câmara fria a 10°C/50%UR ou ambiente de laboratório).

O armazenamento promove incremento do percentual de germinação ao longo do período de seis meses, principalmente dos aquênios com papus interno presente por ocasião da coleta.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 3. ed. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 247 p.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. v. 2, 306 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria Nacional de Defesa Ambiental, 1992. 365 p.

BRYANT, J. A. **Fisiologia da Semente**. São Paulo: EPU, 1989. 86 p.

CARVALHO, N. M.; NACAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: ESAL/FAEPE, 1988. 107 p.

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

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. 2. ed. Brasília, DF: AGIPLAN, 1985. 289 p.

ANEXOS

ANEXO A

	Página
TABELA 1A	
Resumo da análise de variância dos dados obtidos na germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) para aquênios de arnica submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	77

ANEXO B

	Página
TABELA 1B	
Resumo da análise de variância dos dados obtidos na germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e peso para aquênios de arnica em dois estádios de maturação, em três categorias, submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	78

ANEXO C

	Página
TABELA 1C	
Resumo da análise de variância dos dados obtidos na germinação e índice de velocidade de germinação (IVG), para aquênios de arnica em dois estádios de maturação, armazenados em diferentes condições por seis meses e submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	79

TABELA 1A Resumo da análise de variância dos dados obtidos na germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) para aquênios de arnica submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	Quadrados médios	
		Germinação	IVG
Temperatura	4	2,8734*	0,0119*
Estádio	1	2,6999*	0,0097*
Luz	1	19,7250*	0,0593*
Temperatura x estádio	4	0,7526*	0,0078*
Temperatura x luz	4	1,0888*	0,0043
Estádio x luz	1	0,0225	0,0025
Temperatura x estádio x luz	4	0,2680	0,0017
ERRO	60	0,2201	0,0018
TOTAL	79		
CV (%)		29,42	5,58

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA 1B Resumo da análise de variância dos dados obtidos na germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e peso para aquênios de arnica em dois estádios de maturação, em três categorias, submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	Quadrados médios		
		Teste de germinação		Peso
		Germinação	IVG	
Estádio	1	1,4966	0,0142*	0,0000*
Categoria	2	49,3905*	0,1326*	0,0002*
Estádio x categoria	2	5,5004*	0,0211*	0,0000
Erro	18	0,3476	0,0007	0,0000
Total	23			
CV (%)		25,09	3,41	1,84

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA 1C Resumo da análise de variância dos dados obtidos na germinação e índice de velocidade de germinação (IVG), para aquênios de arnica em dois estádios de maturação, armazenados em diferentes condições por seis meses e submetidos ao teste de germinação. UFLA, Lavras, MG, 2005.

	FV	GL	Quadrados médios	
			Germinação	IVG
Época		3	2,1144*	0,0274*
Estádio		1	20,1355*	0,1372*
Armazenamento		3	0,2051	0,0009
Época x estágio		3	1,0315*	0,0113*
Época x armazenamento		9	0,3178	0,0019
Estádio x armazenamento		3	0,3907	0,0034
Época x estágio x armazenamento		9	0,2865	0,0037
ERRO		96	0,3245	0,0033
TOTAL		127		
CV (%)			21,70	6,95

* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.