

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS  
DAS SEMENTES E DO DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE *Eugenia pyriformis* Camb.**

**CRISTINA FILOMENA JUSTO**

**2006**

**CRISTINA FILOMENA JUSTO**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS  
DAS SEMENTES E DO DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE *Eugenia pyriformis* Camb.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte dos requisitos do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia, área de concentração em  
Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de  
“Doutor”.

Orientador

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

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

Justo, Cristina Filomena

Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb. / Cristina Filomena Justo. – Lavras : UFLA, 2006.

225 p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Uvaia. 2. Sementes recalcitrantes. 3. Dessecação. 4. Armazenamento. 5. Vigor. 6. Germinação. 7. Microscopia eletrônica de varredura. 8. Partição de biomassa. 9. Myrtaceae. 10. IVG. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-583.42041

-634.42

**CRISTINA FILOMENA JUSTO**

**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS  
DAS SEMENTES E DO DESENVOLVIMENTO  
INICIAL DE *Eugenia pyriformis* Camb.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras  
como parte dos requisitos do Programa de Pós-  
graduação em Agronomia, área de concentração em  
Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de  
“Doutor”.

APROVADA em 16 de outubro de 2006.

Prof. Dr. Eduardo Alves	UFLA
Prof. Edvaldo A. Amaral da Silva, PhD	UFLA
Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães	UFLA
Prof. Dr. Ivany Ferraz Marques Valio	UNICAMP

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

2006

*"Se não houver frutos,  
valeu a beleza das flores.  
Se não houver flores,  
valeu a sombra das folhas.  
Se não houver folhas,  
valeu a intenção das sementes."*

HENFIL, s.d.

**DEDICO,**

Ao meu marido, Alexandre e meus filhos, Alexandre e Gabriela,  
que estiveram comigo neste período de estudos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta tese. Em especial:

Ao meu marido, pela paciência e companheirismo.

Ao prof. Dr Amauri Alves de Alvarenga, pela orientação e apoio.

Aos meus colegas das UFMT, que supriram a minha ausência.

Aos colegas do Laboratório de Crescimento e Desenvolvimento, pelo apoio, auxílio, companheirismo e amizade, em especial ao Anderson e à Fernanda.

Aos membros da banca, pelas sugestões e correções.

Aos professores do setor de Fisiologia Vegetal, pelos ensinamentos ao longo do mestrado e do doutorado.

Ao professor Eduardo Alves, que me permitiu trabalhar no Laboratório de Microscopia Eletrônica, proporcionando-me acesso ao mundo das ultra-estruturas.

Aos funcionários dos diferentes setores por onde andei durante a realização deste trabalho, em especial à Eloísa que se tornou uma grande amiga.

Aos funcionários da Biblioteca, em diversos momentos.

À Capes, pela bolsa de estudos.

À minha empregada, Kelem, que me auxiliou na coleta de uvaías e tomou conta da minha casa e dos meus filhos enquanto eu estudava.

Ao seu Zé e à Simone por permitir a colheita de uvaías em seu quintal.

Às amigas Luciana, Sueli, Fernanda Soares e Soraia.

Àqueles que esqueci de mencionar por algum lapso, mas que têm um lugar no meu coração.

Obrigada!

## SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	ii
<b>CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1 Descrição botânica da espécie .....	4
2.2 A importância da água .....	8
2.3 Como classificar as sementes .....	8
2.4 Grupo ecológico X tipo de semente .....	12
2.5 Mecanismos de tolerância à dessecação .....	14
2.6 A recalcitrância é um caráter primitivo? .....	18
2.7 Considerações finais .....	22
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22
<b>CAPÍTULO II: COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CURVA DE EMBEBIÇÃO E EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Eugenia pyriformis</i> Camb. (MYRTACEAE) .....</b>	<b>39</b>
1 RESUMO .....	40
2 ABSTRACT .....	41
3 INTRODUÇÃO.....	42
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
6 CONCLUSÕES .....	60



7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	60
------------------------------------	----

**CAPÍTULO III: ASPECTOS ANATÔMICOS DAS SEMENTES DE *Eugenia pyriformis* Camb. (MYRTACEAE) E EFEITOS DA SECAGEM, DO ARMAZENAMENTO E DA GERMINAÇÃO SOBRE SUA ULTRA-ESTRUTURA .....** **67**

1 RESUMO .....	68
2 ABSTRACT .....	69
3 INTRODUÇÃO.....	70
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	72
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	74
6 CONCLUSÕES .....	92
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	93

**CAPÍTULO IV: GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS OBTIDAS DE SEMENTES FRACIONADAS DE *Eugenia pyriformis* Camb. (MYRTACEAE) .....** **99**

1 RESUMO .....	100
2 ABSTRACT .....	101
3 INTRODUÇÃO.....	102
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	105
5 RESULTADOS .....	111
6 DISCUSSÃO .....	130
7 CONCLUSÕES .....	136
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	137

**CAPÍTULO V: LONGEVIDADE DAS SEMENTES DE *Eugenia pyriformis* Camb. (MYRTACEAE) ARMAZENADAS SOB BAIXA TEMPERATURA .....** **145**

1 RESUMO .....	146
2 ABSTRACT .....	147
3 INTRODUÇÃO.....	148

4 MATERIAL E MÉTODOS .....	150
5 RESULTADOS .....	153
6 DISCUSSÃO .....	161
7 CONCLUSÕES .....	167
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	168

**CAPÍTULO VI: EFEITO DA SECAGEM DE SEMENTES SOBRE A GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Eugenia pyriformis* Camb. .... 175**

1 RESUMO .....	176
2 ABSTRACT .....	177
3 INTRODUÇÃO.....	178
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	180
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	184
6 CONCLUSÕES .....	200
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	200

**CAPÍTULO VII: EFEITO DO CÁLCIO E DO MAGNÉSIO SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES ENVELHECIDAS DE *Eugenia pyriformis* Camb. (MYRTACEAE) .... 207**

1 RESUMO .....	208
2 ABSTRACT .....	209
3 INTRODUÇÃO.....	210
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	212
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	215
6 CONCLUSÕES .....	221
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	221

## RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006. 225 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

Sementes recalcitrantes perdem a viabilidade quando são dessecadas. Existem vários mecanismos de tolerância à dessecação que foram revisados neste trabalho sob uma abordagem ecológica, fisiológica e evolutiva. As sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae) são recalcitrantes e foram estudadas quanto ao desempenho germinativo e a alterações ultra-estruturais, sob diferentes tratamentos. Avaliou-se o efeito da temperatura, da dessecação e do fracionamento sobre a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas. Avaliaram-se a longevidade das sementes sob condições de armazenamento à baixa temperatura (10°C) e o efeito de soluções de sais de cálcio e magnésio sobre o desempenho germinativo de sementes de baixo vigor. A germinação foi elevada em todas as temperaturas experimentadas, sendo normal o desenvolvimento inicial das plântulas para as temperaturas de 20°C, 25°C e 25/15°C, mas, prejudicado a 30°C. O eixo embrionário é diferenciado nas sementes de *E. pyriformis* e não se observou fusão dos cotilédones. O teor de água das sementes recém-colhidas variou entre 49% e 52%. A secagem, o armazenamento e a germinação promoveram alterações ultra-estruturais no eixo embrionário e na região de conexão com os cotilédones. Obteve-se mais de uma plântula normal a partir do fracionamento das sementes, principalmente para os cortes longitudinais. As plântulas obtidas por fracionamento não apresentaram alterações de arquitetura e de partição de matéria seca. Ocorreu redução de vigor e de viabilidade em função do armazenamento e da dessecação. As soluções de sais tiveram efeito positivo sobre a germinação de sementes envelhecidas.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).

## ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006. 225 p. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

Recalcitrant seeds loose viability when they are desiccated. There are some desiccation tolerance mechanisms, which were reviewed in this work. Seeds of *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae) are recalcitrant and they were analyzed with respect to germination performance and ultra-structural aspects. The effect of temperature, desiccation and cutting of seeds on germination and initial development were evaluated. Longevity of seed under low temperature storage and the effect of calcium and magnesium were studied, on the germination performance of low vigor seeds. The initial development of seedlings was normal at 20, 25 and 25/15°C and it was the worst at 30°C. Initial water content of seeds was between 49% and 52%. The embryonic axis is differentiated on *E. pyriformis* seeds and cotyledon fusion was not observed. There were ultra-structural changes when seeds were submitted to desiccation, germination and storage. It is possible to get more than one normal seedling from cutting seeds. These seedlings had normal architecture and biomass partition. The vigor and viability were reduced during storage and desiccation. Ionic solutions of calcium and magnesium had positive effect on germination of low vigor seeds.

---

\* Guidance committee: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser).

**CAPÍTULO I**  
**INTRODUÇÃO GERAL**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Diversas espécies frutíferas nativas da mata atlântica e do cerrado são importantes para a alimentação da fauna, mas, devido ao desmatamento, parte dessa riqueza vem se perdendo. A alimentação humana também poderia beneficiar-se de novos sabores e fontes de nutrientes. A família Myrtaceae é particularmente promissora em espécies praticamente desconhecidas para o consumidor das grandes cidades e para a recuperação de áreas degradadas. Os frutos saborosos têm elevado potencial para a industrialização de sucos e consumo *in natura*. Existem, ainda, relatos do uso medicinal e de efeito antibacteriano (Kubota et al., 2001; Schmeda-Hirschmann et al., 1987; Theodoluz et al., 1988).

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea de porte mediano, ocorrendo naturalmente desde São Paulo até o Rio Grande do Sul. É conhecida popularmente como uvaia, ubaia, uvalha, etc. e seus frutos têm aroma agradável e sabor adocicado. A espécie é resistente a doenças, o crescimento da árvore é relativamente rápido e sua frutificação é precoce. As sementes têm curta longevidade e recomenda-se o plantio logo após a colheita (Andrade & Ferreira, 2000; Lorenzi, 2002).

Diferentes métodos de armazenamento têm sido estudados para sementes de curta longevidade, mas, apesar de extensas pesquisas, ainda não existem métodos eficazes para o seu armazenamento a longo prazo. A compreensão dos mecanismos de deterioração durante a secagem e o armazenamento pode contribuir para o avanço das técnicas de conservação, principalmente visando à conservação de germoplasma, pois a perda de diversidade dessas espécies pode ser irreversível.

Os objetivos do presente trabalho foram:

- estudar a anatomia das sementes de *E. pyriformis*;
- avaliar as alterações ultra-estruturais durante a secagem, o armazenamento e a germinação das sementes dessa espécie;
- estudar o efeito da temperatura sobre a germinação das sementes;
- determinar a curva de embebição das sementes e sua relação com o processo germinativo;
- determinar a composição química das reservas das sementes de *E. pyriformis*
- avaliar a capacidade germinativa de sementes fracionadas de *E. pyriformis*;
- avaliar o efeito do fracionamento sobre a arquitetura e a partição de massa de plântulas.
- avaliar a capacidade germinativa das sementes de *E. pyriformis* após armazenamento sob baixa temperatura;
- avaliar a capacidade germinativa após secagem das sementes;
- estudar o efeito do cálcio e do magnésio sobre a germinação e o crescimento inicial de plântulas obtidas de sementes de baixo vigor;

O trabalho está subdividido em capítulos e cada qual se propõe a atender a um ou mais desses objetivos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Descrição botânica da espécie e outras considerações

Classe Magnoliopsida

Subclasse Rosidae

Ordem Myrtales

Família Myrtaceae

Subfamília Myrtoideae

Tribo Myrteae

Subtribo Eugeniinae

*Eugenia pyriformis* Cambess. (Myrtaceae)

**Nomes populares:** uvaia, ubaia, uvaieira, uvalha, uvalha-do-campo, derivando da denominação indígena *iwa'ya*, cujo significado é fruto ácido (Franzon et al., 2004; Leal, 2005; Lorenzi, 2002).

**Sinonímia botânica:** *Pseudomyrcianthes pyriformis* (Camb.) Kausel, *Eugenia foliosa* (Kunth) DC, *Eugenia turbinata* O. Berg., *Eugenia dunicola* Barb Rodr. (Lorenzi, 2002). Segundo Donadio et al. (2002), existem duas variedades: *E. pyriformis* var. *uvalha* e *E. pyriformis* var. *argentea*, com o mesmo nome comum, que outros autores tratam como duas espécies individualizadas, *E. pyriformis* e *E. uvalha* (Costa, 2004; Scalón et al., 2004). No entanto, a espécie válida é *E. pyriformis* (M.L. Raseira, comunicação pessoal).

**Relações taxonômicas:** Costa (2004) apresenta uma ampla discussão das diversas subdivisões dos táxons reconhecidos em Myrtaceae por diferentes autores ao longo do tempo.



**Características morfológicas:** espécie arbórea de porte mediano (6-13 m), dotada de copa arredondada (Figura 1A). Folhas opostas, glabras, subcoriáceas, de cor róseo-avermelhadas quando jovens e com face inferior densamente serícea, comprimento de 4 a 7 cm. Flores solitárias brancas hermafroditas, tetrâmeras e com grande número de estames (Figura 1B). Frutos do tipo baga, globosos, com epicarpo delgado e aveludado e polpa carnosa de cor amarela ou alaranjada (Figura 1C). Geralmente têm de 1 a 3 sementes. Tronco geralmente ereto, com casca fissurada e descamante (Figura 1D) (Lorenzi, 2002).

**Distribuição geográfica:** desde São Paulo até o Rio Grande do Sul, na floresta semidecídua do planalto e da bacia do Rio Paraná, sendo ocasionalmente cultivada em quintais e chácaras. Segundo Donadio et al. (2002), a espécie também é nativa do Paraguai e Argentina. A espécie é citada em um estudo de etnobotânica no Paraguai (Theodoluz et al., 1988).

**Informações ecológicas:** o crescimento é relativamente rápido e sua frutificação precoce (Andrade & Ferreira, 2000). Planta semidecídua, heliófila, seletiva higrófila e comum no sub-bosque das matas de pinhais (Lorenzi, 2002; Nascimento et al., 2001; Rondon Neto et al., 2002).

**Madeira:** moderadamente pesada, dura, resistente, de textura média e de longa durabilidade natural, é empregada para moirões, postes, estacas, lenha e carvão (Lorenzi, 2002).

**Utilidade:** seus frutos são consumidos por diversas espécies de pássaros; para consumo humano podem ser utilizados *in natura* ou em forma de sucos, sorvetes, geléias e doces. A árvore tem características ornamentais, sendo recomendada para paisagismo e reflorestamento de áreas degradadas. Produtores de bonsai têm utilizado a espécie devido ao seu aspecto estético (Franzon et al., 2004; Leal, 2005; Lorenzi, 2002).

**Conservação:** a espécie vem sendo conservada no Banco Ativo de Germoplasma de fruteiras nativas da Embrapa Clima Temperado-CPACT, onde tem sido estudada para desenvolver um sistema de produção que permita o cultivo em escala comercial e, talvez, a implantação de um programa de melhoramento genético (Franzon et al., 2004).

**Fenologia:** Em Jaboticabal, SP, a espécie floresce de agosto a setembro; no Pantanal, ocorre até novembro, mas, por outro lado, no sul do país, a floração é mais tardia, podendo se estender até fevereiro. O desenvolvimento do botão é lento (mais de 40 dias), mas a fase de flor aberta é de apenas 2 dias. O tempo entre a abertura da flor e o início do desenvolvimento do fruto é de 8 a 9 dias e nesse período ocorre a abscisão das peças florais. O desenvolvimento dos frutos é rápido e o tempo entre a antese e a maturação é de, aproximadamente, 21 dias, na região de Pelotas, RS (Donadio et al., 2002; Franzon et al., 2004).

**Produção de mudas:** é dificultada pelo curto período de disponibilidade das sementes, geralmente de setembro a novembro no Sudeste (Mattos 1956, citado por Andrade & Ferreira, 2000; Lorenzi, 2002).

**Sementes:** um kg contém 1.170 sementes, que apresentam curta longevidade, recomendando-se seu plantio logo após o despulpamento dos frutos (Lorenzi, 2002). Têm embrião globoso, branco-leitoso sem diferenciação aparente entre o eixo embrionário e os cotilédones (Barroso, 2002), tegumento delgado coriáceo de coloração parda.

**Número cromossômico:** em Myrtaceae, o número cromossômico haplóide é 11, com ocorrência de poliploidia em algumas espécies (Rye, 1979). Segundo Costa (2004), a população de *E. pyriformis* analisada apresenta triploidia ( $2n= 33$ ) em Assis, SP; por outro lado *E. uvalha* é diplóide ( $2n= 22$ ), em Itirapina, SP. O material usado neste trabalho está sendo investigado e as primeiras evidências indicam que é diplóide.

**Metabolismo secundário:** o óleo essencial obtido de folhas é rico em hidrocarbonetos sesquiterpênicos (Apel et al., 2004).



FIGURA 1. Aspectos gerais de *Eugenia pyriformis* Camb. (A) Copa da árvore em fase de frutificação. (B) Ramo com flores e frutos em desenvolvimento. (C) Fruto em fase de maturação. (D) Casca da árvore. Lavras, MG, 2006.

## **2.2 A importância da água**

A água é uma necessidade universal para a vida, sendo o componente mais abundante em todas as células ativas. Ela é essencial para o metabolismo e todos os organismos precisam obtê-la para sobreviver, tendo diferentes funções que são prejudicadas quando é perdida (Alpert & Oliver, 2002; Walters, 2000).

As briófitas, geralmente, são capazes de tolerar dessecação no estado vegetativo, mas, entre as plantas vasculares, essa tolerância é rara. As sementes, grãos de pólen e esporos, por outro lado, são, geralmente, tolerantes à dessecação (Proctor & Tuba, 2002), mas diversas espécies apresentam sementes sensíveis (Dickie & Pritchard, 2002; Farnsworth, 2000).

## **2.3 Como classificar as sementes?**

As sementes tolerantes à dessecação são denominadas ‘ortodoxas’ e podem ser armazenadas por longos períodos com reduzido grau de umidade e baixas temperaturas, inclusive abaixo do ponto de congelamento. Elas reassumem seu metabolismo prontamente quando são reidratadas e condições apropriadas para a germinação são fornecidas. As sementes ‘recalcitrantes’, por outro lado, são sensíveis a danos por dessecação, sendo dispersas com elevado conteúdo de água e permitindo armazenamento por períodos curtos e geralmente em temperaturas superiores a 10-15°C (King & Roberts, 1982; Roberts, 1973).

Os termos “homoiohydrous” e “poikilohydrous” foram propostos em substituição aos termos recalcitrantes e ortodoxas, respectivamente (Berjak et al., 1990; 1992). Neves (1994) discute a inconveniência do termo recalcitrante, mas parece que este último consagrou-se pelo uso da comunidade científica (Barbedo & Bilia, 1998; Berjak & Pammenter, 2002; Bewley & Black, 1994; Drew et al., 2000; Farnsworth, 2000; Greggains et al., 2001; Maluf et al., 2003;

Steadman et al., 1996; Tommasi et al., 1999; von Teichman & van Wyk, 1994). Alguns autores dão preferência ao termo ‘sensíveis à dessecação’ (Chandel et al., 1995; Tweddle et al., 2003).

A classificação das sementes não se limita a esses dois grupos, pois Ellis et al. (1990) propuseram um terceiro grupo: as sementes intermediárias, as quais sobrevivem à dessecação, mas são sensíveis à baixa temperatura.

Bonner (1990) propôs uma classificação compreendendo 4 tipos de sementes, de acordo com a origem geográfica e a tolerância à dessecação:

- (a) ortodoxas verdadeiras toleram secagem abaixo de 10% de teor de água, podem ser submetidas a temperaturas abaixo de zero e têm longevidade superior a 50 anos ou mais, em condições ótimas de armazenamento. Este grupo inclui espécies de clima temperado e tropical,
- (b) subortodoxas, que podem ser armazenadas nas mesmas condições do grupo anterior, porém, a longevidade máxima é de 6 anos.
- (c) recalcitrantes de clima temperado que são sensíveis à dessecação, mas podem ser armazenadas por períodos de 12 a 30 meses a temperaturas próximas do ponto de congelamento, com a possibilidade de trocas gasosas;
- (d) recalcitrantes de clima tropical também devem ser armazenadas em condições de alta umidade relativa, com trocas gasosas, porém, apresentam maior sensibilidade à baixas temperaturas.

Estas categorias são consideradas arbitrárias por alguns autores que sugerem a existência de um gradiente de recalcitrância (Berjak & Pammenter, 2002; Farrant et al., 1988). Walters (2000) apresenta evidências de que a recalcitrância é quantitativa e podem ser definidos potenciais hídricos críticos.

Aparentemente a discussão não se esgotou, pois Farrant et al. (1997) propuseram uma classificação em três grupos, mas usando critérios diferentes de Ellis et al. (1990):

- (a) grupo I corresponderia às espécies genuinamente ortodoxas, que completam seu programa de desenvolvimento antes da dispersão, sendo necessária e indispensável a secagem ao final da maturação;
- (b) grupo II compreende as espécies que tem seu programa de desenvolvimento interrompido pela dispersão, mas ocorre algum nível de secagem; neste grupo incluem-se as “recalcitrantes” de clima temperado que tem alguns dos mecanismos de tolerância à dessecação e as “intermediárias” da classificação de Ellis et al. (1990);
- (c) grupo III, por outro lado, incluiria as sementes genuinamente recalcitrantes, que continuam a acumular matéria seca até a dispersão e não apresentam redução de atividade metabólica, nem do conteúdo de água.

Realmente, há diferenças entre as sementes recalcitrantes de clima temperado e tropical, pois as primeiras podem apresentar dormência e a exposição a temperaturas baixas (2°C a 5°C) pode ser necessária para superação da dormência (Tompsett & Pritchard, 1993; 1998), enquanto as recalcitrantes tropicais não podem ser secas e sofrem injúria pelo frio a temperaturas abaixo de 10°C a 15°C, dependendo da espécie (King & Roberts, 1982; Ferreira & Gentil, 2003; Lin et al., 2005; Roberts, 1973; Schmidt, 2000).

Desde a conceituação dos termos ‘ortodoxo’ e ‘recalcitrante’ para descrever o comportamento das sementes durante o armazenamento (Roberts, 1973), houve um grande interesse no entendimento das causas da recalcitrância (Black & Pritchard, 2002; Farnsworth, 2000; Farrant et al., 1988; 1993; Oliver et al., 2001; Ouedraogo et al., 1996; Pammenter & Berjak, 1999; Tommasi et al., 1999; Vertucci & Farrant, 1995), das maneiras de remediar os danos de secagem (Berjak & Mycock, 2004; Osborne et al., 2002; Pammenter et al., 1998; Perán et al., 2004) e das técnicas de conservação de germoplasma dessas espécies (Berjak et al., 2000; Krishnapillay & Engelmann, 1996).

As condições ideais para o armazenamento de sementes ortodoxas são freqüentemente letais para sementes recalcitrantes (Barbedo & Marcos Filho, 1998; Ellis, 1984; Neves, 1994). Até hoje não existe recomendação conclusiva a respeito da conservação de sementes recalcitrantes (Maluf et al., 2003), apesar da realização de pesquisas com diferentes abordagens em todo o mundo (Andrade et al., 2003; Andrade & Ferreira, 2000; Barbedo & Cícero, 2000; Berjak et al., 1992; Drew et al., 2000; Farrant et al., 1986; Goldbach, 1979; Oliveira & Valio, 1992; Pammenter et al., 1984; Pammenter et al., 2002; Santos, 2000; Scalon et al., 2004).

A técnica de criopreservação tem sido aplicada com variável sucesso para sementes recalcitrantes de diferentes espécies (Assy-Bah & Engelmann, 1992; Beardmore & Whittle, 2005; Chandel et al., 1995; Fu et al., 1990; Gonzalez-Benito et al., 2002; Janeiro et al., 1996; Normah et al., 1986; Perán et al., 2006; Wesley-Smith et al., 2004), sendo também aplicável a sementes ortodoxas (Salomão, 2002; Wood et al., 2003).

Um fator que contribui para a variação de resposta das sementes recalcitrantes à desidratação é a velocidade de secagem. Geralmente, a secagem mais rápida permite tolerância a um conteúdo de água mais baixo por essas sementes (Berjak & Pammenter, 1997; Liang & Sun, 2000; Pammenter et al., 1991; 1998; Pritchard, 1991). Vários processos podem estar envolvidos na perda de viabilidade durante a dessecação. A secagem rápida tem sido usada para minimizar esses danos em eixos embrionários isolados ou em sementes inteiras (Berjak & Pammenter, 2000; Berjak & Mycock, 2004; Bonner, 1996; Farrant et al., 1985; Finch-Savage, 1992; LePrince et al., 1990; 1993; Pammenter et al., 1998; Pritchard, 1991; Vertucci & Farrant, 1995).

Observa-se a ocorrência de danos subcelulares resultantes da dessecação e do armazenamento de sementes recalcitrantes (Berjak & Pammenter, 2000; Farrant et al., 1986). Esses e outros autores observaram, ainda, que alterações

ultra-estruturais relacionadas com a germinação ocorrem durante o armazenamento (Farrant et al., 1989; Pammenter et al., 1984).

#### **2.4 Grupo ecológico x tipo de semente**

As características fisiológicas das sementes determinam a possibilidade de sua conservação *ex situ*. Normalmente, o comportamento fisiológico das sementes tem relação com o ambiente no qual são dispersas, mas a longevidade em condições de laboratório nem sempre se correlaciona com a persistência das sementes na natureza (Ferraz et al., 2004; Vazquez-Yanes & Orozco Segovia, 1993).

Hong et al. (1996) realizaram um amplo levantamento do comportamento das sementes para fins de armazenamento, incluindo cerca de 7.000 espécies pertencentes a 2.000 gêneros e 251 famílias botânicas. Dentre as espécies compiladas por esses autores, 3% são certamente recalcitrantes e 4%, provavelmente, também são recalcitrantes, mas diante da diversidade das florestas tropicais, a literatura ainda é deficiente em relação a esse aspecto.

Farnsworth (2000) apresenta uma lista de 195 espécies com sementes recalcitrantes ou vivíparas, as quais representam uma amostra das sementes recalcitrantes. De modo geral, as espécies com sementes recalcitrantes são lenhosas (Figura 2), compreendendo 86% das espécies apresentadas por Farnsworth (2000). Num estudo realizado com espécies madeireiras na Amazônia, verificou-se que sementes recalcitrantes estão presentes em, ao menos, 70% das árvores (Ferraz et al., 2004).

Com relação ao clima e à distribuição geográfica, 90% das espécies listadas por Farnsworth (2000) estão distribuídas em regiões não sujeitas a temperaturas de congelamento (Figura 2).



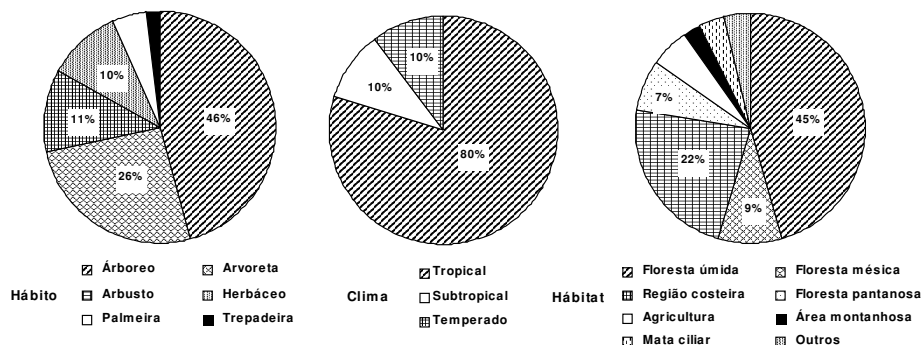


FIGURA 2. Distribuição de sementes recalcitrantes e vivíparas, em função do hábito das plantas, distribuição geográfica e habitat. Fonte: Farnsworth (2000).

Segundo Hong & Ellis (1996), nem todas as espécies nativas de ambientes úmidos possuem sementes recalcitrantes, no entanto, apenas 18% das espécies apresentadas por Farnsworth (2000) não estão claramente associadas com esse tipo de ambiente (Figura 2). Elas são raras em regiões de pluviosidade reduzida, mas, nesse caso, a dispersão das sementes precisa estar sincronizada com a época mais úmida do ano; por outro lado a dispersão de sementes ortodoxas pode ou não coincidir com esse período (Pritchard et al., 2004). Um estudo desse aspecto foi realizado para a vegetação de restinga (Zamith & Scarano, 2004) e seria revelador para a região do Cerrado e da Caatinga.

A composição do banco de sementes varia em função das estações do ano, da dispersão das sementes, da longevidade dos diásporos e da composição florística da vegetação (Almeida-Cortez, 2004; Marimon & Felfili, 2006).

As sementes ortodoxas, geralmente, são capazes de formar um extenso banco de sementes no solo, que pode persistir por décadas. No entanto, em solos úmidos, a deterioração é grandemente acelerada e nesse caso, as pressões seletivas favorecem as sementes recalcitrantes, que germinam prontamente

(Dickie & Pritchard, 2002; Schmidt, 2000). Normalmente, essas espécies formam bancos de plântulas no sub-bosque, como estratégia de regeneração. Diversas espécies clímax apresentam comportamento recalcitrante, enquanto as pioneiras são ortodoxas (Carvalho et al., 2006; Ferraz et al., 2004; Kageyama & Viana, 1989; Pammenter & Berjak, 2000; Pina-Rodrigues et al., 1990). Há, portanto, uma associação entre o nicho ecológico ocupado pela planta e o comportamento fisiológico de suas sementes (Hong & Ellis, 1996).

## **2.5 Mecanismos de tolerância à dessecação**

Diversos mecanismos podem ser relacionados à capacidade de tolerar a dessecação em tecidos vivos e existem semelhanças entre briófitas, líquens, plantas de ressurreição, esporos, grãos de pólen e sementes. Animais invertebrados com essa capacidade também foram observados. De modo geral, o metabolismo diminui durante a perda de água e é restabelecido com a reidratação (Alpert & Oliver, 2002; Scott, 2000). As sementes recalcitrantes geralmente não apresentam essa redução de metabolismo, antecedendo a dispersão (Pammenter & Berjak, 1999).

As plantas de ressurreição são notáveis em sua característica de permanecer vivas no estado desidratado (Scott, 2000); essa tolerância é induzida pelo ambiente, enquanto, em sementes ortodoxas, a indução ocorre durante o desenvolvimento e é perdida durante a germinação (Alpert & Oliver, 2002; Bartels & Salamini, 2001; Berjak et al., 1992; Bewley & Black, 1994; Farrant et al., 1986; Galau et al., 1991; Ingram & Bartels, 1996; Phillips et al., 2002). Por isso, as sementes ortodoxas germinadas têm sido utilizadas como modelos experimentais para compreender as recalcitrantes (Farrant et al., 2004).

A presença de grandes vacúolos nas células é um claro indicador de recalcitrância, pois nesse caso, a perda de água resulta em extensos danos

mecânicos. Em sementes ortodoxas, os vacúolos são preenchidos com reservas durante o desenvolvimento. Segundo Walters (2000), este é um dos primeiros níveis de aquisição de tolerância.

A capacidade de acumular açúcares é uma das adaptações relacionadas com a tolerância à dessecação. O conteúdo de oligossacarídeos correlaciona-se positivamente com a aquisição de tolerância à dessecação, enquanto o de monossacarídeos correlaciona-se negativamente com essa característica (Bailly et al., 2001; Black et al., 1999; Horbowicz et al., 1995; Sinniah et al., 1998). Esporos, leveduras e animais microscópicos acumulam trealose, enquanto pólen, sementes em desenvolvimento e plantas de ressurreição contêm sacarose e oligossacarídeos, tais como rafinose e estaquiase (Scott, 2000; Sun & Leopold, 1997). A concentração de oligossacarídeos foi usada para o diagnóstico da categoria de armazenamento das sementes, indicando que uma elevada razão entre a concentração de oligossacarídeos e sacarose é um bom indicador da tolerância à dessecação (Steadman et al., 1996), embora, em algumas sementes recalcitrantes, seja observado o acúmulo desses açúcares (Li & Sun, 1999).

Evidências experimentais indicam que os açúcares evitam a fusão de lipossomos *in vitro* (Hincha et al., 2003; Hoekstra et al., 1989). Supõe-se que os açúcares têm a propriedade de estabilizar enzimas e estruturas celulares na ausência de água, substituindo-a durante a dessecação. Assim, minimizam-se os danos durante a desidratação e a reidratação. O processo é denominado vitrificação e resulta em um elevado empacotamento e uma reduzida mobilidade molecular, fornecendo estabilidade para a sobrevivência a longo prazo em estado dessecado (Buitnik et al., 2002; Buitink & Leprince, 2004; Hoekstra et al., 2001; Sun & Leopold, 1997). As sementes recalcitrantes perdem sua viabilidade em conteúdos de água, nos quais o estado vítreo ainda não se estabeleceu, observando-se extensos danos de membranas, os quais podem ser avaliados pela lixiviação de solutos (Andrade & Ferreira, 2000; Becwar et al.,

1982; Kohama et al., 2006; Oliveira & Valio, 1992; Valio & Ferreira, 1992; Walters et al., 2002).

Foi observado que temperaturas baixas podem induzir a síntese de açúcares e poliálcoois em tecidos de invertebrados, os quais contribuem para uma tolerância cruzada ao frio e à dessecação (Bayley et al., 2001). Esse mecanismo também é funcional em sementes ortodoxas e, talvez, explique a sensibilidade simultânea à dessecação e à baixa temperatura em muitas sementes recalcitrantes (Sun, 1999).

Diversas proteínas são sintetizadas em resposta à dessecação. As proteínas de choque de térmico (“heat shock proteins”, HSP) ocorrem em organismos tolerantes, desde invertebrados, grãos de pólen, plantas de ressurreição e sementes ortodoxas (Alpert & Oliver, 2002; Bayley et al., 2001; Buitnik et al., 2002; Ingram & Bartels, 1996; Kermode & Finch-Savage, 2002). Nas plantas, as HSP são de baixo peso molecular (15 kDa a 42 kDa) e sua expressão é aumentada durante o desenvolvimento da semente em resposta ao ácido abscísico (ABA). Algumas HSP estão envolvidas na manutenção da estrutura tridimensional das proteínas, exercendo a função de chaperonas (Alpert & Oliver, 2002; Buitnik et al., 2002; Lindquist & Craig, 1988). Algumas delas foram localizadas no núcleo celular, no cloroplasto ou nas mitocôndrias (Lindquist & Craig, 1988; Logan et al., 2001; Taiz & Zeiger, 1998).

Um segundo grupo de proteínas está relacionado com a tolerância à dessecação em plantas de ressurreição, sementes ortodoxas, leveduras e grãos de pólen; são as deidrininas ou LEA proteínas (*late embryogenesis abundant proteins*), cuja expressão, ao final do desenvolvimento embrionário das sementes, coincide com a aquisição de tolerância à dessecação. São reconhecidos alguns grupos de LEA proteínas, que se assemelham entre si pela grande proporção de aminoácidos hidrofílicos e pela sua resistência à denaturação. Vários genes foram isolados e clonados, sendo responsivos ao

ABA. Possivelmente, as LEA proteínas desempenham um papel importante na manutenção da estabilidade de enzimas e do DNA durante a dessecação e, talvez, durante a reidratação (Bartels & Salamini, 2001; Buitnik et al., 2002; Hoekstra et al., 2001; Hughes & Galau, 1991; Kermode & Finch-Savage, 2002; Ma et al., 2005; Mao et al., 1995; Oliver et al., 2001; Phillips et al., 2002; Scott, 2000; Sinniah et al., 1998; Sun et al., 1998).

Wise & Tunnacliffe (2004) sugerem que ao menos as LEA proteínas do grupo 3 fazem parte do citoesqueleto. Geralmente, as sementes recalcitrantes não apresentam essas proteínas, mas existem algumas exceções, principalmente em clima temperado (Farrant et al., 1996; Gregains et al., 2000). Observa-se uma ação sinérgica entre as proteínas e os oligossacarídeos na estabilização do estado vítreo (Wolkers et al., 2001). Elas tendem a dobrar-se de maneira ordenada à medida que ocorre a dessecação ou a redução de temperatura (Goyal et al., 2003; Soulages et al., 2002).

Mecanismos antioxidantes são importantes para a tolerância à dessecação, pois processos oxidativos tendem a aumentar durante a dessecação. Em sementes recalcitrantes, a perda de viabilidade correlaciona-se com a queda de atividade do sistema antioxidantes e o acúmulo de radicais livres (Li & Sun, 1999; Vertucci & Farrant, 1995). Em sementes ortodoxas maduras, provavelmente, predominam a glutatona, o ascorbato e o tocoferol como antioxidantes, pois as enzimas permanecem inativas no tecido seco. Uma consequência do acúmulo de radicais é a peroxidação de lipídeos (Bailey et al., 2001; Buitnik et al., 2002; Farrant et al., 2004; Gregains et al., 2001; Leprince et al., 1990; Oliver et al., 2001; Pócsi et al., 2004; Tommasi et al., 1999).

A reidratação é uma etapa crucial para a sobrevivência de organismos desidratados. Estudos de dano de embebição e da taxa de reidratação têm revelado resultados interessantes, pois sementes ortodoxas devem ser embebidas

lentamente, enquanto as recalcitrantes sobrevivem melhor se a reidratação for rápida (Osborne et al., 2002; Peran et al., 2004).

## **2.6 A recalcitrância é um caráter primitivo?**

A discussão da tolerância à dessecação num contexto evolutivo depende de um amplo levantamento da sensibilidade à dessecação em um grande número de famílias e espécies botânicas. Tweddle et al. (2002) examinaram cerca de 8.000 espécies de espermatófitas, tendo observado que mais de 90% delas tem sementes tolerantes à dessecação. Há divergências quanto à classificação de algumas espécies e novos estudos são necessários.

A aquisição da tolerância à dessecação em tecidos vegetativos coincide com a colonização do ambiente terrestre há cerca de 500 milhões de anos, sugerindo que esta característica é ancestral e foi perdida e readquirida inúmeras vezes ao longo da evolução (Dickie & Pritchard, 2002).

A maioria das espécies atuais de Gimnospermas tem sementes ortodoxas. As famílias com maior presença de recalcitrantes são as Araucariaceae e as Podocarpaceae, no entanto, não é possível inferir essa característica a partir do registro fóssil (Alpert & Oliver, 2002; Dickie & Pritchard, 2002; Farrant et al., 1989).

Análises de DNA sugerem que o ancestral das Angiospermas deve ter sido uma planta herbácea com sementes pequenas, para as quais a tolerância à dessecação seria um caráter adaptativo (Dickie & Pritchard, 2002). No entanto, evidências anatômicas indicam que a sensibilidade à dessecação é o caráter primitivo, ao menos para as sementes das dicotiledôneas (von Teichman & Van Wyk, 1991; 1994), mas parece não haver relação filogenética entre as espécies atuais com sementes recalcitrantes (Pammenter & Berjak, 2000). Elas são particularmente abundantes entre as Laurales e Magnoliales que fazem parte do

grupo basal. Entre as monocotiledôneas, ocorrem em várias ordens, sendo mais notável a sua presença em Arecales. No grupo das Eurosidae, são freqüentes em Malvales e Sapindales, mas também ocorrem em outras ordens. Nas Asteridae, são freqüentes apenas em Ericales. Ao se examinar a distribuição de sementes recalcitrantes em relação às famílias, verifica-se que algumas têm maior freqüência do fenômeno, como no caso extremo de Fagaceae com mais de 80% das espécies nessa categoria (Dickie & Pritchard, 2002).

Dentre as famílias predominantemente tropicais e subtropicais, destacam-se as Lauraceae, Sapotaceae, Moraceae e Myrtaceae, as quais têm grande representatividade na flora brasileira e um número significativo de espécies com sementes recalcitrantes (Davide et al., 2003; Dickie & Pritchard, 2002; Joly, 1979; Judd et al., 2002; Sautu, et al., 2006).

O estudo para espécies nativas do Brasil tem revelado inúmeras delas, cujas sementes são recalcitrantes (Andrade & Ferreira, 2000; Anjos & Ferraz 1999; Barbedo et al., 1998; Barbedo & Cícero, 2000; Bilia et al., 1999; Bulow et al., 1994; Delgado, 2006; Faria et al., 2004; Farias Neto et al., 1991; Ferreira & Gentil, 2003; Kohama et al., 2006; Maluf et al., 2003; Martins et al., 1999; 2000; 2003; Oliveira & Valio, 1992; Valio & Ferreira, 1992).

Este estudo pretende oferecer uma contribuição ao conhecimento de Myrtaceae com relação à recalcitrância. Foram compilados dados de algumas espécies de *Eugenia* que ocorrem no Brasil. Dentre as espécies listadas na tabela 1, verifica-se a curta longevidade das sementes, estando de acordo com o estudo de Delgado (2006), que observou recalcitrância em todas as espécies de *Eugenia* analisadas. A dispersão das sementes ocorre no período mais chuvoso do ano (Brasil, 1992), com a fenologia ajustada às variações de disponibilidade de água, do mesmo modo que outras espécies recalcitrantes de clima marcadamente sazonal (Pritchard et al., 2004).

TABELA 1. Características gerais de espécies de *Eugenia* (Myrtaceae) e longevidade das sementes em diferentes condições de armazenamento.

Espécies	Nomes vulgares	Época de floração	Época de frutificação	Hábito	Ambiente	Viabilidade das sementes no armazenamento	Referências
<i>E. bracteata</i> (Vell.) DC.	Cerejeira, grão-de-galo	SI	SI	Árvore	Mata semi-decídua, mata ciliar	SI	Paula et al. (1996)
<i>E. brasiliensis</i> Lam.	Grumixama	Set.-nov.	Nov-dez	Árvore	Mata pluvial atlântica	180 dias com 10 <sup>-4</sup> M de ABA, a 15°C	Goldbach (1979)
<i>E. calycina</i> Camb.	Pitanga-do-cerrado, pitanga-vermelha	SI	Out.-nov.	Subarbusto	Cerrado, matas ciliares	21 dias em saco de papel, a 10°C	Bulow et al. (1994); Silva et al. (2001)
<i>E. dysenterica</i> DC.	Cagaiteira	Ago.-set.	Out-nov,	Árvore	Cerrado ss, mesotrófico e distrófico	175 dias, a 5°C, em sacos de polietileno microperfurados	Andrade et al. (2003)
<i>E. florida</i> DC.= <i>E. gardneriana</i> Berg	Guamirim, gumirim, pimenteira	Jul.-dez.	Nov.-dez.	Árvore	Mata galeria, mata mesófila, cerradão e vegetação secundária	Zero após 90 dias, a 5°C, em filme de polietileno semipermeável	Carvalho et al. (2006); Oliveira & Paula (2001); Ressel et al. (2004)
<i>E. handroana</i> D. Legrand.= <i>E. pleurantha</i>	Pitanga-do-mato, cafezinho	SI	Set.-out.	Árvore	SI	Zero após 90 dias, a 5°C, em filme de polietileno semipermeável	Carvalho et al. (2006); Masetto (2005)

ABA = ácido abscísico

(continua na próxima página)



TABELA 1. continuação.

<b>Espécies</b>	<b>Nomes vulgares</b>	<b>Época de floração</b>	<b>Época de frutificação</b>	<b>Hábito</b>	<b>Ambiente</b>	<b>Viabilidade das sementes no armazenamento</b>	<b>Referências</b>
<i>E. involucrata</i> DC.	Cerejeira-do-rio-grande	Set.-nov.	Out.-dez.	Árvore	Mata de altitude, pinhais	120 dias, a 8°C, em sacos de polietileno microperfurados	Maluf et al. (2003)
<i>E. klotzchiana</i> O. Berg	Pêra-do-cerrado, cabacinha-do-campo	Set.	Jan.	Arbusto	Cerrado ss, campo sujo	SI	Silva et al. (2001)
<i>E. lutescens</i> Camb.	Perinha, uvaia, pitomba	SI	Set.-nov.	Arbusto	Cerrado	SI	Silva et al. (2001)
<i>E. pyriformis</i> Camb.	Uvaia	Ago.-set.	Set.-nov.	Árvore	Mata semi-decídua	60 dias, a 5°C, e 90% de UR em câmara fria	Andrade & Ferreira (2000)
<i>E. uniflora</i> L.	Pitanga	Ago.-nov.	Out.-jan.	Arbusto/Árvore	Restinga e cultivada	SI	Lorenzi (2002)
<i>E. uvalha</i> Camb.	Uvaia gigante	Ago.-set.	Outubro	Árvore	Mata	120 dias, a 13°C, em frascos plásticos com tampa	Scalon et al. (2004)

SI = sem informação

UR = umidade relativa de armazenamento

## 2.7 Considerações finais

A sensibilidade à dessecação representa um desafio para a conservação *ex situ* das espécies. A necessidade de formação de bancos de germoplasma tem incentivado a pesquisa de métodos inovadores de conservação (Salomão, 2002).

Múltiplos mecanismos participam da tolerância à dessecação, mas existem semelhanças fisiológicas e bioquímicas entre os diferentes organismos analisados. Existem dúvidas com relação ao papel dos oligossacarídeos na aquisição da tolerância e à alteração da expressão gênica durante a dessecação, entre outros aspectos (Black et al., 2002). Ou seja, ainda há muito a ser compreendido. Novas técnicas e abordagens podem ser necessárias.

O estudo de aspectos evolutivos e ecológicos pode também responder a algumas questões, pois as condições ambientais impõem limites à distribuição das espécies com sementes recalcitrantes e podem representar pressões seletivas.

## 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA-CORTEZ, J. S. de. Dispersão e banco de sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

ALPERT, P.; OLIVER, M. J. Drying without dying. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 3-43.

ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.

ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

- ANJOS, A. M. G.; FERRAZ, I. D. K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 29, n. 3, p. 337-348, set. 1999.
- APEL, M. A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C.; BESSIERE, J. Chemical composition of the essential oils of *Eugenia beaurepaireana* and *Eugenia pyriformis*. Section Dichotomae. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 16, n. 3, p. 191-192, May/June 2004.
- ASSY-BAH, B.; ENGELMANN, F. Cryopreservation of mature embryos of coconut (*Cocos nucifera* L.) and subsequent regeneration of plantlets. **Cryo-Letters**, Cambridge, v. 13, n. 2, p. 117-126, Mar./Apr. 1992.
- BAILLY, C.; AUDIGIER, C.; LADONNE, F.; WAGNER, M. H.; COSTE, F.; CORBINEAU, F.; COME, D. Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 52, n. 357, p. 701-708, Apr. 2001.
- BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 121-125, 1998. Especial.
- BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. The effects of initial quality, low temperature and ABA on the imbibed storage of seeds of *Inga uruguensis*, a tropical species with recalcitrant seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 3, p. 793-808, 2000.
- BARBEDO, C. J.; KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C. Germinação e armazenamento de diásporos de cerejeira (*Eugenia involuocrata* DC. - Myrtaceae) em função do teor de água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 184-188, 1998.
- BARBEDO, C. J.; MARCOS-FILHO, J. Tolerância a dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 12, p. 145-164, 1998.
- BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C. L.; LIMA, H. C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 377 p.
- BARTELS, D.; SALAMINI, F. Desiccation tolerance in the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. A contribution to the study of drought tolerance at the molecular level. **Plant Physiology**, Rockville, v. 127, n. 4, p. 1346-1353, Dec. 2001.
- BAYLEY, M.; PETERSEN, S. O.; KNIGGE, T.; KÖHLER, H. -R.; HOLMSTRUP, M. Drought acclimation confers cold tolerance in the soil

collembolan *Folsomia candida*. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 47, n. 10, p. 1197-1204, Sept. 2001.

BEARDMORE, T.; WHITTLE, C. -A. Induction of tolerance to desiccation and cryopreservation on silver maple (*Acer saccharinum*) embryonic axes. **Tree Physiology**, Victoria, v. 25, n. 8, p. 965-972, Aug. 2005.

BECWAR, M. R.; STANWOOD, P. C.; ROOS, E. E. Dehydration effects on imbibitional leakage from desiccation sensitive seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, n. 5, p. 1132-1135, May 1982.

BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; MYCOCK, D.; PAMMENTER, N. W. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: The enigma of their desiccation sensitivity. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 2, p. 297-310, 1990.

BERJAK, P.; MYCOCK, D. Calcium, with magnesium, is essential for normal seedling development from partially dehydrated recalcitrant axes: a study on *Trichilia dregeana* Sond. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 217-231, June 2004.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Orthodox and recalcitrant seeds. In: VOZZO, J. A. (Ed.). **Tropical tree seed manual**. United States Department of Agriculture. Forest service. 2002. p. 137-147. Disponível em: <<http://www.rngr.net/publication/ttsm/ch4>>. Acesso em: 04 ago. 2004.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Progress in the understanding and manipulation of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds. In: ELLIS, R. M.; BLACK, M.; MURDOCH, A. J.; HONG, T. D. (Ed.) **Basic and applied aspects of seed biology**: proceedings of the fifth international workshop on seeds. Reading, 1995, Kluwer Academic Publishers, 1997. p. 689-703.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 22-55, 2000. Número especial.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. Homoiohydrous (Recalcitrant) seeds: Developmental status, desiccation sensitivity, and the state of water in axes of *Landolphia kirkii* Dyer. **Planta**, Berlin, v. 186, n. 2, p. 249-261, Jan. 1992.

BERJAK, P.; WALKER, M.; MYCOCK, D. J.; WESLEY-SMITH, J.; WATT, P.; PAMMENTER, N. W. Cryopreservation of recalcitrant zygotic embryos. In: ENGELMANN, F.; TAKAGI, H. (Ed.). **Cryopreservation of tropical plant germplasm**. Rome: IPGRI, 2000. p. 140-155.

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

- BILIA, D. A. C.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. C. L. Desiccation tolerance and seed storability of *Inga uruguensis* (Hook. et Arn.). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 77-89, 1999.
- BLACK, M.; CORBINEAU, F.; GEE, H.; COME, D. Water content, raffinose, and dehydrin in induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, n. 2, p. 463-471, June 1999.
- BLACK, M. B.; OBENDORF, R. L.; PRITCHARD, H. W. Damage and tolerance in retrospect and prospect. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 368-372.
- BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: Drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. 412 p.
- BONNER, F. T. Responses to drying of recalcitrant seeds of *Quercus nigra*. **Annals of Botany**, London, v. 78, n. 2, p. 181-187, Aug. 1996.
- BONNER, F. T. Storage of seeds: potential and limitations for germoplasm conservation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 35, n. 1/2, p. 35-43, June 1990.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Normais climatológicas**. 1961-1990. Brasília, 1992. 84 p.
- BUITINK, J.; HOEKSTRA, F. A.; LEPRINCE, O. Biochemistry and biophysics of tolerance system. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 293-318.
- BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, San Diego, v. 48, n. 3, p. 215-228, June 2004.
- BULOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 961-970, jun. 1994.
- CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A. A. da; DAVIDE, A. C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento de armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 15-25, 2006.
- CHANDEL, K. P. S.; CHAUDHURY, R.; RADHAMANI, J; MALIK, S. K. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 5, p. 443-450, Nov. 1995.

COSTA, I. R. da. **Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil.** 2004. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas.

DAVIDE, A. C.; CARVALHO, L. R. de; CARVALHO, M. L. M. de; GUIMARÃES, R. M. Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais pertencentes à família Lauraceae quanto à capacidade de armazenamento. **Cerne**, Lavras, v. 9, n. 1, p. 29-35, 2003.

DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de *Eugenia*.** 2006. 96 p. Dissertação de (Mestrado) – Instituto de Botânica, São Paulo. Disponível em: <<http://www.ibot.sp.gov.br/teses/liliana2006.pdf>. > Acesso em: 10 ago. 2006.

DICKIE, J. B.; PRITCHARD, H. W. Systematic and evolutionary aspects of desiccation tolerance in seeds. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying.** Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 239-259.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras.** Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288 p.

DREW, P. J.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. 'Sub-imbibed' storage is not an option for extending longevity of recalcitrant seeds of the tropical species, *Trichilia dregeana* Sond. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 355-363, Sept. 2000.

ELLIS, R. H. The longevity of seeds. **Hortscience**, Alexandria, v. 26, p. 429-436, 1984.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, Sept. 1990.

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

FARIAS NETO, A. L. de; FONSECA, C. E. L. da; GOMIDE, C. C. C.; SILVA, J. A. da. Armazenamento de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 55-62, 1991.

FARNSWORTH, E. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 31, p. 107-138, 2000.

FARRANT, J. M.; BAILLY, C.; LEYMARIE, J.; HAMMAN, B.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Wheat seedlings as a model to understand desiccation

tolerance and sensitivity. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 120, n. 2, p. 563-574, June 2004.

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

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Germination associated events and desiccation sensitivity of recalcitrant seeds –a study on three unrelated species. **Planta**, Berlin, v. 178, n. 2, p. 189-198, May 1989.

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

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Seed development in relation to desiccation tolerance: a comparison between desiccation sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* and desiccation tolerant types. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 1-1, 1993.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant seeds with storage time. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 67, n. 2, p. 291-298, June 1986.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; FARNSWORTH, E.; VERTUCCI, C. W. Presence of dehydrin-like proteins and levels of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, n. 2, p. 175-182, June 1996.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; WALTERS, C. Subcellular organization and metabolic activity during the development of seeds that attain different levels of desiccation tolerance. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, p. 135-144, 1997.

FERRAZ, I. D. K.; LEAL FILHO, N.; IMAKAWA, A. M.; VARELA, V. P.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Características básicas para um agrupamento ecológico preliminar de espécies madeireiras da floresta de terra firme da Amazônia Central. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 34, n. 4, p. 621-633, dez. 2004.

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

- FINCH-SAVAGE, W. E. Embryo water status and survival in the recalcitrant species *Quercus robur* L.: evidence for a critical moisture content. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 250, p. 663-669, May 1992.
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JÚNIOR, A. Fenologia da floração e maturação dos frutos da uvalheira (*Eugenia pyriformis* Camb.), em Pelotas, RS. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1., 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 397-402. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 123).
- FU, J. R.; ZHANG, B. Z.; WANG, X. P.; QIAO, Y. Z.; HUANG, X. L. Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 3, p. 743-754, 1990.
- GALAU, G. A.; JACOBSEN, K. S.; HUGHES, D. W. The controls of late dicot embryogenesis and early germination. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 81, n. 2, p. 280-288, Feb. 1991.
- GONZALEZ-BENITO, M. E.; PRIETO, R. M.; HERRADON, E.; MARTIN, C. Cryopreservation of *Quercus suber* and *Quercus ilex* embryonic axes: in vitro culture, desiccation and cooling factors. **Cryoletters**, London, v. 23, n. 5, p. 283-290, Sep./Oct. 2002.
- GOYAL, K.; TISI, L.; BASRAN, A.; BROWNE, J.; BURNELL, A.; ZURDO, J.; TUNNACLIFFE, A. Transition from native unfolded to folded state induced by desiccation in an anhydrobiotic nematode protein. **Journal of Biological Chemistry**, Rockville, v. 278, n. 15, p. 12977-12984, Apr. 2003.
- GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W. E.; ATHERTON, N. M.; BERJAK, P. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 235-242, Sept. 2001.
- GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W. E.; QUICK, W. P.; ATHERTON, N. M. Putative desiccation tolerance mechanisms in orthodox and recalcitrant seeds of the *Acer* genus. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 317-327, Sept. 2000.
- HINCHA, D. K.; ZUTHER, E.; HEYER, A. G. The preservation of liposomes by raffinose family oligosaccharides during drying is mediated by effects on fusion and lipid phase transitions. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1612, n. 2, p. 172-177, June 2003.



HOEKSTRA, F. A.; CROWE, L. M.; CROWE, J. H. Differential desiccation sensitivity of corn and *Pennisetum* pollen linked to their sucrose contents. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 83-91, Jan. 1989.

HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, London, v. 6, n. 9, p. 431-438, Sept. 2001.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. Disponível em: <[www.ipgri.cgiar.org/Publications/pubfile.asp?id\\_pub=137](http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/pubfile.asp?id_pub=137)>. Acesso em: 22 abr. 2005.

HONG, T. D.; LININGTON, S.; ELLIS, R. H. **Seed storage behaviour: a compendium**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. (Handbooks for genenbanks, n. 4). Disponível em: <[www.ipgri.cgiar.org/themes/exsitu/seed\\_compendium.htm](http://www.ipgri.cgiar.org/themes/exsitu/seed_compendium.htm)>. Acesso em: 10 maio 2005.

HORBOWICZ, M.; OBENDORF, R. L.; McKERCSIE, B. D.; VIANDS, D. R. Soluble saccharides and cyclitols in alfafa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos, leaflets, and mature seeds. **Plant Science**, Clare, v. 109, n. 2, p. 191-198, Aug. 1995.

HUGHES, D. W.; GALAU, G. A. Developmental and environmental induction of Lea and Lea mRNAs and the posabscission program during embryo culture. **The Plant Cell**, Rockville, v. 3, n. 6, p. 605-618, June 1991.

INGRAM, J.; BARTELS, D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 47, p. 377-403, 1996.

JANEIRO, L. V.; VIEITEZ, A. M.; BALLESTER, A. Cryopreservation of somatic embryos and embryonic axes of *Camellia japonica* L. **Plant Cell Reports**, New York, v. 15, n. 9, p. 699-703, May 1996.

JOLY, A. B. **Botânica: uma introdução à taxonomia vegetal**. 5. ed. São Paulo: Editora Nacional, 1979. 777 p.

JUDD, W.; CAMPBELL, C. S.; KELLOG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOHUE, M. J. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates. 2002. 576 p.

KAGEYAMA, P. Y.; VIANA, V. M. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. Piracicaba: ESALQ/USP, 1989, 19 p. In: **Simpósio Brasileiro sobre Tecnologia de Sementes Florestais**, 2. 1989, São Paulo.

- KERMODE, A. R.; FINCH-SAVAGE, B. E. Desiccation sensitivity on orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 149-184.
- KING, M. W.; ROBERTS, E. H. The imbibed storage of cocoa (*Theobroma cacao*) seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, n. 3, p. 535-540, 1982.
- KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.
- KRISHNAPILLAY, D. B.; ENGELMANN, F. Alternative methods for the storage of recalcitrant and intermediate seeds: slow growth and cryopreservation. In: OUEDRAOGO, A. S.; POULSEN, K.; STUBSGAARD, F. (Ed.). **Intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds**. Proceedings of a workshop on improved methods for handling and storage of intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds. 8-10 June 1995. Humlebaek, Denmark: Danida Forest Centre, 1996.
- KUBOTA, K. Y.; OHARA, T. T.; BACCHI, E. M. Determinação do valor de concentração mínima inibitória de tinturas vegetais pelo método de diluição em meio líquido utilizando microplacas. **LECTA**, Bragança Paulista, v. 19, n. 1/2, p. 35-40, 2001.
- LEAL, M. A. G. **Fórum do Atelier do Bonsai**. 2005. Disponível em: <<http://www.atelierdobonsai.com.br/forum/viewtopic.php?t=355&start=0&postdays=0&postorder=asc&highlight=>>. Acesso em: 14 jan. 2006.
- LEPRINCE, O.; DELTOUR, R.; HENDRY, G. A. F. Impaired NADPH metabolism during loss of desiccation tolerance in germinating *Zea mays* seeds. In: CÔME, D.; CORBINEAU, F. (Ed.) **Fourth international workshop on seeds: basic and applied aspects of seed biology**. Paris: ASFIS, 1993. p. 393-397.
- LEPRINCE, O.; DELTOUR, R.; THORPE, P. C.; ATHERTON, N. M.; HENDRY, G. A. F. The role of free radical processing system in loss of desiccation tolerance in germinating maize (*Zea mays* L.) seeds. **New Phytologist**, Cambridge, v. 116, n. 4, p. 573-580, Dec. 1990.
- LI, C.; SUN, W. Q. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 209-217, Sept. 1999.

- LIANG, Y.; SUN, W. Q. Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes: the optimal drying rate and its physiological basis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 352, p. 1911-1919, Nov. 2000.
- LIN, Y.; QIN, Y. -P.; ZHANG, L.; CHEN, J. Dormancy breaking and storage behaviour of *Garcinia cowa* Roxb. (Guttiferae) seeds. Implication for ecological and germplasm conservation. **Journal of Integrative Plant Biology**, Beijing, v. 47, n. 1, p. 38-49, 2005.
- LINDQUIST, S.; CRAIG, E. A. The heat shock proteins. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 22, p. 631-677, 1988.
- LOGAN, D. C.; MILLAR, H.; SWEETLOVE, L. J.; HILL, S. A.; LEAVER, C. J. Mitochondrial biogenesis during germination in maize embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 2, p. 662-672, Feb. 2001.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 1 e 2.
- MA, X.; JAMIL, K.; MACRAE, T. H.; CLEGG, J. S.; RUSSELL, J. M.; VILLENEUVE, T. S.; EULOTH, M.; SUN, Y.; CROWE, J. H.; TABLIN, F.; OLIVER, A. E. A small stress protein acts synergistically with trehalose to confer desiccation tolerance on mammalian cells. **Cryobiology**, San Diego, v. 51, n. 1, p. 15-28, Aug. 2005.
- MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, Jul./Sept. 2003.
- MAO, Z.; PAIVA, R.; KRIZ, A. L.; JUVIK, J. A. Dehydrin gene expression in normal and *viviparous* embryos of *Zea mays* during seed development and germination. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 33, n. 6, p. 649-653, June 1995.
- MARIMON, B. S.; FELFILI, J. M. Chuva de sementes em uma floresta monodominante de *Brosimum rubescens* Taub. e em uma floresta mista adjacente no Vale do Araguaia, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 423-432, abr./jun. 2006.
- MARTINS, C. C.; BOVI, M. L. A.; NAKAGAWA, J. Desiccation effects on germination and vigor of king palm seeds. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 88-92, mar. 2003.
- MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Desiccation tolerance of four seed lots from *Euterpe edulis* Mart. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 1, p. 101-1113, 2000.

- MARTINS, C. C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M. L. A. Tolerância à dessecação de sementes de palmito vermelho (*Euterpe espirosantensis* Fernandes). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 391-396, dez. 1999.
- MASETTO, T. E. **Estudo da sensibilidade à dessecação em sementes de *Eugenia handroana* D. Legrand (Myrtaceae)**. 2005. 60 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. Disponível em: <<http://www.cemac.dcf.ufla.br>>. Acesso em: 22 abr. 2006
- NASCIMENTO, A. R. T.; LONGHI, S. J.; BRENA, D. A. Estrutura e padrões de distribuição especial de espécies arbóreas em uma amostra de floresta ombrófila mista em Nova Prata-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 105-119, jun. 2001.
- NEVES, C. S. V. J. Sementes recalcitrantes – revisão de literatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 1459-1467, set. 1994.
- NORMAH, N. M.; CHIN, H. F.; HOR, Y. L. Desiccation and cryopreservation of embryonic axes of *Hevea brasiliensis*. Muell. -Arg. **Pertanika**, Sepangor, v. 9, p. 299-303, 1986.
- OLIVEIRA, L. M.; VALIO, I. F. M. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 1, p. 1-5, Jan. 1992.
- OLIVEIRA, P. E. A. M. de; PAULA, F. R. de. Fenologia e biologia reprodutiva de plantas de matas de galeria. In: RIBEIRO, J. F.; LAZARINI, C. E.; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. p. 303-332.
- OLIVER, A. E.; LEPRINCE, O.; WOLKERS, W. F.; HINCHA, D. K.; HEYER, A. G.; CROWE, J. H. Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. **Cryobiology**, San Diego, v. 43, n. 2, p. 151-167, Sept. 2001.
- OSBORNE, D. J.; BOUBRIAK, I.; LEPRINCE, O. Rehydration of dried systems: membranes and the nuclear genome. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: Drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 343-354.
- OUEDRAOGO, A. S.; POULSEN, K.; STUBSGAARD, F. (Ed.). **Intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds: proceedings of a workshop on improved methods for handling and storage of intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds**. 8-10 June 1995, Humlebaek, Denmark: Danida Forest Centre, 1996. 169 p.

- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 301-306, Sept. 2000.
- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-27, Mar. 1999.
- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; WESLEY-SMITH, J.; WILLIGEN, C. V. Experimental aspects of drying and recovery. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 93-110.
- PAMMENTER, N. W.; FARRANT, J. M.; BERJAK, P. Recalcitrant seeds: short term storage effects in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierrh. May be germination-associated. **Annals of Botany**, London, v. 54, n. 6, p. 843-846, 1984.
- PAMMENTER, N. W.; GREGAINS, V.; KIOKO, J. I.; WESLEY-SMITH, J.; BERJAK, P.; FINCH-SAVAGE, W. E. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Ekebergia capensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 4, p. 463-471, Dec. 1998.
- PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W.; BERJAK, P. Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landorpha kirki*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 4, p. 1093-1098, Aug. 1991.
- PAULA, J. E. de; IMAÑA-ENCINAS, J.; PEREIRA, B. A. S. Parâmetros volumétricos e da biomassa da mata ripária do Córrego dos Macacos. **Cerne**, Lavras, v. 2, n. 2, p. 91-105, 1996. Disponível em: <[http://www.dcf.ufla.br/cerne/revistav2n2-1996/021\\_95.PDF](http://www.dcf.ufla.br/cerne/revistav2n2-1996/021_95.PDF)>. Acesso em: 09 abr. 2005.
- PERAN, R.; BERJAK, P.; PAMMANTER, N. W.; KIOKO, J. S. Cryopreservation, encapsulation and promotion of shoot production of embryonic axes of a recalcitrant species *Ekebergia capensis*, Sparrm. **Cryoletters**, London, v. 27, n. 1, p. 5-16, Jan./Feb. 2006.
- PERAN, R.; PAMMENTER, N. W.; NAICKER, J.; BERJAK, P. The influence of rehydration technique on response of recalcitrant seed embryos to desiccation. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 179-184, June 2004.
- PHILLIPS, J. R.; OLIVER, M. J.; BARTELS, D. Molecular genetics of desiccation and tolerant systems. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (eds.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 319-341.

- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; COSTA, L. G. S.; REIS, A. Estratégias de estabelecimento de espécies arbóreas e o manejo de florestas tropicais. In: CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 6., Campos do Jordão, 1990, **Anais...**, Campos do Jordão: SBS-SBEF, p. 677-684.
- PÓCSI, I.; PRADE, R. A.; PENNINCKX, M. J. Glutathione, altruistic metabolite in fungi. **Advances in Microbial Physiology**, New York, v. 49, p. 1-76, 2004.
- PRITCHARD, H. W. Water potential and embryonic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra*. **Annals of Botany**, London, v. 67, n. 1, p. 43-49, Jan. 1991.
- PRITCHARD, H. W.; DAWS, M. I.; FLETCHER, B. J.; GAMENE, C. S.; MSANGA, H. P.; OMONDI, W. Ecological correlates of seed desiccation tolerance in tropical dryland trees. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 91, n. 6, p. 863-870, June 2004.
- PROCTOR, M. C. F.; TUBA, Z. Poikilohydry and homoihydry: antithesis or spectrum of possibilities. **New Phytologist**, Cambridge, v. 156, n. 3, p. 327-349, Dec. 2002.
- RESSEL, K.; GUILHERME, F. A. G.; SCHIAVINI, I.; OLIVEIRA, P. E. Ecologia morfo-funcional de plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 311-323, abr./jun. 2004.
- ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 499-514, 1973.
- RONDON NETO, R. M.; WATZLAWICK, L. F.; CALDEIRA, M. V. W.; SCHOENINGER, E. R. Análise florística e estrutural de um fragmento de floresta ombrófila mista Montana, situado em Criúva-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 29-37, jun. 2002.
- RYE, B. L. Chromosome number variation in the Myrtaceae and its taxonomic implications. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 27, n. 5, p. 547-573, 1979.
- SALOMÃO, A. N. Tropical seed species responses to liquid nitrogen exposure. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 14, n. 2, p. 133-138, 2002.
- SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 70-84, 2000. Edição especial.
- SAUTU, A.; BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C.; CONDIT, R. Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest,

- Panama, Central America. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 234, p. 245-263, 2006.
- SCALON, S.; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R. Armazenamento e germinação de sementes de uvaia *Eugenia uvalha* Cambess. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1228-1234, nov./dez. 2004.
- SCHMEDA-HIRCHMANN, G.; THEODOLUZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; ARIAS, A. R. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora*: xantina oxidase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 21, n. 2, p. 183-186, Nov. 1987.
- SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Denmark, Danida: Forest Seed Centre. 2000. 511 p.
- SCOTT, P. Resurrection plants and the secrets of eternal leaf. **Annals of Botany**, London, v. 85, n. 2, p. 159-166, Feb. 2000.
- SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do Cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 178 p.
- SINNIAH, U. R.; ELLIS, R. H.; JOHN, P. Irrigation and seed quality development in rapid-cycling *Brassica*: soluble carbohydrates and heat-stable proteins. **Annals of Botany**, London, v. 82, n. 5, p. 647-655, Nov. 1998.
- SOULAGES, J. L.; KIM, K.; WALTERS, C.; CUSHMAN, J. C. Temperature-induced extended helix/random coil transitions in a group 1 late embryogenesis-abundant protein from soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v. 128, n. 3, p. 822-832, Mar. 2002.
- STEADMAN, K. J.; PRITCHARD, H. W.; DEY, P. M. Tissue-specific soluble sugars in seeds as indicator of storage category. **Annals of Botany**, London, v. 77, n. 6, p. 667-674, June 1996.
- SUN, W. Q. State and phase transition behaviors of *Quercus rubra* seed axes and cotyledonary tissues: relevance to the desiccation sensitivity and cryopreservation of recalcitrant seeds. **Cryobiology**, San Diego, v. 38, n. 4, p. 372-385, June 1999.
- SUN, W. Q.; DAVIDSON, P.; CHAN, H. S. O. Protein stability in the amorphous carbohydrate matrix: relevance to anhydrobiosis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, Amsterdam, v. 1425, n. 1, p. 245-254, 16 Sep. 1998.
- SUN, W. Q.; LEOPOLD, A. C. Cytoplasmic vitrification and survival of anhydrobiotic organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, Oxford, v. 117, n. 3, p. 327-333, July 1997.

- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2<sup>nd</sup> ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 792 p.
- THEODOLUZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; SCHMEDA-HIRCHMANN, G. Xanthine oxidase inhibitory activity of Paraguayan Myrtaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 24, n. 2/3, p. 179-183, Dec. 1988.
- TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; ARRIGONI, O. The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 105, n. 2, p. 193-198, Feb. 1999.
- TOMPSETT, P. B.; PRITCHARD, H. W. Effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L. seeds. **Annals of Botany**, London, v. 82, n. 2, p. 249-261, Aug. 1998.
- TOMPSETT, P. B.; PRITCHARD, H. W. Water status changes during development in relation to germination and desiccation tolerance of *Aesculus hippocastanum* L. seeds. **Annals of Botany**, London, v. 71, n. 2, p. 107-116, Feb. 1993.
- TWEEDLE, J. C.; DICKIE, J. B.; BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 91, n. 2, p. 294-304, Apr. 2003.
- TWEEDLE, J. C.; TURNER, R. M.; DICKIE, J. B. **Seed information database**. (release 3. 0, July 2002) 2002. Disponível em: <<http://www.rbgkew.uk/data/sid.>> Acesso em: 30 set. 2006.
- VALIO, I. F. M.; FERREIRA, Z. de L. Germination of seeds of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 95-98, dez. 1992.
- VAZQUEZ-YANES, C.; OROZCO-SEGOVIA, A. Patterns of seed longevity and germination in tropical rain forest. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 24, p. 69-87, 1993.
- VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIEGEL, J.; GALILI, G. (Ed.) **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.
- VON TEICHMAN, I.; VAN WYK, A. E. Structural aspects and trends in the evolution of recalcitrant seeds in dicotyledons. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 4, p. 225-239, 1994.
- VON TEICHMAN, I.; VAN WYK, A. E. Trends in the evolution of dicotyledoneous seeds based on character associations, with special reference to



pachychalazy and recalcitrance. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 105, n. 3, p. 211-237, Mar. 1991.

WALTERS, C. Levels of recalcitrance in seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 7-21, 2000. Especial.

WALTERS, C.; FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Desiccation stress and damage. In: In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 263-291.

WESLEY-SMITH, J. WALTERS, C.; BERJAK, P.; PAMMANTER, N. W. The influence of water content, cooling, and warming rate upon survival of embryonic axes of *Poncirus trifoliata* (L.). **Cryoletters**, London, v. 25, n. 2, p. 129-138, Mar./Apr. 2004.

WISE, M. J.; TUNNACLIFFE, A. POPP the question: what do LEA proteins do? **Trends in Plant Science**, London, v. 9, n. 1, p. 13-17, Jan. 2004.

WOLKERS, W. F.; McCREADY, S.; BRANDT, W. F.; LIDSEY, G. G.; HOEKSTRA, F. A. Isolation and characterization of a D-7 LEA protein from pollen that stabilizes glasses in vitro. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1544, p. 196-206, 2001.

WOOD, C. B.; PRITCHARD, H. W.; LINDEGAARD, K. Seed cryopreservation and longevity of two *Salix* hybrids. **Cryoletters**, London, v. 24, n. 1, p. 17-26, Jan./Feb. 2003.

ZAMITH, L. R.; SCARANO, F. R. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 161-176, jan./mar. 2004.



## **CAPÍTULO II**

### **COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CURVA DE EMBEBIÇÃO E EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Eugenia pyriformis* Camb. (MYRTACEAE)**

## 1 RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. Composição química, curva de embebição e efeito da temperatura sobre a germinação de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae). In: \_\_\_\_\_. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006. Cap. 2, p. 39-65. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea que produz frutos saborosos. Suas sementes são grandes e pouco numerosas. O experimento foi conduzido com o objetivo de estabelecer sua composição química, sua curva de embebição e seu desempenho germinativo sob diferentes temperaturas. O teor de água das sementes é alto, indicando recalcitrância. As sementes de *E. pyriformis* são amiláceas. As sementes atingiram elevada porcentagem de germinação em todos os regimes térmicos experimentados (20°C, 25°C, 30°C e 25°C/15°C, 30°C/20°C). Não foi possível estabelecer a temperatura mínima ( $T_{min}$ ) e a temperatura máxima de germinação ( $T_{max}$ ). O maior IVG e tempo médio de germinação ocorreram a 25°C, levando à conclusão de que esta é a temperatura ótima de germinação da espécie em rolo de papel. Temperaturas alternadas não aumentaram a germinação. O índice de entropia informacional ( $\bar{E}$ ) não discriminou a melhor temperatura de germinação. A porcentagem de plântulas normais e o índice de desenvolvimento das plântulas (IVP) foram maiores a 20°C, enquanto a temperatura inferior para o desenvolvimento inicial das plântulas foi 30°C, pois se observou deterioração dos epicótilos emergidos. O  $T_{50}$  variou entre 15 e 27 dias. A curva de embebição foi obtida a 25°C e aproxima-se do modelo trifásico.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).

## 2 ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. Chemical composition, imbibition curve and effect of temperature on germination of *Eugenia pyriformis* Camb. seeds (Myrtaceae). In: \_\_\_\_\_. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006. Chap. 2, p. 39-65. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. is a neotropical tree, with tasteful fruits. Its seeds are large and scarce. This work was conducted to determinate the chemical constitution of seeds, the imbibition curve and the germination at different temperatures. The water content of seeds is high because they are recalcitrant. Starch is the major stored reserve. The seeds germinated in all experimented temperatures (20°C, 25°C, 30°C e 25/15°C, 30/20°C). It was not possible to determine the minimum ( $T_{min}$ ) and the maximum germination temperature ( $T_{max}$ ). Maximal germinability was reached in all temperatures. Higher Maguire's germination rate index and lower average germination time were seen at 25°C, so this temperature was considered the best for germination of this species in paper rolls. Alternate temperatures do not improve germination. Values of informational entropy ( $\bar{E}$ ) could not be used to distinguish the best temperature. More normal seedlings were obtained at 20°C and development rate was higher at this temperature too. 30°C was the worst temperature for initial seedling development, because epicotiles deteriorated.  $T_{50}$  ranged between 15 and 27 days. Imbibition curve is fairly triphasic.

---

\* Guidance committee: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga (Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea de porte mediano que ocorre naturalmente desde São Paulo até o Rio Grande do Sul, sendo ocasionalmente cultivada em quintais e chácaras. Seu crescimento é relativamente rápido e sua frutificação é precoce (Andrade & Ferreira, 2000). É conhecida popularmente como uvaia, ubaia, uvalha, derivando da denominação indígena *iwa'ya*, cujo significado é fruto ácido (Lorenzi, 2002; Franzon et al., 2004; Leal, 2005). Seus frutos são muito atraentes devido à coloração amarela ou alaranjada e podem ser consumidos *in natura* ou na forma de sucos, sorvetes, geléias e doces (Franzon et al., 2004).

As suas plantas resistem bem a doenças e sua madeira dura tem sido empregada regionalmente para a produção de moirões, estacas, postes, lenha e carvão (Lorenzi, 2002). Produtores de bonsai têm usado a espécie por causa de suas folhas pequenas e aspecto estético (Leal, 2005). A produção de mudas de *E. pyriformis* é dificultada pelo curto período de disponibilidade das sementes, geralmente de setembro a novembro, no sudeste do Brasil (Andrade & Ferreira, 2000; Lorenzi, 2002). O número de matrizes disponíveis, geralmente, também é pequeno (Silva et al., 2003). As sementes apresentam baixa longevidade, recomendando-se seu plantio logo após o despulpamento dos frutos (Lorenzi, 2002).

Testes de germinação sob diferentes temperaturas e substratos foram realizados por Barbosa et al. (1990) para *E. uvalha* Meng. Em outros estudos, a germinação foi realizada a 30°C (Silva et al., 2003), em regime térmico alternado de 20°C-30°C (Andrade & Ferreira, 2000) ou em temperatura não controlada (Scalon et al., 2004). Em cada caso foi usado um substrato diferente, com variado desempenho.

A germinação em rolo de papel permite um acompanhamento constante e visualização facilitada da germinação e do desenvolvimento das plântulas (Brasil, 1992). Estudos com esse tipo de substrato foram realizados com sementes de *E. brasiliensis* Lam. (Kohama et al., 2006) e *E. involucrata* DC. (Barbedo et al., 1998; Maluf et al., 2003).

A germinação de sementes é um processo metabólico que se inicia com a embebição de água pelas sementes e culmina com a protrusão da radícula (Bewley & Black, 1994). A germinação depende de três fatores principais: disponibilidade de água, de oxigênio e de temperatura adequada, exercendo esta última um efeito significativo sobre a germinação de sementes de espécies arbóreas (Medeiros-Silva et al., 2002), com reflexos sobre a germinação total (Ferraz-Grande & Takaki, 2001), a velocidade de germinação (Baptista de Carvalho et al., 2001; Socolowiski & Takaki, 2004) e a sincronização da germinação (Nassif & Perez, 2000). Para algumas espécies, a luz também é um fator indutor da germinação (Ferreira, 2004; Zaidan & Barbedo, 2004).

A germinação e o desenvolvimento de uma plântula dependem das reservas disponíveis, as quais variam em função do tamanho das sementes e da sua composição química. Três tipos básicos de reservas são freqüentemente encontrados em sementes: carboidratos, proteínas e lipídeos. A proporção desses componentes varia muitíssimo, geralmente com o predomínio de um deles (Bewley & Black, 1994; Buckeridge et al., 2004; Melo et al., 2004). Os carboidratos podem ser subdivididos em açúcares solúveis, amido e polissacarídeos de parede (Buckeridge et al., 2004).

Diferentes componentes da semente têm variada afinidade pela água. Assim, as sementes ricas em proteínas ou amido têm um conteúdo mais alto de água do que sementes com elevado conteúdo de lipídeos, os quais estão sujeitos à oxidação, reduzindo a longevidade de sementes oleaginosas (Bewley & Black, 1994; Harrington, 1972; Schmidt, 2000; Villela & Peres, 2004).

A caracterização da composição química das sementes pode auxiliar na produção de mudas de alta qualidade (Marcos-Filho, 2005) e no estabelecimento do potencial de armazenamento das sementes (Freitas et al., 2004; Marcos-Filho et al., 1994). Além disso, não há registro da composição química das sementes de nenhuma espécie do gênero *Eugenia* no *Seed Information Database* (Flynn et al., 2004).

A curva de embebição é um importante procedimento técnico para auxiliar na identificação de dormência associada à dureza e à impermeabilidade do tegumento (Lula et al., 2000).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de padronizar e otimizar as condições de germinação das sementes de *E. pyriformis* em rolo de papel a diferentes temperaturas, estabelecer a curva de embebição à temperatura ótima e determinar a composição química de sementes maduras.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

As sementes foram obtidas de três árvores matrizes localizadas na área urbana do município de Lavras, MG (21°13'40"S e 44°57'50"W GRW), durante a safra de 2004. Uma amostra de material com flores foi depositada no Herbário ESAL da Universidade Federal de Lavras, com número de registro 20468.

Para avaliação do efeito da temperatura, os frutos foram colhidos diretamente das plantas, em estágio de maturação completa, em 8 de outubro de 2004 (Justo et al., 2006), sendo processados em laboratório no mesmo dia para a remoção da polpa. As sementes foram submetidas à lavagem sob água corrente para limpeza e remoção dos resíduos de polpa, sendo mantidos os tegumentos. O lote de sementes continha diferentes tamanhos, que foram distribuídos



equitativamente em todos os tratamentos, uma vez que Andrade & Ferreira (2000) observaram diferença de emergência de acordo com o tamanho das sementes. Apenas as sementes visivelmente chochas foram eliminadas. O excesso de umidade das sementes foi removido com papel-toalha limpo e seco.

Para a avaliação do conteúdo inicial de água das sementes foram tomadas, aleatoriamente, 4 repetições de 10 sementes cada, obtendo-se a sua massa inicial e a final após secagem em estufa a 105°C, durante 24 horas, seguida de resfriamento em dessecador durante 30 minutos (Brasil, 1992). O conteúdo de água foi expresso em base úmida, segundo a fórmula:

$$H_2O (\%) = [(M_i - M_f) / M_i] \times 100 \quad (1)$$

em que:  $M_i$  = massa inicial da amostra e  $M_f$  = massa da amostra após secagem em estufa, a 105°C.

Calculou-se a massa média de sementes individuais a partir das amostras utilizadas para a determinação do grau de umidade. Outra amostra de sementes foi seca e pesaram-se, separadamente, o embrião e o tegumento. Calcularam-se a massa total da semente por soma e a razão tegumento/massa total. Essa razão é equivalente ao *Seed Coat Ratio* (SCR), proposto por Daws et al. (2006). O SCR foi usado pelos referidos autores na previsão da sensibilidade à dessecação em sementes a partir de um modelo matemático desenvolvido com espécies de uma floresta semi-decídua do Panamá. O modelo foi aplicado para as sementes de *E. pyrifomis* e tem a seguinte fórmula:

$$P = \frac{e^{3,269-9,974a + 2,156b}}{1 + e^{3,269-9,974a + 2,156b}} \quad (2)$$

em que:

P = probabilidade de sensibilidade à dessecação com valor entre 0,0 e 1,0

e = 2,718282

a = valor de SCR (razão tegumento/massa seca da semente)

b =  $\log_{10}$  da massa seca da semente em gramas

A assepsia foi realizada mediante a imersão das sementes, durante 3 minutos, em solução de hipoclorito de sódio comercial diluído com água destilada (1:1). Após este tratamento, as sementes foram lavadas cinco vezes em água destilada e, a seguir, imersas em suspensão do fungicida Cercobin®, na concentração de 1,0 g.L<sup>-1</sup>, durante 30 minutos.

Para a condução dos testes de germinação, as sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest®, sendo distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest e cobertas por outra folha de papel umedecida com água destilada na razão de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram mantidos na posição vertical em béqueres de 1,0 L, com uma lâmina de água de 1,0 cm no fundo e cobertos com saco plástico transparente para garantir o máximo de umidade.

Avaliou-se a germinação de sementes recém-coletadas em temperatura constante a 20°C, 25°C e 30°C e sob dois regimes térmicos alternados de 25°C/15°C, 30°C/20°C, num total de cinco tratamentos. Os experimentos foram conduzidos no escuro, em câmaras de germinação tipo Mangelsdorff, para as temperaturas constantes (marca DE LEO) e em câmaras de germinação do tipo BOD, para as temperaturas alternadas (marca Eletrolab, modelo 102G).

Como critério de germinação foi considerada a protrusão de 2 mm de radícula, avaliando-se a intervalos de 2 dias, durante 90 dias. As sementes germinadas foram mantidas no rolo de papel para acompanhamento do crescimento inicial e contagem de plântulas normais, a cada 10 dias, retirando-as do rolo de papel após atingirem, no mínimo, 10 mm de altura de epicótilo com primórdios foliares e 30 mm de comprimento raiz com aspecto saudável (ápice branco leitoso).

Consideraram-se como plântulas anormais aquelas com ápice da raiz ou epicótilo escurecidos, ausência de epicótilo ou de raiz, raiz ou parte aérea que não atingiram o tamanho mínimo ao final do experimento.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições de 25 sementes para cada temperatura. Os resultados foram expressos em termos de porcentagem de germinação após 90 dias [ $G(\%) = (\sum n_i) \cdot N^{-1} \cdot 100$ , em que:  $\sum n_i$  = número de sementes germinadas,  $N$  = número de sementes colocadas para germinar] e o índice de velocidade de germinação (IVG) segundo a fórmula proposta por Maguire (1962) [ $IVG = \sum(n_i \cdot t_i^{-1})$ ]. As mesmas fórmulas foram adaptadas para o cálculo da porcentagem de plântulas normais e da velocidade de desenvolvimento de plântulas normais (IVP), respectivamente. Obtiveram-se, ainda o tempo médio de germinação [ $T_{\text{médio}} = \sum(n_i \cdot t_i) \cdot (\sum n_i)^{-1}$ ] (Baptista de Carvalho et al., 2001) e o índice de entropia informacional [ $\bar{E} = -\sum f_i \cdot \log_2 f_i$ , em que:  $f_i = n_i \cdot (\sum n_i)^{-1}$ ] (Labouriau, 1983). O tempo necessário para se obter 50% de germinação ( $T_{50}$ ) foi obtido por interpolação a partir da germinação acumulada.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, pelo software Sisvar (Ferreira, 2003).

Para a realização da curva de embebição, foram colhidos frutos maduros, em 14 de junho de 2004. A polpa foi removida sob água corrente e as sementes foram secas ao ar, durante 24 horas, antes do início do experimento. As sementes não receberam nenhum tratamento de desinfestação, sendo distribuídas sobre duas folhas de papel Germitest e cobertas por outra folha de papel umedecido com água destilada na razão de 2,5 vezes a massa do papel seco (Brasil, 1992).

Os rolos de papel foram mantidos na vertical dentro de béqueres com uma lâmina de água de 1,0 cm no fundo e cobertos com saco plástico transparente, sendo levados uma câmara de germinação do tipo Mangelsdorff (marca DE LEO) a 25°C no escuro e 100% de umidade relativa (UR). As sementes foram pesadas antes do início da embebição e novamente a intervalos de tempo, de acordo com o ganho de água. Utilizaram-se três amostras de 10

sementes com tegumento e, no momento das pesagens, o excesso de água na superfície das sementes foi retirado com papel Germitest seco. A curva de embebição foi acompanhada durante 26 dias.

Foi calculado o incremento porcentual de massa ( I ) ao longo do tempo, em função da massa inicial das sementes:

$$I (\%) = [(M_t - M_i) / M_i] \times 100 \quad (3)$$

em que:

$M_i$  = massa fresca inicial da amostra e  $M_t$  = massa da amostra no tempo (t).

Para ajuste de uma curva aos dados de embebição foi usado um modelo não linear com maior coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para os graus de liberdade disponíveis. A taxa de embebição foi derivada para cada intervalo de tempo e expressa em porcentagem de incremento de massa por hora ( $\% \cdot h^{-1}$ ), considerando o ponto médio de cada intervalo para o valor de x.

A composição química das sementes foi determinada conforme métodos prescritos pela *Association of Official Analytical Chemists* para extrato etéreo, proteína bruta e amido (Helrich & AOAC, 1990), as análises foram realizadas nos laboratórios da Unincor, Três Corações, MG.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água das sementes foi de  $49,63 \pm 0,51\%$  e está relacionado com a recalcitrância dessas sementes, o qual é similar ao das sementes de *E. dysenterica* DC. (Andrade et al., 2003) e de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Valio & Ferreira, 1992), sendo ainda mais elevado nas sementes de *E. involucrata*, que é de cerca de 57% (Maluf et al., 2003). Nesse conteúdo de água, o metabolismo encontra-se ativo, sendo possível a ocorrência de respiração celular e algum nível de síntese de proteínas e de reparo de ácidos

nucléicos (Vertucci & Farrant, 1995). Andrade & Ferreira (2000) trabalharam com sementes de *E. pyrifomis* com um teor de água inicial mais baixo (38%). Segundo Vertucci & Farrant (1995), podem ocorrer formação de radicais livres e o acúmulo de toxinas em sementes com conteúdo de água inferior a 45%. Os diásporos de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze perdem a viabilidade se forem secos a teores de água inferiores a 37% (Villela & Peres, 2004).

Segundo Daws et al. (2006), o conteúdo de água das sementes na dispersão não é um bom índice para a previsão da sensibilidade das sementes à dessecação, pois espécies tolerantes também podem ser dispersas com umidade elevada, apresentando redução posterior. Por outro lado, para algumas Meliaceae, o teor de água foi válido para a previsão da sensibilidade à dessecação (Hong & Ellis, 1998). A aparente contradição entre os autores talvez esteja relacionada com o número de espécies abrangido em cada caso, pois Hong & Ellis (1998) avaliaram seis espécies, enquanto Daws et al. (2006) incluíram mais de uma centena.

A massa média de uma semente foi de  $1,15 \pm 0,02$  g, correspondente à classe III de tamanho proposta por Andrade & Ferreira (2000) para as sementes de *E. pyrifomis*. Scalon et al. (2004) trabalharam com sementes menores (0,6 a 1,0 g) de *E. uvalha*, mas não apresentam considerações a respeito do conteúdo de água dessas sementes. A massa seca de uma semente de *E. pyrifomis* variou entre 290 e 684 mg, com média de 475 mg. No estudo realizado por Daws et al. (2006), as sementes sensíveis à dessecação tinham massa seca média de 1.040 mg e nenhuma espécie desse grupo apresentou sementes com menos de 100 mg de matéria seca.

A razão tegumento/massa da semente (SCR) de *E. pyrifomis* variou entre 0,093 e 0,140, observando-se uma correlação negativa entre a massa da semente e o valor de SCR ( $R^2 = 0,8974$ ), ou seja, para sementes menores, houve

maior contribuição do tegumento na sua massa total. Talvez por isso as sementes menores da espécie tenham germinação mais lenta (Andrade & Ferreira, 2000).

O valor médio de SCR foi de 0,112 para as sementes de *E. pyriformis*. O reduzido valor de SCR indica que o tegumento é delgado, contribuindo com apenas 11% da massa seca das sementes. Para a probabilidade de sensibilidade à dessecação (P), obteve-se um valor de 0,798.

Inúmeras espécies tolerantes à dessecação também têm sementes grandes (massa superior a 1,0 g), mas o investimento em estruturas de revestimento é maior do que nas recalcitrantes; portanto, nas espécies com sementes ortodoxas, espera-se que o valor de SCR seja alto. Nas observações de Daws et al. (2006), o valor médio foi de 0,509 para espécies tolerantes à dessecação, enquanto as sementes sensíveis têm SCR médio de 0,209 e seus tegumentos pouco espessos oferecem pouca resistência à germinação dessas espécies. Mas deve-se considerar que um tegumento delgado também favorece a dessecação se as sementes são expostas a um ambiente seco.

Segundo o modelo de Daws et al. (2006), o valor obtido para a probabilidade (P) enquadra *E. pyriformis* como sensível à dessecação, ou seja,  $P > 0,50$ , concordando com observações experimentais anteriores a respeito das sementes desta espécie e resultados recentes (Andrade & Ferreira, 2000; Delgado, 2006).

Na elaboração do modelo foram incluídas duas Myrtaceae e, na validação, mais duas. As três espécies de *Syzygium* avaliadas tiveram valor de P superior a 0,80, sendo classificadas como sensíveis à dessecação, enquanto que para *Psidium guajava* L., o valor de P foi inferior a 0,001 (Daws et al., 2006).

As sementes de *E. pyriformis* podem ser classificadas como amiláceas, pois o conteúdo de amido em base seca é de 69%; considerando a semente em sua umidade inicial, o conteúdo é de 34% a 35%, enquanto as proteínas e os lipídeos são menos representativos (14% e 8%, respectivamente). As sementes

são ex-albuminosas, com o embrião maciço e os cotilédones branco-leitosos que preenchem todo o espaço delimitado pelo tegumento (Justo et al., 2006).

Em sementes de *Eugenia* africanas, o tecido de reserva é formado por células parenquimáticas de paredes delgadas e ricas em diminutos grãos de amido. Uma característica peculiar dos grãos de amido é a presença de uma cavidade no seu interior (Van Wyk & Botha, 1984). Essa particularidade não foi observada ao microscópio eletrônico de varredura para os grãos de amido de *E. pyriformis* (Justo et al., 2006).

A composição química é determinada, em última análise, pela herança genética. Algumas alterações de composição são induzidas por condições ambientais durante o desenvolvimento das sementes, mas tais mudanças são, geralmente, insignificantes (Bewley & Black, 1994). O amido é uma das mais importantes formas de reservas de carbono nas sementes, sendo utilizado durante o desenvolvimento da plântula (Buckeridge et al., 2004).

Quanto à germinação total, após 90 dias, foram observados valores superiores a 95% em todas as temperaturas estudadas (Figura 1A) e não foi possível estabelecer as temperaturas máxima ( $T_{max}$ ) e mínima ( $T_{min}$ ) de germinação de *E. pyriformis* neste experimento. No entanto, observou-se germinação de sementes armazenadas a 16°C, mas não a 10°C, após 45 dias em geladeira (dados não apresentados). Silva et al. (2003) obtiveram valores de germinação similares aos observados neste trabalho, utilizando luz natural e temperatura de 30°C. Entretanto, outros autores obtiveram percentuais de germinação inferior nas diferentes temperaturas utilizadas (Andrade & Ferreira, 2000; Barbosa et al., 1990; Scalon et al., 2004).

Essa diferença explica-se, em parte, pela diferença de critérios para avaliação e o tipo de substrato utilizado, que não permitia a visualização da protrusão da radícula. Andrade & Ferreira (2000) e Scalon et al. (2004), na verdade, avaliaram a porcentagem de emergência do epicótilo, que pode ser

significativamente menor do que a germinação, considerada como a protrusão da radícula (Bewley & Black, 1994).

O IVG foi significativamente mais elevado a 25°C e a 30°C (Figura 1B). Os baixos valores observados por Barbosa et al. (1990) para a porcentagem de germinação e o IVG, provavelmente, estão relacionados com o armazenamento das sementes em câmara seca durante um mês antes da realização dos experimentos que, provavelmente, causou redução do vigor das sementes. Lorenzi (2002) recomenda o plantio imediato após a coleta.

O índice de entropia informacional não diferiu entre as temperaturas testadas (Figura 1C). O menor tempo médio de germinação foi observado a 25°C (16,8 dias), diferindo significativamente apenas do regime térmico de 25°C/15°C (26,9 dias) (Figura 1D).



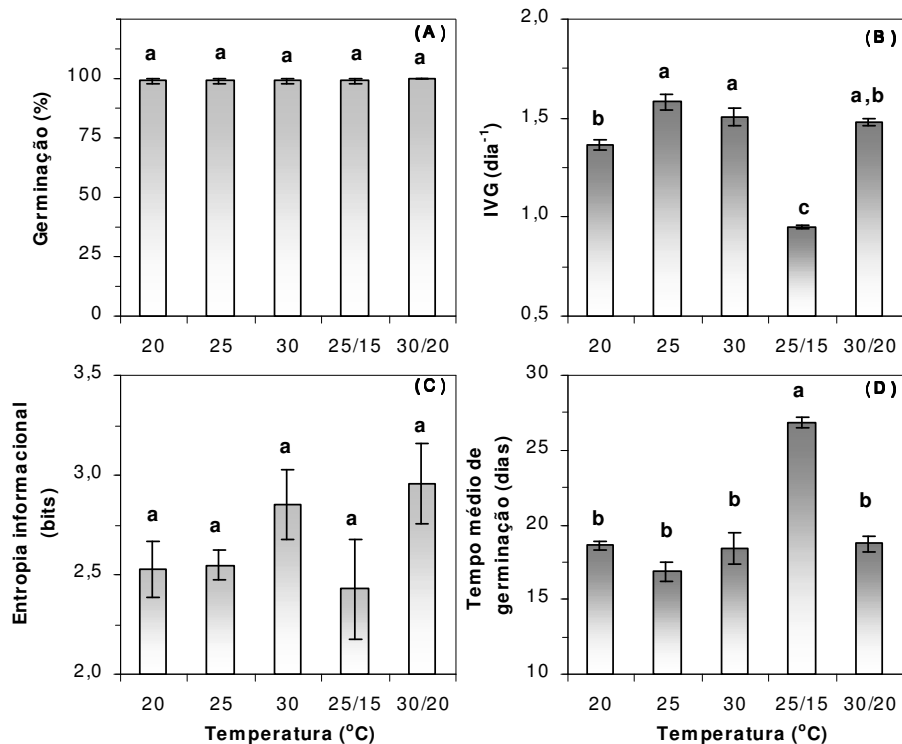


FIGURA 1. Porcentagem de germinação aos 90 dias (A), IVG (B), entropia informacional (C) e tempo médio da germinação (D) de sementes recém coletadas de *Eugenia pyriformis* Camb. mantidas sob diferentes temperaturas. Cada coluna representa a média de 4 repetições, com a respectiva barra de erro padrão. Letras diferentes acima das colunas representam diferença significativa, a 5%, pelo teste de Tukey. O valor da germinação na temperatura de 30/20°C foi de 100% para todas as repetições, não havendo desvio.

Observou-se germinação a partir de 10 a 12 dias, exceto para o regime térmico de 25/15°C, que apresentou um retardamento de 5 a 7 dias para o início da germinação. O tempo necessário para obter 50% de germinação ( $T_{50}$ ) variou entre 15 e 17 dias para os regimes térmicos constantes e para o regime 30°C/20°C e 27 dias para o regime alternado 25°C/15°C. Além disso, a

germinação máxima foi atingida em, aproximadamente, 30 dias para todos os tratamentos (Figura 2).

Michaux (1989) avaliou a germinação de *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. a diferentes temperaturas e estabeleceu a temperatura ótima como aquela na qual ocorreu o menor tempo para atingir 50% de germinação; segundo esse critério, a temperatura ótima é de 25°C para *E. pyriformis*, com o  $T_{50} = 13$  dias.

As sementes da espécie são indiferentes à luz, pois a germinação foi bem sucedida no escuro, enquanto que, em outros estudos, a germinação desta espécie foi realizada sob iluminação natural (Silva et al., 2003; Scalon et al., 2004), artificial (Andrade & Ferreira, 2000) ou sob condições não especificadas (Barbosa et al., 1990).

Segundo Santos et al. (2004), algumas Myrtaceae podem ser classificadas como fotoblásticas positivas [*Acca sellowiana* (Berg.) Burret, *Myrcianthes pungens* (Berg.) Legr. e *Psidium cattleianum* Sabine], enquanto outras parecem indiferentes à luz (*Campomanesia xanthocarpa* Berg. e *Eugenia rostrifolia* Legr.), embora os autores façam reservas quanto à classificação da segunda espécie, devido ao baixo percentual de germinação tanto na luz como no escuro. As sementes de *M. cauliflora* também são indiferentes à luz (Valio & Ferreira, 1992).

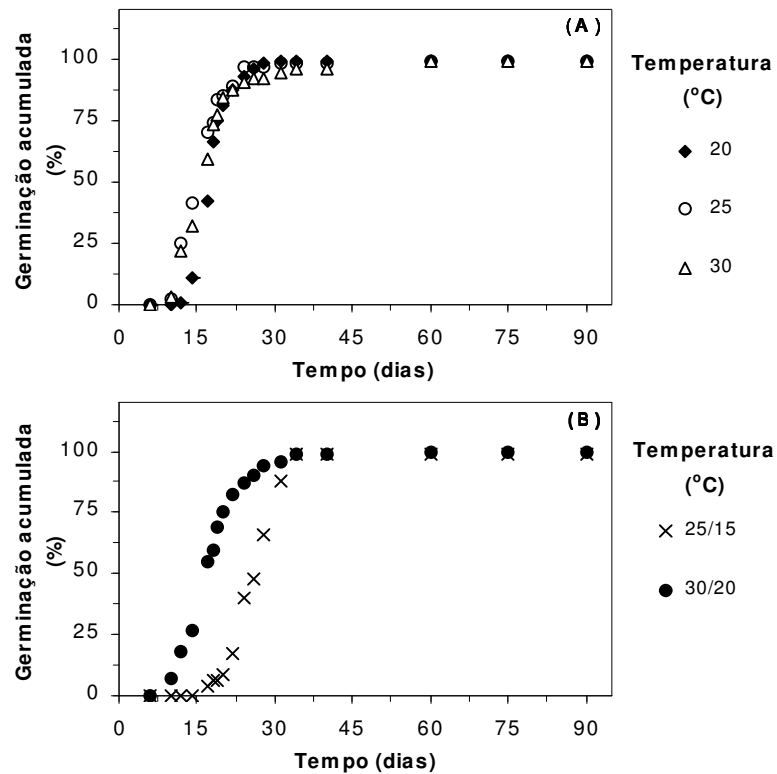


FIGURA 2. Germinação acumulada de sementes recém-colhidas de *Eugenia pyriformis* Camb. sob temperaturas constantes (A) e temperaturas alternadas (B) no escuro. Cada ponto representa a média de 4 repetições para cada tempo em cada temperatura.

As espécies estudadas por Santos et al. (2004) têm sementes com massa inferior a 300 mg. Geralmente, sementes pequenas pertencem a espécies pioneiras (Ressel et al., 2004) e apresentam maior probabilidade de resposta fotoblástica positiva (Grubb & Metcalfe, 1996; Khurana & Singh, 2001; Metcalfe & Grubb, 1995).

As sementes de *E. pyriformis*, no entanto, têm massa bem maior, pertencendo ao grupo funcional das plântulas criptocotiledonares com

cotilédones hipógeos armazenadores, do mesmo modo que outras espécies de *Eugenia* observadas por Ressel et al. (2004).

A porcentagem de plântulas normais foi mais elevada a 20°C, diferindo significativamente de todos os outros regimes térmicos (Figura 3A). A velocidade de desenvolvimento inicial das plântulas (IVP) também foi maior nessa temperatura, no entanto, não diferiu das sementes mantidas a 25°C (Figura 3B). Os menores valores de porcentagem de plântulas normais e IVP foram observados a 30°C (Figura 3), pois observou-se emergência dos epicótilos, mas estes não se desenvolviam devido ao escurecimento e deterioração.

Scalon et al. (2004) não obtiveram emergência para as sementes recém-colhidas de *E. uvalha*, talvez devido às elevadas temperaturas observadas no Mato Grosso do Sul (32±2°C). Pode-se supor, ainda, uma elevação da taxa respiratória em função da temperatura (Taiz & Zeiger, 1998), que esgotaria mais rapidamente as reservas da semente ou um ataque de patógenos favorecido pela temperatura (Schmidt, 2000). Uma combinação de fatores pode estar envolvida nessa sensibilidade a temperaturas mais elevadas, tais como: danos a membranas, observados por meio do aumento da lixiviação de solutos (Hendricks & Taylorson, 1979), da peroxidação de lipídeos (Greggains et al., 2001) e da alteração conformacional irreversível de proteínas (Borghetti & Ferreira, 2004).

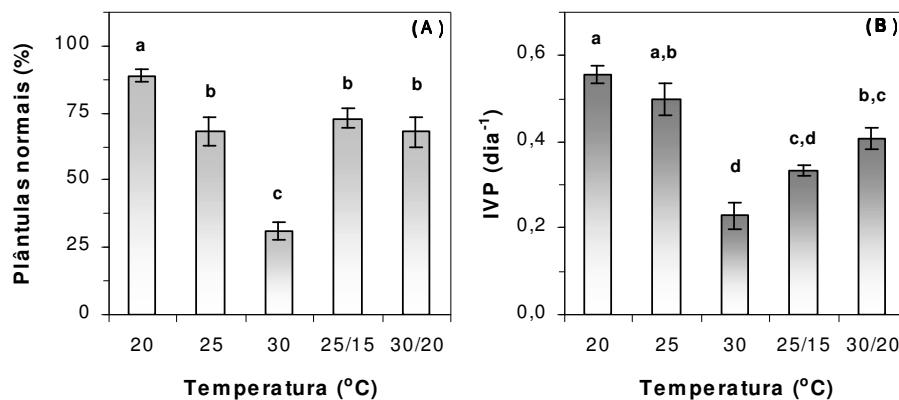


FIGURA 3. Plântulas normais (%) aos 90 dias (A), IVP (B) de sementes recém-coletadas de *Eugenia pyriformis* Camb. mantidas sob diferentes temperaturas. Cada coluna representa a média de 4 repetições, com a respectiva barra de erro padrão. Letras diferentes acima das colunas representam diferença significativa, a 5%, pelo teste de Tukey.

O tegumento das sementes *E. pyriformis*, provavelmente, é permeável à água, pois o incremento inicial de massa foi acelerado (Figura 4A). A fase I da embebição encerrou-se rapidamente. Após 24 horas, a taxa de embebição foi inferior a  $0,1\% \cdot h^{-1}$  (Figura 4B). A seguir, observou-se um lento ganho de massa durante vários dias, correspondendo à fase II (Figura 4A). Observou-se protrusão de radículas após 15 dias de embebição, atingindo 50% de germinação aos 25 dias. A aceleração do ganho de água nessa fase foi discreta (Figura 4B) e o ganho total de massa foi de cerca de 10% (Figura 4A).

O ganho de massa deve-se à absorção de água e a curva de embebição das sementes de *E. pyriformis* aproxima-se do padrão trifásico (Bewley & Black, 1994), mas diverge deste em alguns pontos (Figura 4). Como o conteúdo inicial de água das sementes dessa espécie é bastante elevado (~50%), provavelmente, o potencial matricial nas sementes é próximo de zero e elas atingem hidratação

plena com pequena quantidade adicional de água, encerrando rapidamente a fase I. Segundo Justo et al. (2006), o teor de água de sementes germinadas aumentou apenas 5%-7% em relação às sementes não embebidas.

Na fase II, o ganho de massa foi pequeno e contínuo (Figura 4), sendo, provavelmente, induzido pelo potencial osmótico celular, pois o potencial matricial torna-se pouco relevante. A ausência de estabilização da massa indica que o potencial osmótico não foi completamente anulado pelo potencial de parede.

Delgado (2006) apresenta a curva de embebição da mesma espécie, tendo observado estabilização da massa na fase II, mas essa autora secou as sementes até 10% de conteúdo de água antes de iniciar a embebição; provavelmente as sementes morreram durante a secagem, pois o conteúdo letal de água para essas sementes foi calculado em 15,8% (Capítulo 5). Na fase II da embebição, o potencial hídrico da maioria das sementes situa-se entre -1,0 e -1,5 MPa (Bewley & Black, 1994). Segundo Castro & Hilhorst (2004), nesta fase ocorrem síntese e duplicação do DNA e início da degradação das reservas e do alongamento celular em preparação para a germinação propriamente dita.

A fase III foi alcançada a partir da protrusão da radícula das sementes (Figura 4A), mas, na amostra utilizada para curva de embebição, a germinação foi mais lenta do que nos testes de temperatura, tendo um atraso de cerca de 10 dias para atingir o  $T_{50}$ .

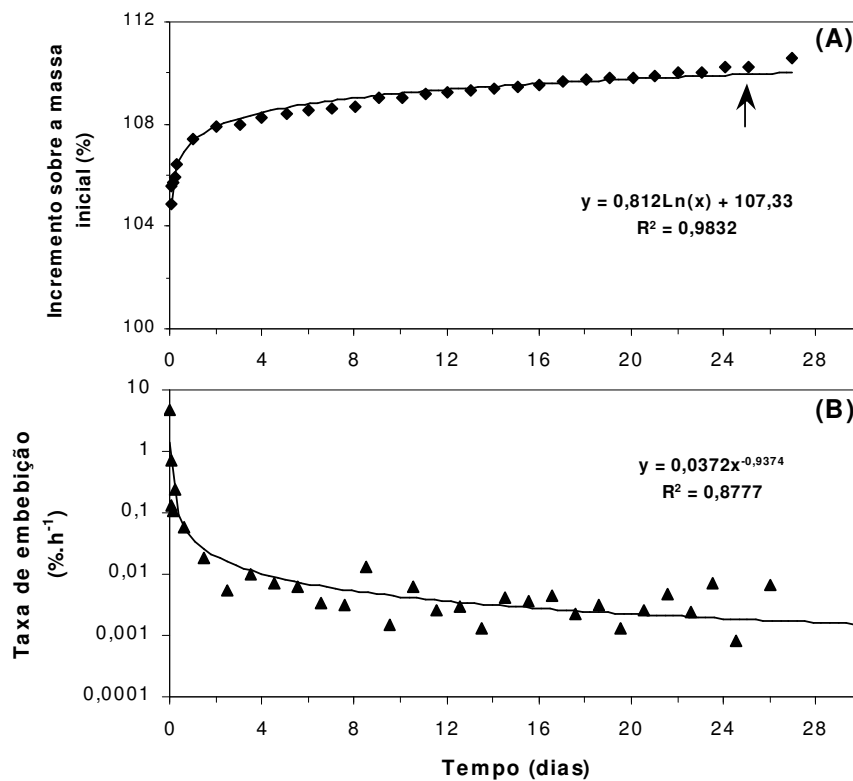


FIGURA 4. (A) Curva de embebição das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. a 25°C em rolo de papel Germitest® no escuro. (B) Taxa de embebição em função do tempo. Germinação de 50% das sementes (seta). Cada ponto corresponde à média de três repetições com 10 sementes. Duração das fases de embebição de acordo com o modelo trifásico (Bewley & Black, 1994). Fase I - até dois dias, fase II: de dois a 25 dias, fase III: após 25 dias de embebição.

Provavelmente, houve alguma diferença endógena entre as sementes utilizadas nos dois experimentos. Para a curva de embebição, a coleta foi realizada em junho/2004, enquanto as sementes do experimento de temperatura foram obtidas em outubro/2004. Nos dois casos, os frutos foram colhidos nas plantas em estágio maduro (cor amarela). Os resultados obtidos no experimento

a diferentes temperaturas não indicam a ocorrência de dormência, mas, o retardamento da germinação para a amostra utilizada na curva de embebição pode indicar a ocorrência de algum nível de dormência primária. Andrade & Ferreira (2000) afirmam que as sementes de *E. pyriformis* apresentam dormência, embora, o fenômeno seja raro em sementes recalcitrantes tropicais (Farnsworth, 2000).

## 6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que as sementes de *E. pyriformis* são ricas em amido, germinaram satisfatoriamente entre 20°C e 30°C e são indiferentes à luminosidade. Considerou-se 25°C como a temperatura ótima de germinação em rolo de papel para a espécie. A alternância de temperaturas não incrementou a germinação e o desenvolvimento de plântulas foi prejudicado a 30°C. A curva de embebição aproxima-se do padrão trifásico, mas a distinção entre a fase II e III não é nítida.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. F. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.
- ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.



BAPTISTA DE CARVALHO, P. G.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature- dependent germination and endo- $\beta$ -mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 139-148, ago. 2001.

BARBEDO, C. J.; KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C. Germinação e armazenamento de diásporos de cerejeira (*Eugenia involucrata* dc. - Myrtaceae) em função do teor de água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 184-188, 1998.

BARBOSA, J. M.; BARBOSA, L. M.; SILVA, T. S. da; FERREIRA, D. T. L. Influência de substratos e temperatura na germinação de duas espécies frutíferas silvestres. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 66-73, 1990.

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

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação dos resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

BUCKERIDGE, M. S. D.; AIDAR, M. P. M.; SANTOS, H. P. DOS; TINÉ, M. A. S. Acúmulo de reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 31-50.

CASTRO, R. D. de; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149-162.

DAWS, M. I.; GARWOOD, V. C.; PRITCHARD, H. W. Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits and 104 species. **Annals of Botany**, London, v. 97, n. 4, p. 667-674, Apr. 2006.

DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de Eugenia**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado) - São Paulo Instituto de Botânica. Disponível em: <<http://www.ibot.sp.gov.br/teses/liliana2006.pdf>>. Acesso em: 20 ago. 2006.

FARNSWORTH, E. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 31, p. 107-138, 2000.

- FERRAZ-GRANDE, F. G. A.; TAKAKI, M. Temperature dependent seed germination of *Dalbergia nigra* Allem (Leguminosae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 44, n. 4, p. 401-404, Oct./Dec. 2001.
- FERREIRA, A. G. Interferência: competição e alelopatia. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 251-262.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR: Sistema de análise de variância para dados balanceados**. Versão 4. 6. Lavras: UFLA, 2003.
- FLYNN, S.; TURNER, R. M.; DICKIE, J. B. **Seed information database**. (release 6. 0, October 2004). Disponível em: <<http://rbgkew.org.uk/data/sid/>>. Acesso em: 15 ago. 2006.
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JÚNIOR, A. Fenologia da floração e maturação dos frutos da uvalheira (*Eugenia pyriformis* Camb.), em Pelotas, RS. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1., 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 397-402. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 123).
- FREITAS, R. A. de; DIAS, D. C. F. dos S.; DIAS, L. A. dos S.; OLIVEIRA, M. G. de A. Testes fisiológicos e bioquímicos na estimativa do potencial de armazenamento de sementes de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 84-91, 2004.
- GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W. E.; ATHERTON, N. M.; BERJAK, P. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds **Seed Science Research**, Zurich, v. 11, n. 2, p. 235-242, 2001.
- GRUBB, P. J.; METCALFE, D. J. Adaptation and inertia in the australian tropical lowland rain Forest flora: contradictory trends in intergeneric and intrageneric comparisons of seed size in relation to light demand. **Functional Ecology**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 512-520, Aug. 1996.
- HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOSLOWSKI, T. T. (Ed.) **Seed Biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 3, p. 145-245.
- HELDRICH, K. **Official methods of the association of official analytical chemists**. 15. ed. Arlington: AOAC, 1990. 1015 p.
- HENDRICKS, S. B.; TAYLORSON, R. B. Dependence of thermal responses of seeds on membrane transitions. **Proceedings of National Academy of Science USA**, Washington, v. 76, n. 2, p. 778-781, 1979.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Contrasting seed storage behaviour among different species of Meliaceae. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 26, n. 1, p. 77-95, 1998.

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

KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.

JUSTO, C. F.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, E.; GUIMARÃES, R. M.; STRASSBURG, R. C. Aspectos anatômicos das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. e efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre sua ultra-estrutura. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, 2006. (enviado para publicação).

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Organização dos Estados americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. 174 p. (Série Biologia, Monografia 24).

LEAL, M. A. G. **Fórum do Atelier do Bonsai**. 2005. Disponível on line em: <<http://www.atelieldobonsai.com.br/forum/viewtopic.php?t=355&start=0&postdays=0&postorder=asc&highlight=>>>. Acesso em: 14 jan. 2006.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 1.

LULA, A. de A.; ALVARENGA, A. A. de; ALMEIDA, L. P. de; ALVES, J. D.; MAGALHÃES, M. M. Efeito de agentes químicos na quebra da dormência de sementes de *Paspalum paniculatum* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 358-366, abr./jun. 2000.

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

MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, jul./set. 2003.

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

- MARCOS-FILHO, J.; CHAMA, H. M. C. P.; CASAGRANDE, J. R. *et al.* Effect of harvesting time on seed physiological quality, chemical composition and storability of soybeans. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, n. 2, p. 298-304, maio/ago. 1994.
- MEDEIROS SILVA, L. M. de. RODRIGUES, T. de J. D.; AGUIAR, I. B. de. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 6, p. 691-697, nov./dez. 2002.
- MELO, F. P. L. de; AGUIAR NETO, A. V. de; SIMABUKURO, E. A.; TABARELLI, M. Recrutamento e estabelecimento de plântulas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 237-250.
- METCALFE, D. J.; GRUBB, P. J. Seed mass and light requirements for regeneration in Southeast Asian rain-forest. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 73, n. 6, p. 817-826, June 1995.
- MICHAUX, B. Reproductive and vegetative biology of *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. (Compositae: Cynareae). **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v. 27, p. 401-414, 1989.
- NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. C. J. G. de A. Efeitos da temperatura na germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 1-6, 2000.
- RESSEL, K.; GUILHERME, F. A. G.; SCHIAVINI, I.; OLIVEIRA, P. E. Ecologia morfo-funcional de plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 311-323, abr./jun. 2004.
- SANTOS, C. M. R. dos; FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 2, p. 13-20, dez. 2004.
- SCALON, S. de P. Q.; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R. Armazenamento e germinação de sementes de *Eugenia uvalha* Cambess. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1228-1234, nov./dez. 2004.
- SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Denmark: Danida Forest Seed Centre, 2000. 511 p.
- SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; MALUF, A. M.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis*

Cambesss. – Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 231-221, abr./jun. 2003.

SOCOLOWSKI, F.; TAKAKI, M. Germination of *Jacaranda mimosifolia* (D. Don - Bignoniaceae) seeds: Effects of light, temperature and water stress. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n. 5, p. 785-792, Sept./Oct. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998. 792 p.

VÁLIO, I. F. M.; FERREIRA, Z. de L. Germination of seeds of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 95-98, dez. 1992.

Van WYK, A. E.; BOTHA, R. The genus *Eugenia* (Myrtaceae) in Southern Africa: ontogeny and taxonomic value of seed. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 3, n. 1, p. 63-80, 1984.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIEGEL, J.; GALILI, G. (Ed.) **Seed Development and Germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-281.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre, Artmed. 2004. p. 135-146.



### **CAPÍTULO III**

**ASPECTOS ANATÔMICOS DAS SEMENTES DE *Eugenia pyriformis*  
Camb. (MYRTACEAE) E EFEITO DA SECAGEM, DO  
ARMAZENAMENTO E DA GERMINAÇÃO  
SOBRE SUA ULTRA-ESTRUTURA**

## 1 RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. Aspectos anatômicos das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae) e efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre sua ultra-estrutura. In:\_\_\_\_\_. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006. Cap. 3, p. 67-97. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea frutífera de porte mediano, cujos frutos saborosos apresentam sementes grandes de tegumento delgado (cartáceo), as quais perdem rapidamente a viabilidade quando submetidas à dessecação. O objetivo foi investigar a estrutura do embrião das sementes, bem como as alterações ultra-estruturais resultantes de secagem, germinação e armazenamento. Foram avaliadas as variações no conteúdo de água das sementes e discutidas as conseqüências fisiológicas dessas variações. O eixo embrionário tem menos de 1,0 mm de comprimento, enquanto os cotilédones carnosos podem variar de 1,0 a 2,0 cm. Observou-se a presença de pólo apical e radicular em posições opostas, procâmbio e tecido medular de natureza parenquimática, que é rico em grãos de amido. Ao redor do meristema apical do caule foram identificados primórdios foliares e, na epiderme, na face adaxial dos cotilédones, ocorrem tricomas unicelulares e estômatos. A dessecação e o envelhecimento das sementes provocaram gradativa desestruturação celular. Durante a germinação, o meristema apical do caule altera-se da forma côncava para a cônica e ocorre alongamento do eixo hipocótilo radicular, com protrusão da radícula. Nessa fase, as células apresentam conteúdo íntegro e possivelmente hidrólise de reservas.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).



## 2 ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. Anatomical aspects of *Eugenia pyriformis* Camb. seeds and effect of drying, storage and germination on their ultra-structure. In:\_\_\_\_\_. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006. Chap. 3, p. 67-97. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. is a tree species of medium height, that produces flavorful fruits with great seeds of thin coat, these seeds loses viability quickly when they are submitted to desiccation. The objective of this work was to investigate the structure of the embryo of *E. pyriformis* seeds and the ultra-structural changes during drying, germination and storage. The axes has less of 1,0 mm of length, while the fleshy cotyledons can vary from 1,0 to 2,0 cm. It was observed presence of stem and radicular meristem in opposing positions, procambium and a medulla of parenchymatous nature, which is rich of starch grains. Around of stem meristem, leafy primordia had been identified and in the adaxial face of epidermis of cotyledons to unicellular trichomes and stomata occur. The gradual desiccation of the seeds provoked cellular structure disarrangement, which also occurred with the aging of the seeds. During germination, apical stem meristem changes from concave to conical form and there was hypocotylous-radicular elongation, with protrusion of radicle. In this phase the cells have structured content and hydrolysis of reserves. Seed water content variation was evaluated and physiological consequences of this change are discussed.

---

\* Guidance committee: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga (Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

Diversas espécies do gênero *Eugenia* produzem frutos saborosos, os quais podem ser consumidos *in natura* ou na forma de geléias e doces, tendo elevado potencial para a industrialização de sucos. Essas espécies podem também ser utilizadas na recuperação de áreas degradadas como atrativo para a fauna (Andrade & Ferreira, 2000; Lorenzi, 2002). Existem ainda relatos do potencial medicinal contra doenças, como a gota (Schmeda-Hirschmann et al., 1987; Theodoluz et al., 1988).

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea de porte mediano, ocorrendo naturalmente desde o estado de São Paulo até o Rio Grande do Sul e, provavelmente, estendendo-se até o Paraguai e a Argentina (Donadio et al., 2002; Lorenzi, 2002). Seus frutos maduros são amarelos e têm aroma agradável e sabor adocicado. O crescimento da árvore é relativamente rápido e sua frutificação é precoce (Andrade & Ferreira, 2000). É conhecida popularmente como uvaia, ubaia e uvalha, derivando da denominação indígena *iwa'ya*, cujo significado é fruto ácido (Franzon et al., 2004; Leal, 2005; Lorenzi, 2002). A espécie é resistente a doenças e sua madeira dura tem sido empregada regionalmente para moirões, estacas, postes, lenha e carvão. Os frutos são amplamente consumidos por várias espécies de pássaros, o que torna a espécie recomendável para o reflorestamento de áreas degradadas (Lorenzi, 2002).

Donadio et al. (2002) citam a existência de duas variedades: *E. pyriformis* var. *uvalha* e *E. pyriformis* var. *argentea*, que recebem o mesmo nome popular. No entanto, nem todos os autores reconhecem essa identificação taxonômica e tratam-nas como duas espécies individualizadas: *E. pyriformis* Camb. e *E. uvalha* Cambess. (Costa, 2004; Scalon, 2004). Existe ainda a

sinonímia botânica *Pseudomyrcianthes pyriformis* (Camb.) Kaus (Andrade & Ferreira, 2000; Lorenzi, 2002).

A anatomia das sementes de Myrtaceae tem sido investigada com alguma ênfase para espécies de importância econômica. Prakash (1979) realizou uma revisão de trabalhos mais antigos a esse respeito, tendo obtido seis publicações dedicadas ao gênero *Eugenia*. Landrum & Stevenson (1986), estudaram a estrutura do embrião na subtribo Myrtinae, na qual predominam sementes pequenas com eixo embrionário volumoso e rico em reservas. Segundo Barroso (2002), o embrião no gênero *Eugenia* é globoso, sem diferenciação aparente entre o eixo embrionário e os cotilédones; além disso, considera-se o embrião conferruminado, ou seja, sem distinção da linha de soldadura entre os cotilédones. Estudos anatômicos das sementes maduras de *Eugenia punicifolia* (Kunt) DC. revelaram que os cotilédones são maiores do que o eixo embrionário na razão de 3:1 (Strassburg, 2004, comunicação pessoal).

No gênero *Eugenia*, geralmente, as sementes são grandes com tegumento delgado e perdem rapidamente a viabilidade quando submetidas à dessecação (Andrade & Ferreira, 2000; Andrade et al., 2003; Bulow et al., 1994; Goldbach, 1979; Maluf et al., 2003; Salomão & Santos, 2000; Capítulo 6). Por esta razão, recomenda-se a semeadura imediatamente após a retirada dos frutos (Lorenzi, 2002; Silva et al., 2001), dificultando, dessa maneira, a produção de mudas pelo curto período de disponibilidade das sementes (Mattos, 1956, citado por Andrade & Ferreira, 2000; Lorenzi, 2002).

Sementes recalcitrantes não toleram a perda de água e sofrem danos em diferentes níveis durante a secagem e o armazenamento (Pammenter et al., 1984), estando sujeitas a danos ultra-estruturais (Berjak & Pammenter, 2000).

O objetivo no presente trabalho foi investigar anatomicamente a semente de *E. pyriformis* e avaliar as alterações ultra-estruturais resultantes da secagem, do armazenamento e da germinação.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes utilizadas nesta pesquisa foram obtidas de frutos coletados de três matrizes, localizadas na área urbana do município de Lavras, MG (21°13'40"S e 44°57'50"W GRW) (Figura 1A e B). Uma amostra de material com flores (Figura 1A) foi depositada no Herbário ESAL, da Universidade Federal de Lavras, sob o número de registro 20468. Os frutos maduros, de coloração amarelo-ouro (Figura 1C), foram coletados diretamente nas plantas e processados em laboratório no mesmo dia.

As sementes foram submetidas à lavagem sob água corrente para limpeza e remoção dos resíduos da polpa. O excesso de umidade da superfície das sementes foi removido com papel-toalha, sendo então submetidas a um dos seguintes tratamentos para obtenção dos embriões, como descrito a seguir:

- a. imediatamente após a coleta e limpeza, as sementes foram dissecadas com bisturi, separando-se o eixos embrionários e segmentos de cotilédones;
- b. após 3 ou 10 dias de embebição em rolo de papel Germitest® e mantidas em câmara de germinação do tipo Mangelsdorff, a 25°C, no escuro;
- c. após secagem durante 16 ou 72 horas, sob duas condições de secagem: a 35°C em estufa ventilada com 20% de umidade relativa (UR) e a 20°C em sala climatizada com UR de 60%;
- d. após armazenamento em embalagens de polietileno, a 10°C, por sete meses com posterior embebição de 3 dias nas mesmas condições de germinação (câmara do tipo Mangelsdorff, a 25°C, no escuro).

Os embriões, assim obtidos, foram seccionados em pequenas peças e fixados em Karnovsky modificado: glutaraldeído (2,5%) e paraformaldeído

(2,5%) em tampão cacodilato 0,05 M, pH 7,2 e CaCl<sub>2</sub> 0,001 M (Karnovsky, 1965), sendo mantidos em geladeira, a 10°C, até o posterior processamento. O fixador foi trocado após 10 dias devido à oxidação por fenóis originados na amostra.

As amostras foram preparadas de acordo com o protocolo padrão do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, para isso foram lavadas três vezes em tampão cacodilato 0,05 M, durante 10 minutos e imersas em glicerol 30%, como crioprotetor, durante 30 minutos. Após congelamento em N<sub>2</sub> líquido, as amostras foram cortadas com bisturi em superfície resfriada para expor os tecidos internos da semente (Alves, 2004). O eixo embrionário foi seccionado longitudinalmente em nitrogênio líquido para observação ao microscópio eletrônico de varredura, usando o ápice da radícula como referência (Figura 1E e 2A).

O material seccionado foi lavado em água destilada e pós-fixado com tetróxido de ósmio (1%) durante 4 h à temperatura ambiente em capela, sendo lavado três vezes com água destilada durante 5 minutos e submetido à desidratação em gradiente crescente de acetona (25%, 50%, 75% e 90%), durante 15 minutos em cada solução e três vezes em acetona pura. As amostras foram levadas para secagem ao ponto crítico com CO<sub>2</sub> líquido no aparelho CPD 030 (Balzers), sendo então montadas em “stubs”. A seguir receberam uma cobertura de ouro no evaporador SCD 050 (Balzers). A análise foi realizada em microscópio eletrônico de varredura modelo Leo Evo 40, com a obtenção de imagens digitais pelo software Leo User Interface (Alves, 2004).

Determinou-se gravimetricamente o conteúdo de água das sementes em todos os tratamentos, utilizando-se 5 repetições de sementes individuais. Para tanto, as sementes foram pesadas e secas em estufa, a 105°C, durante 48 horas

(adaptado de Brasil, 1992). O conteúdo de água das sementes foi expresso em porcentagem em relação à massa fresca.

O teor de água das sementes durante a secagem e a embebição foi analisado por regressão linear em função do tempo, considerando, para o tempo zero, o conteúdo de água das sementes recém-colhidas. No teste de secagem, os dados foram analisados em esquema fatorial (2x2) em DIC, considerando como fontes de variação a temperatura e o tempo de secagem, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Utilizou-se a comparação por contraste entre os tamanhos de sementes, entre as sementes embebidas e recém-colhidas e entre as armazenadas e os demais tratamentos. Para análise estatística, foi utilizado o software Sisvar, versão 4.6 (Ferreira, 2003 Santana & Ranal, 2000).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fruto maduro de uvaia é uma baga de cor amarela (Figura 1B), com mesocarpo carnoso (Figura 1C). O número de sementes por fruto é variável, geralmente não excedendo a quatro; no entanto, elas são menores quando mais numerosas. A semente é do tipo ex-albuminosa, de formato elíptico irregular, variando de globoso a semigloboso; seu maior comprimento varia entre 0,5 e 2,0 cm e a massa de sementes frescas entre 0,5 e 2,5 g. O embrião é maciço, globoso, de cor esbranquiçada e preenche todo o espaço delimitado pelo tegumento (Figura 1C). Os cotilédones são carnosos, retos e rugosos (Figura 1D, E). O tegumento das sementes é delgado, de cor marrom variegada e de textura cartácea (Figura 1C, D). A rafe destaca-se pela cor ligeiramente mais pálida do que o restante do tegumento, estendendo-se sobre a face convexa da superfície

da semente. A protrusão da radícula pode ser observada na extremidade da rafe (Figura 1F).

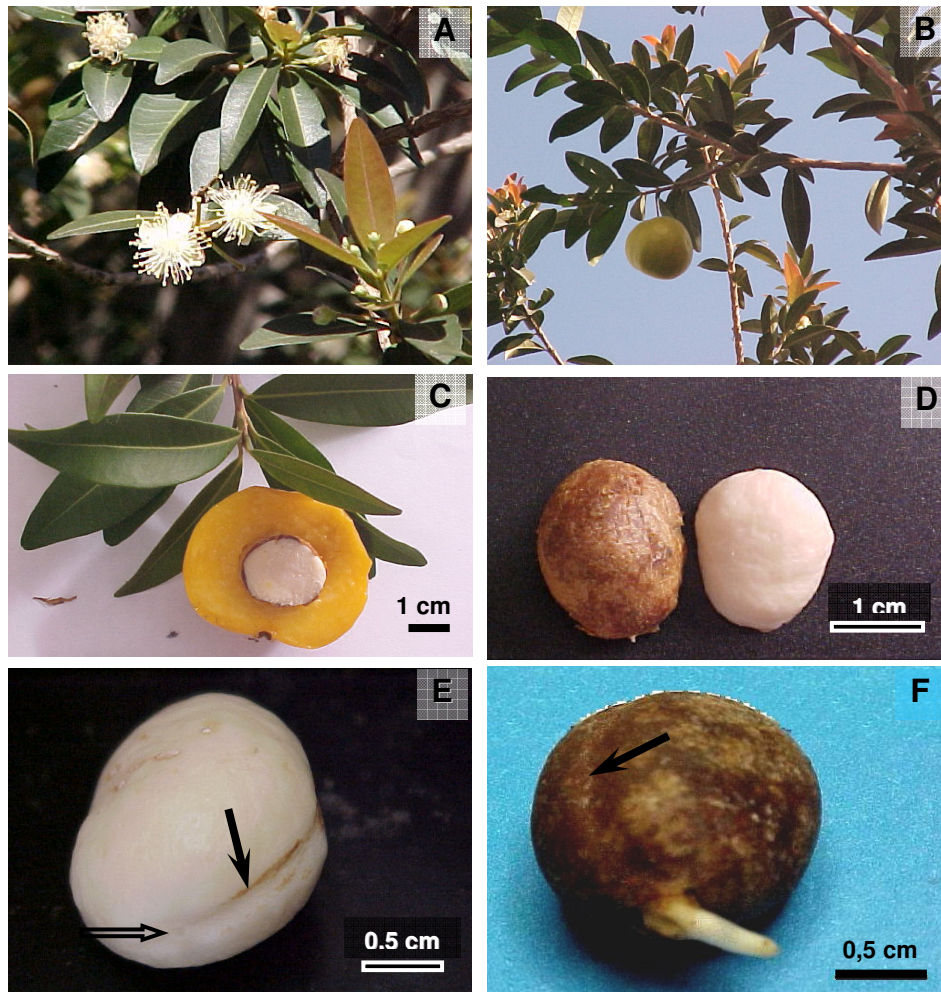


FIGURA 1. Aspectos gerais de *Eugenia pyriformis* Camb. (A) Ramos com flores. (B) Ramo com fruto. (C) Fruto e semente cortados longitudinalmente. (D) Semente com e sem tegumento cortada ao longo da rafe. (E) Semente recém-colhida sem tegumento, com destaque para o pólo radicular (seta vazia) e cicatriz rafeal na superfície dos cotilédones (seta cheia). (F) Semente germinada com destaque para a rafe no tegumento (seta).

Segundo Andrade et al. (2003), em sementes de *E. dysenterica*, a cor mais clara da rafe deve-se ao fato do tegumento ter apenas uma camada de tecido nessa região. Já no restante da semente, ele é formado por duas camadas. Além disso, nessa espécie, a rafe é bem mais conspícua do que nas sementes de *E. pyriformis* (Lorenzi, 2002). Strassburg (2004, comunicação pessoal) observou, em *E. puniceifolia*, que apenas a testa permanece na semente madura, ocorrendo desintegração do tégmen ao longo do desenvolvimento da semente.

Rizzini (1970) observou uma diferença marcante na estrutura da testa de duas espécies de *Eugenia*. Para *E. dysenterica*, espécie de cerrado, ela é coriácea e em *E. micheli* (sinonímia de *E. uniflora* L., pitanga), é mais delgada e membranácea. O autor observou nítido contraste no poder germinativo provocado pela diversidade de tegumento das duas espécies. A espessura do tegumento varia bastante entre espécies de *Eugenia* africanas, ocorrendo graus variáveis de esclerificação e vascularização do mesmo (van Wyk & Botha, 1984).

O eixo embrionário não se distingue na superfície do embrião a olho nu, no entanto, com uma lupa de pequeno aumento foi possível visualizar o pólo embrionário em uma das extremidades da cicatriz rafeal na superfície dos cotilédones. Nessa posição, o ápice da radícula é formado por uma pequena protuberância, sendo rodeada por uma depressão circular de cor ligeiramente diferente do restante do embrião (Figura 1E). Esta protuberância apresenta cerca de 400 µm de diâmetro, quando observada ao microscópio eletrônico de varredura (Figura 2A).

A observação do eixo embrionário ao microscópio eletrônico de varredura mostra que ele é reto, completamente formado e tem cerca de 800µm de comprimento (Figura 2B), com pólo apical e radicular em seus extremos (Figura 3A e 3B). Estes pólos são constituídos por células pequenas, com



características meristemáticas (Figura 3A e 3B), sendo ainda possível visualizar o procâmbio, formado por células mais alongadas do que as demais (Figura 3C).

Barroso (2002) afirma que o embrião nas sementes do gênero *Eugenia* é globoso, crasso, conferruminado e sem diferenciação aparente entre o eixo radícula-hipocótilo e os cotilédones. Outros autores também afirmam que não há diferenciação entre o eixo embrionário e os cotilédones (Andrade & Ferreira, 2000; Lucas et al., 2005). O presente estudo contradiz as afirmações desses autores, uma vez que o eixo embrionário encontra-se diferenciado na semente madura, porém, não está visível na superfície da semente devido ao fato de estar parcialmente encoberto por tecido, o qual foi interpretado como a região de conexão entre o eixo e os cotilédones (Figura 2B, chave à direita).

Em algumas espécies de *Eucalyptus* L'Herit. e *Syzygium* Gaertn., observa-se o recobrimento do hipocótilo e da raiz primária pelos cotilédones, levando a uma interpretação errônea de fusão entre os tecidos. Para distinguir esse fenômeno, Kausel (1956), citado por Landrum & Stevenson (1986), propôs a subfamília Cryptorrhizeae, que é aceita por alguns autores, mas não por outros. No entanto, essa subfamília não inclui o gênero *Eugenia*.

Em sementes imaturas retiradas de frutos verdes, antes do desenvolvimento total dos cotilédones, o eixo hipocótilo-radicular é perfeitamente distinto, formando uma protuberância cônica de cerca de 1,0 mm de comprimento (dados não apresentados). Situação similar foi observada por Strassburg (2004, comunicação pessoal) em *E. puniceifolia*, que descreve a existência de grandes diferenças entre o embrião na fase jovem e madura.

A medula do eixo embrionário é constituída por células relativamente grandes (40  $\mu\text{m}$ ), com paredes delgadas e ricas em grãos de amido (Figura 3D). Apesar dos volumosos cotilédones, talvez, essas reservas sejam consumidas primeiramente durante o alongamento do eixo embrionário na germinação de *E. pyriformis*, devido a sua proximidade com os tecidos em desenvolvimento.

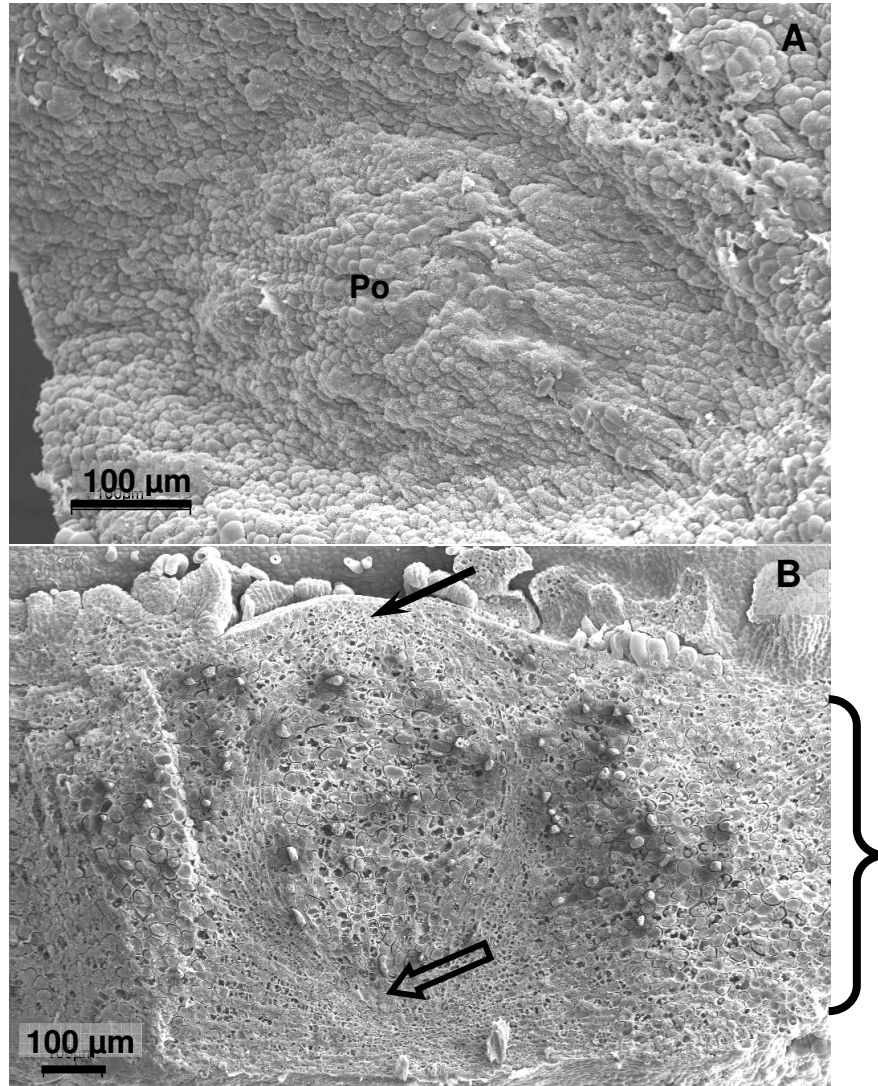


FIGURA 2. Eletromicrografias de varredura de sementes recém-colhidas de *Eugenia pyriformis* Camb. (A) Superfície da semente na região do pólo radicular. (B) Eixo embrionário em secção longitudinal, com região de conexão entre o eixo e os cotilédones (chave à direita) e meristema apical do caule (seta cheia) e da radícula (seta vazia). Em B, secção longitudinal obtida por corte em nitrogênio líquido (-186°C). **Po** = pólo radicular.

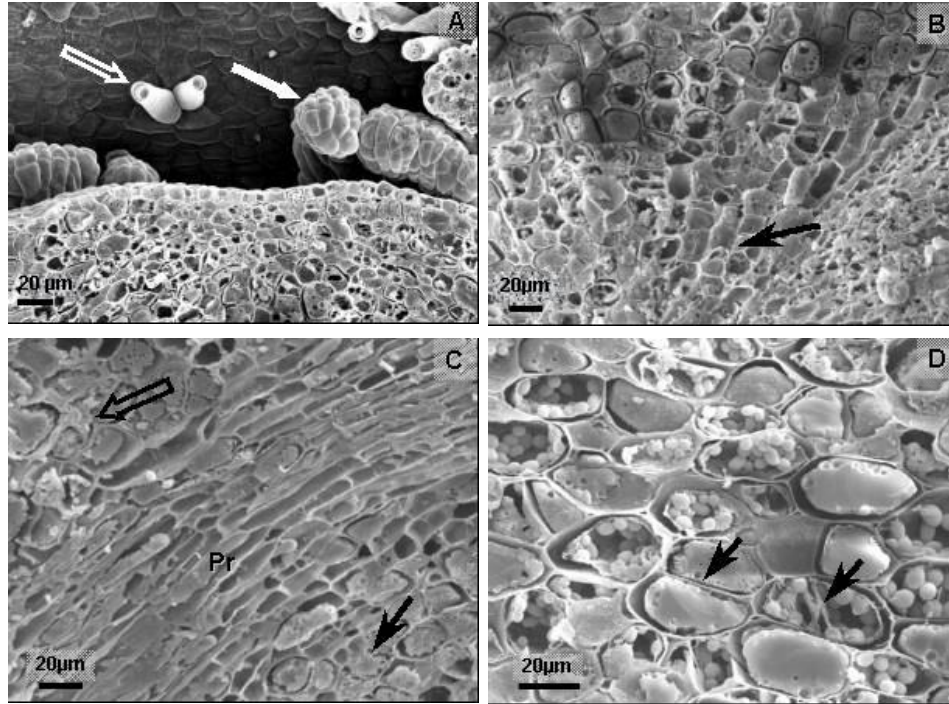


FIGURA 3. Eletromicrografias de varredura de sementes recém-colhidas de *Eugenia pyriformis* Camb. (A) Meristema apical do caule, circundado por primórdios foliares (seta cheia) e tricomas (seta vazia). (B) Meristema apical da radícula (seta). (C) Procâmbio ladeado pelo meristema fundamental do eixo embrionário (seta cheia) e pelo tecido de conexão ao cotilédone (seta vazia). (D) Medula do eixo embrionário com células ricas em grãos de amido e indícios de mitose recente (setas). (A até D) Secções longitudinais obtidas por corte em nitrogênio líquido (-186°C). **Pr**= Procâmbio.

Em espécies da tribo Myrtinae (*Pimenta* spp., *Blepharocalyx* spp. e *Campomanesia adamantium* (Camb.) O. Berg), o hipocótilo volumoso é a principal fonte de reservas para a plântula, sendo o amido, o componente majoritário dessas reservas (Landrum & Stevenson, 1986). Já em espécies

africanas de *Eugenia*, as reservas localizam-se nos cotilédones, os quais são ricos em amido (van Wyk & Botha, 1984). Nas sementes de *E. pyriformis* sem tegumento, cerca de 70% da matéria seca é composta por amido (Nelson Delú Filho, comunicação pessoal).

Projeções multicelulares adjacentes ao meristema apical foram interpretadas como primórdios foliares (Figura 4A); estruturas similares observadas na plântula de *E. dysenterica* foram denominadas catáfilos (Andrade et al., 2003).

A olho nu, a face adaxial dos cotilédones é lisa nas sementes de *E. pyriformis*, enquanto a face abaxial é rugosa (Figura 1D). A linha de soldadura é pouco conspícua, mas há uma epiderme definida na face adaxial dos mesmos (Figura 4B e 4C). Nessa epiderme, observou-se a presença de tricomas unicelulares e estômatos; as demais células apresentam forma poligonal irregular e dimensões de cerca de 20  $\mu\text{m}$  (Figura 4C). Em *E. puniceifolia* e *E. hiemalis*, ocorre sincotilia parcial (Strassburg, dados não publicados). O embrião é classificado como pseudomonocotiledonar por Anjos & Ferraz (1999), devido à fusão total ou parcial dos cotilédones. Segundo Barroso (2002), a fusão dos cotilédones é tal que não permite a distinção da linha de soldadura entre eles, sendo esta característica de soldadura utilizada como critério para a separação entre o gênero *Eugenia* e *Syzigium* (Schmid, 1972). Em espécies africanas de *Eugenia*, a fusão dos cotilédones é extensa (van Wyk & Botha, 1984).

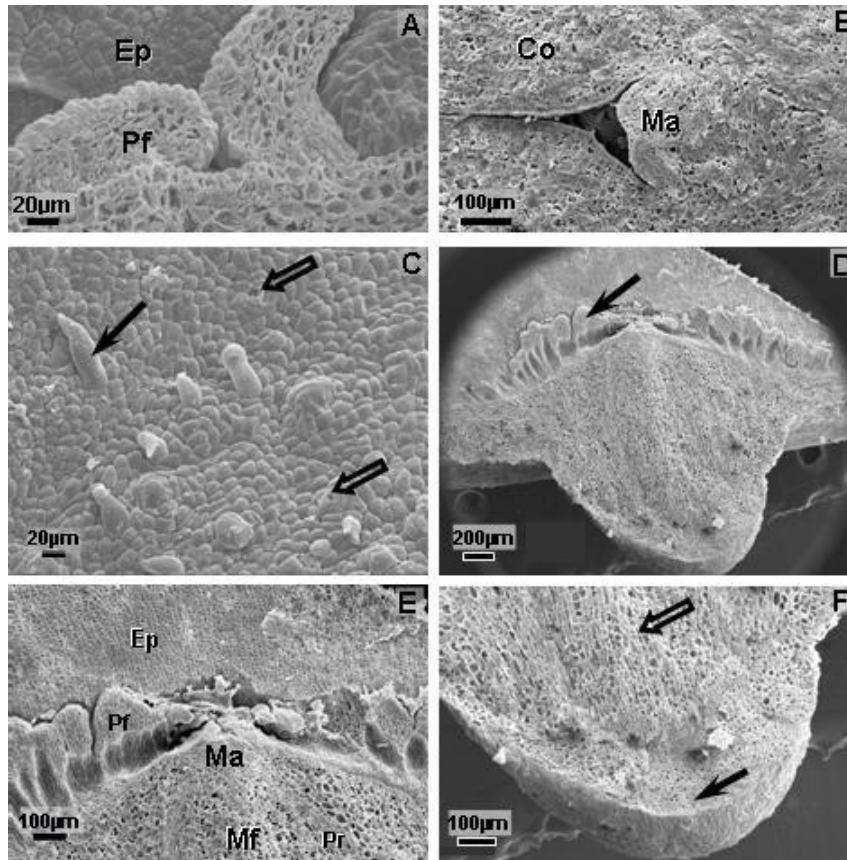


FIGURA 4. Eletromicrografias de varredura de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (A) Detalhe de primórdios foliares em secção longitudinal. (B) Meristema apical do eixo embrionário e cotilédones seccionados, mostrando continuidade entre o eixo embrionário e os cotilédones. (C) Detalhe da epiderme da face adaxial cotiledonar em vista frontal, com destaque para tricoma unicelular (seta cheia) e estômatos (setas vazias). (D) Visão geral do eixo embrionário de semente germinando após 10 dias de embebição a 25°C, com destaque para os primórdios foliares (seta). (E) Meristema apical de semente germinada, com alteração para forma cônica (comparar com a figura 3A). (F) Detalhe do ápice da raiz após protrusão, com destaque para a coifa (seta cheia) e o cilindro vascular (seta vazia). (A-B, D-F) Seções longitudinais obtidas por corte em nitrogênio líquido (-186°C). **Co** = cotilédone, **Ep** = epiderme da face adaxial do cotilédone, **Ma** = meristema apical do caule, **Mf** = meristema fundamental medular, **Pf** = primórdio foliar, **Pr** = procâmbio.

Em *E. pyriformis*, o eixo embrionário na semente madura tem menos de 1,0 mm (Figura 2B), enquanto os cotilédones são proporcionalmente maiores, podendo apresentar de 1,0 a 2,0 cm de comprimento (Figura 1D). Nas sementes em desenvolvimento de *E. puniceifolia*, o eixo embrionário é mais longo que os cotilédones, mas, na semente madura, a relação se inverte devido à deposição de reservas nos cotilédones, os quais se tornam volumosos na razão de 3:1 em relação ao eixo (Strassburg, 2004, comunicação pessoal). Segundo Barroso (2002) e Landrum & Stevenson (1986), na subtribo Eugeniinae (*Calycorectes*, *Eugenia* e *Siphoneugena*) ocorrem os cotilédones carnosos; nas Myrtinae (*Campomanesia* e *Psidium*), são vestigiais e nas Myrciinae (*Calypttranthes*, *Gomidesia* e *Myrcia*), são folhosos e mais largos em relação ao hipocótilo.

Nas sementes recém-colhidas, as células de ambos os meristemas apicais são pequenas (20 µm ou menos), não sendo observados grãos de amido nestas regiões (Figura 3A e B). Em algumas células da medula do eixo embrionário, o conteúdo é denso, preenchendo todo o espaço delimitado pelas paredes. No entanto, nas células ricas em amido, o citoplasma forma uma fina camada adjacente às paredes, indicando vacuolização (Figura 3D). Segundo Pammenter & Berjak (1999), tal característica é típica de sementes recalcitrantes e representa uma limitação à tolerância à dessecação, pois, durante a secagem, pode ocorrer stress mecânico sobre as células.

Observaram-se, ainda, sinais de mitose na região medular do eixo embrionário (Figura 3D), indicando metabolismo ativo das sementes maduras. Em outras espécies recalcitrantes, a respiração celular é mensurável em sementes recém-colhidas (Pammenter & Berjak, 1999) e o metabolismo dessas sementes mantém-se ativo para conteúdo de água superior a 0,25 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> de matéria seca (MS), ou seja, cerca de 20% de umidade (Vertucci & Leopold, 1984; Vertucci, 1989). No presente estudo, todos os tratamentos encontravam-se

acima desse limite, exceto as sementes armazenadas antes da embebição (Tabela 1 e 2).

TABELA 1. Conteúdo de água (%) das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. submetidas à secagem durante diferentes períodos de tempos e temperaturas. N= 5 repetições de sementes individuais por tratamento.

Temperatura de secagem (°C)	Tempo de secagem (h) *		Médias
	16	72	
20	48,58 ± 1,71 aA	46,68 ± 2,75 aA	47,63 A
35	45,89 ± 1,62 aA	30,64 ± 6,64 bB	38,27 B
Médias	47,23 a	38,66 b	42,95

\* Médias ± desvio padrão. Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Nas sementes germinadas, observaram-se grandes alterações morfológicas em comparação com as sementes recém-colhidas (Figura 2B e 4D). O meristema apical do caule alterou-se da forma convexa para a cônica e os primórdios foliares da forma alongada para achatada, indicando expansão lateral dos mesmos (Figura 3A e 4E). Houve alongamento da radícula (Figura 4D), na qual foi possível observar a coifa e o cilindro vascular em diferenciação (Figura 4F).

TABELA 2. Conteúdo de água das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. submetidas a diferentes tratamentos. N= 5 repetições de sementes individuais por tratamento.

Tratamento	Conteúdo de água (%) *	Contrastes	
Recém-colhidas **		Recém-colhidas	
Sementes pequenas	50,10 ± 1,99	Pequenas versus Grandes	NS
Sementes grandes	53,82 ± 2,03		
Embebição a 25°C (horas)		Embebidas	
72	55,09 ± 3,43	72 horas versus 240 horas	NS
240	57,09 ± 2,36 <sup>§</sup>	Embebidas versus recém-colhidas	**
Armazenamento @			
Antes da embebição	6,96 <sup>§</sup>	Armazenadas versus Recém-colhidas	NS
Após a embebição &	53,77 ± 4,85	Armazenadas versus Embebidas	NS

\* Médias ± desvio padrão

\*\* Tamanho definido de acordo com o diâmetro das sementes: pequenas de 0,5 a 0,9 cm e grandes de 1,0 a 2,0 cm.

§ Sementes germinadas, com 2 a 5 mm de protrusão de radícula

@ Armazenamento em embalagem semipermeável durante 7 meses a 10°C

\$ Amostra sem repetição

& Embebição a 25°C durante 72 horas em papel Germitest® umedecido com água destilada

NS= não significativo, \*\* = significativo, a 1% de probabilidade.

Para a comparação entre os tratamentos, procurou-se observar a mesma região em todas as amostras (Figura 5), pois, segundo Berjak & Pammenter (2000), ocorrem diferenças ultra-estruturais entre tecidos da mesma semente, indicando seus respectivos estados metabólicos.

Em relação às sementes recém colhidas (Figura 5A), ocorreu progressiva desestruturação do conteúdo citoplasmático nas células do meristema fundamental das sementes submetidas à secagem (Figura 5B). Estas alterações



foram mais intensas na secagem a 35°C, durante 72 horas, mas, a perda de água não havia sido letal até esse nível (Tabela 1; Capítulo 6). Embora os grãos de amido tenham permanecido visíveis, observaram-se alterações no citoplasma (Figura 5B) e, possivelmente, houve descompartimentação celular em função da secagem.

Berjak & Pammenter (2000) enfatizam que eventos com efeitos sobre a arquitetura intracelular podem ter profundas conseqüências sobre o funcionamento da célula, pois o citoesqueleto é uma estrutura tridimensional dinâmica, responsável pela manutenção das posições intracelulares das organelas umas em relação às outras. Portanto, a desorganização do citoesqueleto pode tornar a célula não funcional, caso o dano não possa ser reparado.

A secagem branda (16 horas) pode estimular o metabolismo da semente com respostas ultra-estruturais similares à diferenciação celular que ocorre durante a germinação. Segundo Berjak et al. (1984), esse nível de secagem estimulou o desenvolvimento mitocondrial, indicando um aumento da respiração celular. Contudo, no presente estudo, não foi possível observar tais organelas.

Nas sementes em fase de germinação, foram observados cordões de citoplasma ao redor dos grãos de amido, possivelmente devido ao início da hidrólise das reservas durante a embebição (Figura 5C).

O conteúdo celular estava completamente desintegrado nas células das sementes armazenadas (7 meses), embora os grãos de amido ainda estivessem presentes (Figura 5D). Aparentemente, não houve hidrólise do amido durante esse período. Os cotilédones apresentavam coloração marrom, mas não havia sinais de deterioração por fungos.

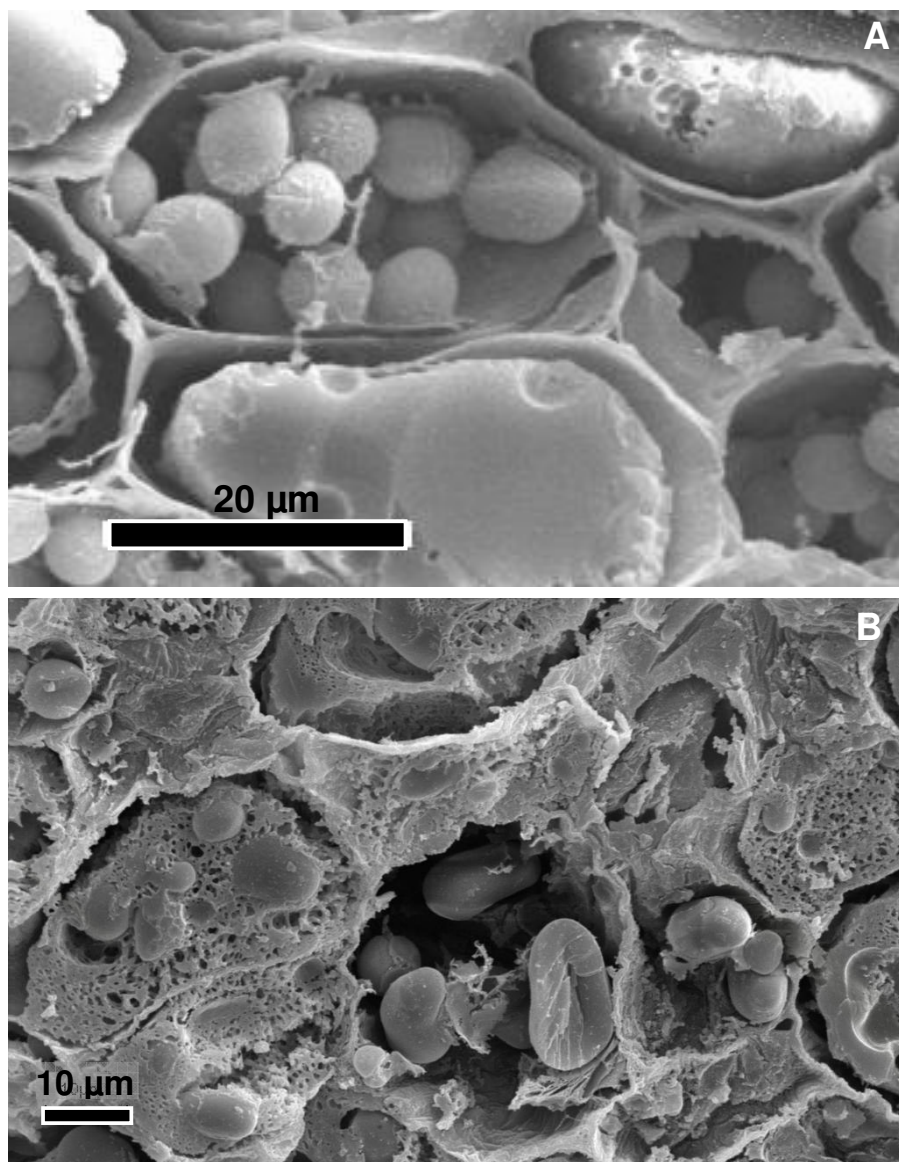


FIGURA 5. Eletromicrografias de varredura de células do meristema fundamental da região de conexão entre o eixo embrionário e os cotilédones de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. submetidas a diferentes tratamentos. (A) Sementes recém-colhidas. (B) Sementes dessecadas durante 72 horas, a 35°C, com destaque para citoplasma alveolado ao redor dos grãos de amido (continua).

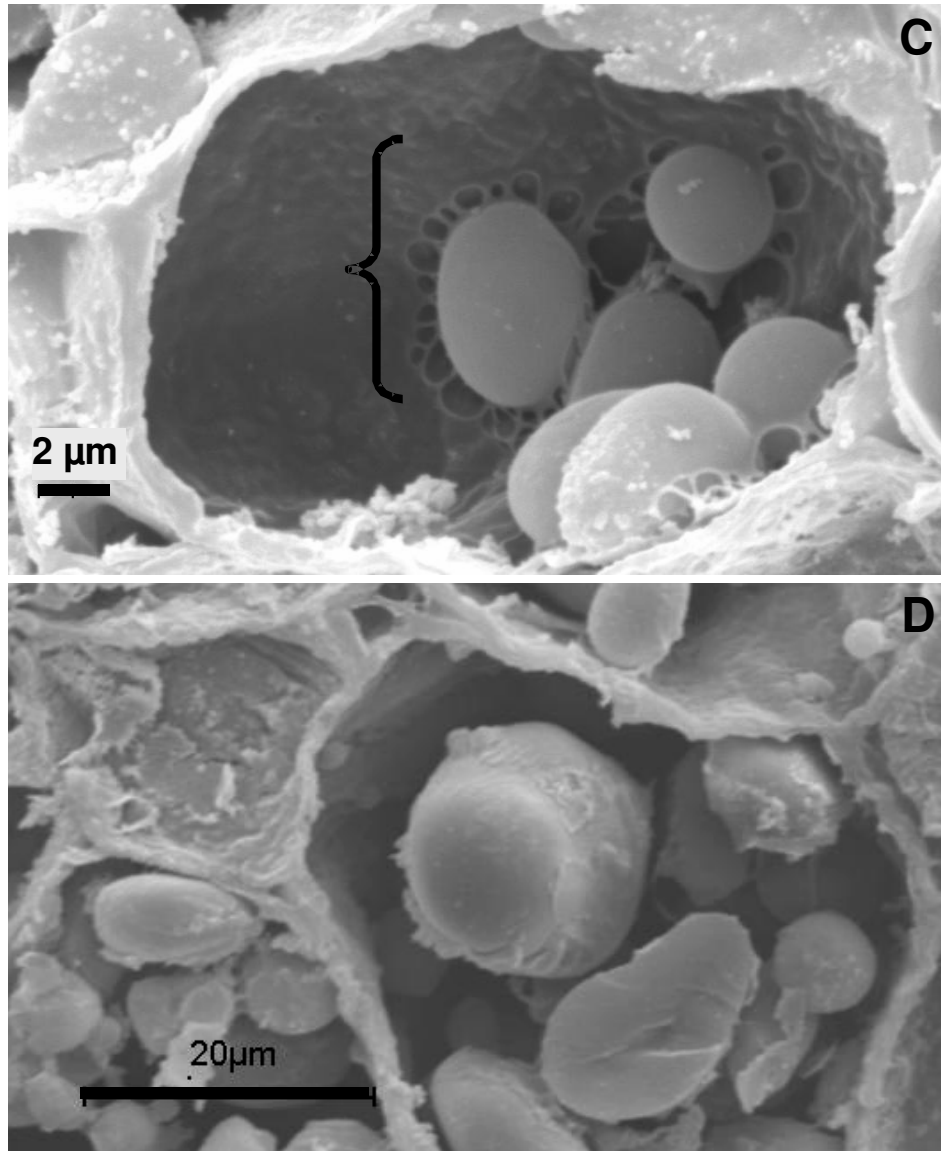


FIGURA 5. (continuação) (C) Sementes embebidas durante 3 dias, a 25°C, com destaque para os cordões de citoplasma ao redor dos grãos de amido (chave à esquerda). (D) Sementes armazenadas durante 7 meses, a 10°C e embebidas por 3 dias, a 25°C, antes da coleta de amostra. Notar desagregação do citoplasma.

Talvez a perda de viabilidade das sementes armazenadas de *E. pyriformis* esteja relacionada com processos endógenos de envelhecimento. Segundo Kranner & Birtic (2005), a falha dos sistemas antioxidantes causa envelhecimento, dando início ao processo de morte celular programada. O presente trabalho, no entanto, não permitiu a elucidação do mecanismo exato da deterioração das sementes de *E. pyriformis*.

Scalon et al. (2004), avaliando o desempenho germinativo em sementes de *E. uvalha* armazenadas por 120 dias em duas condições ambientais, observaram maior longevidade à temperatura mais baixa (10°C), com perda progressiva de viabilidade. Segundo Pammenter et al. (1984), o metabolismo não é interrompido durante o armazenamento de sementes recalcitrantes, podendo apresentar diferenciação celular similar à que ocorre durante a germinação. O trabalho de Farrant et al. (1986) confirma essas observações, pois as sementes de *Avicennia marina* (Forsk) Vierh. tornam-se progressivamente sensíveis à medida que os processos germinativos ocorrem, mesmo durante o armazenamento.

O teor de água das sementes recém-colhidas era de cerca de 50%, notando-se pequena variação entre sementes grandes e pequenas (Tabela 2). A secagem das sementes resultou em redução do conteúdo de água de acordo com o tempo de secagem e a temperatura, a perda foi maior a 35°C e 72 horas de secagem (Tabela 1). Embora esse conteúdo de água (30%) esteja acima do limite letal para as sementes, a secagem até esse nível reduz significativamente a velocidade de germinação das sementes (Capítulo 6). Resultados similares foram obtidos por Andrade & Ferreira (2000) para sementes de *E. pyriformis* armazenadas a 5°C e a 15°C, com decréscimo da emergência para um conteúdo de água inferior a 20% e perda total de viabilidade para 14%, indicando o caráter recalcitrante dessas sementes.

Nos tratamentos de secagem mais branda (16 e 72 horas, a 20°C e 16 horas, a 35°C), os conteúdos de água das sementes apresentaram pequena redução em relação ao conteúdo inicial (Tabelas 1 e 2) e os danos ultra-estruturais foram menores em comparação à secagem por 72 horas, a 35°C (Figura 6).

Em conteúdos intermediários de água (entre 25% e 45%), o metabolismo pode estar desregulado e existem evidências de danos causados por reações químicas envolvendo radicais livres (Finch-Savage et al., 1994; Hendry et al., 1992; Hendry, 1993; Leprince et al., 1990; 1992; Vertucci & Farrant, 1995), os quais contribuem para a peroxidação de lipídeos (Hendry et al., 1992). Tommasi et al. (1999), estudando os mecanismos antioxidantes em sementes recalcitrantes e ortodoxas, observaram grandes diferenças entre estas duas classes: o conteúdo de ácido ascórbico é mais elevado nas recalcitrantes em relação às ortodoxas, porém, o sistema enzimático de regeneração do ácido ascórbico é mais eficiente nas sementes ortodoxas.

Os mecanismos antioxidantes desempenham um importante papel na aquisição da tolerância à dessecação das sementes em desenvolvimento e na armazenabilidade. A perda de viabilidade durante a secagem está relacionada com a falha desses mecanismos. Os compostos fenólicos têm propriedades antioxidantes *in vitro*, todavia, o papel desses compostos como antioxidantes citoplasmáticos ainda é incerto (Bailly, 2004; Finch-Savage et al., 1994; Kranter & Birtic, 2005; Rice-Evans et al., 1996).

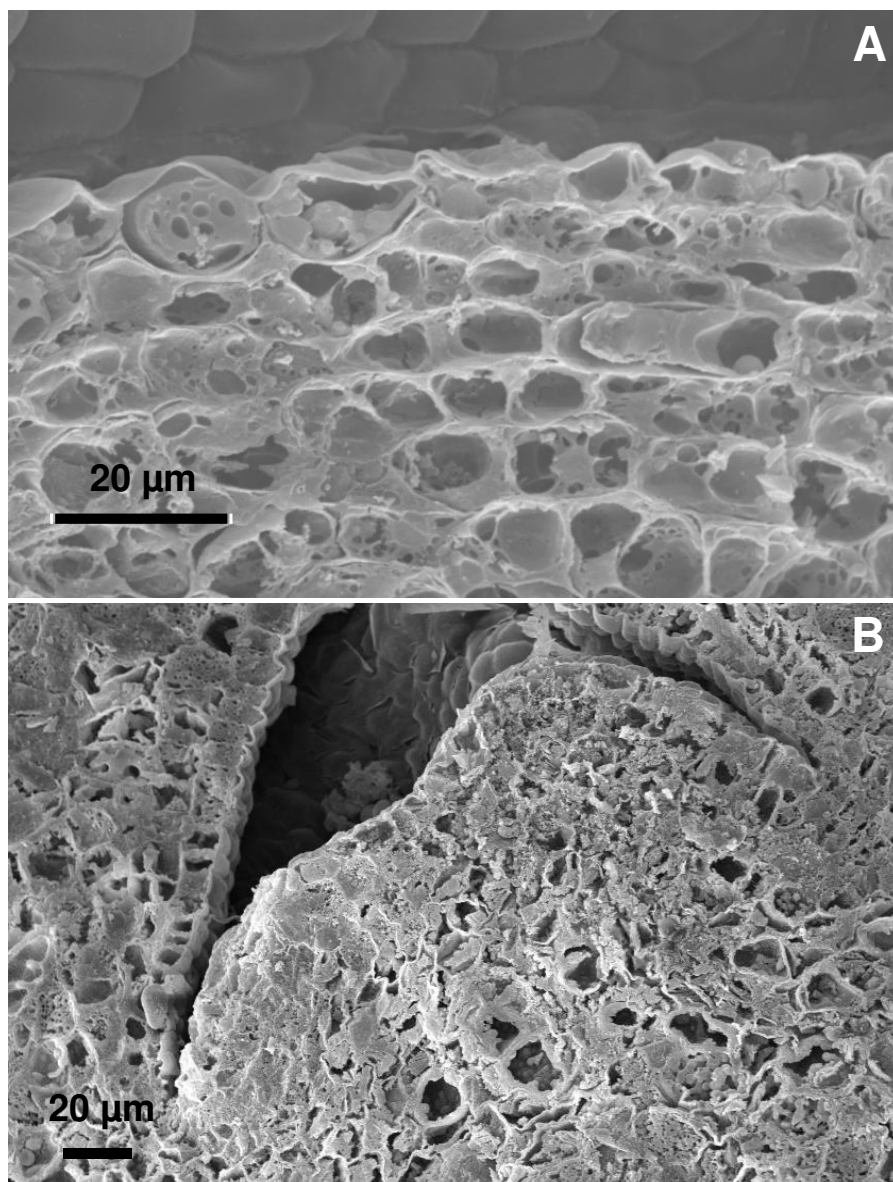


FIGURA 6. Eletromicrografias de varredura dos meristemas apicais do eixo embrionário de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. submetidas a diferentes tratamentos de secagem. (A) Secagem branda durante 16 horas, a 35°C, com poucos danos ultra-estruturais. (B) Secagem intensa durante 72 horas, a 35°C, com danos ultra-estruturais significativos.

As sementes de *Theobroma cacao* L., embora ricas em compostos fenólicos, apresentam sensibilidade à dessecação (Chandel et al., 1995; Niemenak et al., 2006). As sementes de *E. pyriformis* também são ricas nesse tipo de compostos (dados não publicados).

Nas sementes embebidas e germinadas, o conteúdo de água aumentou ligeiramente em relação ao conteúdo nas sementes recém-colhidas (Tabela 2). Farrant et al. (1986) argumentam que a embebição não é indispensável para a ocorrência de processo germinativo em sementes recalcitrantes. No entanto, considerando o conteúdo de água em base seca (Vertucci, 1989), observa-se que nas sementes recém-colhidas era de 1,007 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> MS, aumentando para 1,336 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> MS nas sementes germinadas (240 horas), ou seja, elas absorveram mais de 32% do seu conteúdo inicial. Contudo, considerando o teor de água em função da massa fresca, o conteúdo aumentou cerca de 7%, o que parece pouco relevante, embora seja estatisticamente significativo (Tabela 2 e Figura 7). Essa absorção de água pode ter contribuído para a expansão celular associada à germinação.

Segundo De Castro & Hilhorst (2004), o alongamento das células da radícula inicia-se para um conteúdo de água em torno de 55% e a sua protrusão ocorre a cerca de 60%, embora o modelo tenha sido elaborado para sementes ortodoxas com padrão trifásico de germinação. Provavelmente, este limiar também se aplica para a espécie estudada no presente trabalho. Em estudos de armazenamento de sementes de *E. pyriformis* observou-se germinação dentro das embalagens, indicando que havia umidade suficiente para induzir o processo (Capítulo 5).

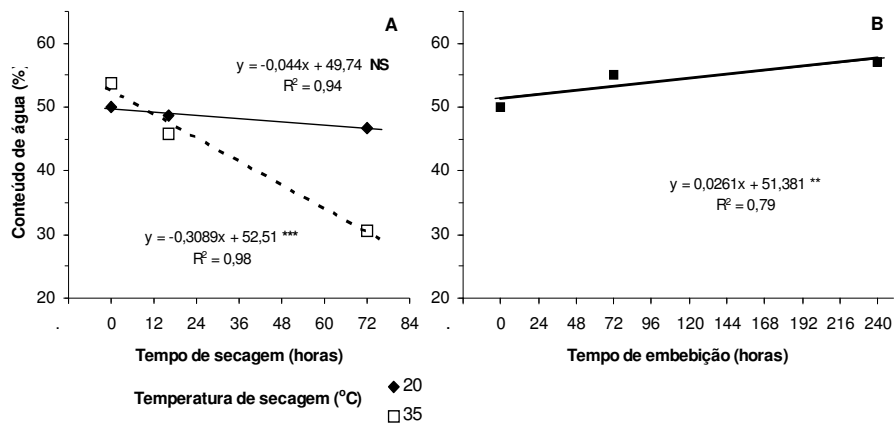


FIGURA 7. Regressão linear da variação do conteúdo de água das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. submetidas a diferentes tratamentos. (A) Secagem à temperatura de 20°C e 35°C. (B) Embebição a 25°C em papel Germitest®. O conteúdo de água foi determinado em estufa a 105°C (Brasil, 1992). NS= não significativo, \*\* = significativo a 1% de probabilidade, \*\*\*= significativo a 0,1% de probabilidade.

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados, conclui-se que eixo embrionário das sementes de *E. pyriformis* é diferenciado; as células são ricas em grãos de amido e o pólo embrionário localiza-se em uma das extremidades da rafe. A secagem promoveu danos ultra-estruturais, bem como a deterioração durante o armazenamento. Portanto, para manter a viabilidade das sementes, devem-se evitar a secagem e o armazenamento prolongado antes da sementeira. O ganho de água que precede a germinação é pequeno, mas significativo para o desencadeamento do processo.



## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: UFLA, 2004. 51 p.
- ANDRADE, A.C.S.; CUNHA, R.; SOUZA, A.F.; REIS, R.B.; ALMEIDA, K.J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.
- ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia n. *Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.
- ANJOS, A. M. G.; FERRAZ, I. D. K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi n. *Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 29, p. 337-348, 1999.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 1, p. 93-107, Mar. 2004.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2002. 377 p.
- BERJAK, P.; DINI, M.; PAMMENTER, N.W. Possible mechanisms underlying the differing dehydration responses in recalcitrant and orthodox seeds: desiccation-associated subcellular changes in propagules of *Avicennia marina*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, p. 365-384, 1984.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 22-55, 2000. Especial.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BULOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado n. *Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 961-970, jun. 1994.
- CHANDEL, K. P. S.; CHAUDHURY, R.; RADHAMANI, J.; MALIK, S. K. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 5, p. 443-450, Nov. 1995.

COSTA, I. R. da. **Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil**. 2004. 80 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Campinas, Campinas.

De CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149-162.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 2002. 288 p.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with storage time. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 67, n. 2, p. 291-298, June 1986.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**, versão 4. 6. Lavras: UFLA, 2003. Disponível em: danielff@ufla.br.

FINCH-SAVAGE, W. E.; HENDRY, G. A. F.; ATHERTON, N. M. Free radical activity and loss of viability during drying of desiccation-sensitive tree seeds. **Proceedings of the Royal Society of Edinburgh**, Edinburgh, v. 102B, p. 257-260, 1994.

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JÚNIOR, A. Fenologia da floração e maturação dos frutos da uvalheira n. *Eugenia pyriformis* Camb.), em Pelotas, RS. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 10., 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 397-402. (Embrapa Clima Temperado. Documentos 123).

GOLDBACH, H. Imbibed storage of *Melicoccus bijugatus* and *Eugenia brasiliensis* n. *E. dombeyi*) using abscisic acid as a germination inhibitor. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 7, n. 3, p. 403-406, 1979.

HENDRY, G. A. F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 141-153, June 1993.

HENDRY, G. A. F.; FINCH-SAVAGE, W. E.; THORPE, P. C.; ATHERTON, N. M.; BUCKLAND, S. M.; NILSSON, K. A.; SEEL, W. A. Free radical processes and loss of viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. **New Phytologist**, Cambridge, v. 122, n. 2, p. 273-279, Oct. 1992.

KARNOVISKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n. 2, p. 137A-138A, 1965.

- KRANNER, I.; BIRTIC, S. A modulating role for antioxidants in desiccation tolerance. **Integrative and Comparative Biology**, Madison, v. 45, n. 5, p. 734-740, Nov. 2005.
- LANDRUM, L. R.; STEVENSON, D. Variability of embryos in subtribe Myrtinae n. Myrtaceae). **Systematic Botany**, Kent, v. 11, n. 1, p. 155-162, Jan./Mar. 1986.
- LEAL, M. A. G. **Fórum do Atelier do Bonsai**. 2005. Disponível em: <<http://www.atelierdobonsai.com.br/forum/viewtopic.php?t=355&start=0&postdays=0&postorder=asc&highlight=>>. Acesso em: 14 jan. 2006.
- LEPRINCE, O.; DELTOUR, R.; THORPE, P. C.; ATHERTON, N. M.; HENDRY, G. A. F. The role of free radicals and radical processing systems in loss of desiccation tolerance in germinating maize. **New Phytologist**, Cambridge, v. 116, n. 4, p. 573-580, Dec. 1990.
- LEPRINCE, O.; van der WERF, A.; DELTOUR, R.; LAMBERS, H. Respiratory pathways in germinating maize radicles correlated with desiccation tolerance and soluble sugar. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 85, p. 581-588, 1992.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 1 e 2.
- LUCAS, E.J.; BELSHAM, S.R.; NIC LUGHADHA, E.M.; ORLOVICH, D.A.; SAKURAGUI, C.M.; CHASE, M.W.; WILSON, P.G. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 251, p. 35-51, 2005.
- MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, 2003.
- NIEMENAK, N.; ROHSIUS, C.; ELWERS, S.; NDOUMOU, D. O.; LIEBEREI, R. Comparative study of different cocoa n. *Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, n. 6/7, p. 612-619, Sept. Nov. 2006. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science>>. Acesso em: 10 fev. 2006.
- PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Mar. 1999.

- PAMMENTER, N. W.; FARRANT, J. M.; BERJAK, P. Recalcitrant seeds: short term storage effects in *Avicennia marina*. n. Forsk.) Vierh. may be germination associated. **Annals of Botany**, London, v. 54, n. 6, p. 843-846, 1984.
- PRAKASH, N. Embryological studies on economic plants. **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v. 17, n. 4, p. 525-534, 1979.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, Oxford, v. 20, n. 3, p. 933-956, 1996.
- RIZZINI, C. T. Efeito tegumentar na germinação de *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 3, p. 381-402, set. 1970.
- SALOMÃO, A. N.; SANTOS, I. R. I. Seed tolerance to desiccation of Brazilian fruit trees; a preliminary study. **International Plant Genetic Resource Institute Newsletter**, Copenhagen, v. 7, p. 27-28, Oct. 2000.
- SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. Análise estatística da germinação. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 175-204, 2000. Edição especial.
- SCALON, S.; SCALON-FILHO, H.; RIGONI, M. R. Armazenamento e germinação de sementes de uvaia *Eugenia uvalha* Cambess. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1228-1234, nov./dez. 2004.
- SCHMEDA-HIRCHMANN, G.; THEODOLUZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; ARIAS, A. R. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora*: xantina oxidase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 21, n. 2, p. 183-186, Nov. 1987.
- SCHMID, R. A resolution of the *Eugenia-Syzygium* controversy n. Myrtaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 59, n. 4, p. 423-436, Apr. 1972.
- SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do Cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. 178 p.
- STRASSBURG, R. C. **Estrutura e origem da semente e embrião em espécies de Myrtaceae da Serra do Cipó – MG**. 2004. 92 p. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- THEODOLUZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; SCHMEDA-HIRCHMANN, G. Xanthine oxidase inhibitory activity of Paraguayan Myrtaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 24, n. 2/3, p. 179-183, Dec. 1988.

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; ARRIGONI, O. The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 105, n. 2, p. 193-198, Feb. 1999.

VAN WYK, A. E.; BOTHA, R. The genus *Eugenia* n. Myrtaceae) in southern Africa: Ontogeny and taxonomic value of the seed. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 3, n. 1, p. 63-80, 1984.

VERTUCCI, C. W. The effects of low water contents on physiological activities of seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 77, n. 1, p. 172-176, Sept. 1989.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, A. C. Bound water in soybean seed and its relation to respiration and imbibitional damage. **Plant Physiology**, Rockville, v. 75, n. 1, p. 114-117, Jan. 1984.



## **CAPÍTULO IV**

### **GERMINAÇÃO E DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLÂNTULAS OBTIDAS DE SEMENTES FRACIONADAS DE *Eugenia pyriformis* Camb.**

## 1 RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas obtidas de sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb.). In:\_\_\_\_\_. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006. Cap. 4, p. 99-144. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

No presente trabalho avaliou-se a capacidade de multiplicação de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae) a partir de sementes fracionadas, usando a rafe como referência no tegumento. Sementes viáveis de dois tamanhos (grandes e pequenas) foram cortadas transversal ou longitudinalmente. As sementes inteiras ou suas frações foram colocadas para germinar e avaliaram-se a germinação, a emergência do epicótilo e o desenvolvimento de plântulas normais. A germinação foi mais rápida para as sementes cortadas, em comparação com as sementes inteiras. Observou-se maior porcentagem de germinação nas sementes grandes cortadas longitudinalmente. A emergência do epicótilo foi maior para os dois tamanhos de sementes cortadas longitudinalmente. A velocidade de emergência do epicótilo (IVE) foi maior para as sementes grandes em corte longitudinal. O desenvolvimento de plântulas normais também foi maior nesse tratamento. Conclui-se que as sementes que tiveram o eixo embrionário fracionado longitudinalmente tiveram capacidade de desenvolver plântulas normais a partir de cada fração. As plântulas foram aclimatizadas com sucesso para todos os tratamentos. O fracionamento não afetou a arquitetura das plântulas, nem a partição de biomassa.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).



## 2 ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. Seed germination and initial development of seedlings of *Eugenia pyriformis* Camb. after cutting. In:\_\_\_\_\_. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006. Chap. 4, p. 99-144. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

Seed cutting has been suggested as a way to vegetative multiplication. This work evaluated propagation capacity of *Eugenia pyriformis* (Myrtaceae). Previous studies recommended immediate sowing, because seed longevity is short. Seeds were separated in two groups as a function of seed weight (small and big). Control seeds were not sliced. Treated seeds were split longitudinally or transversally to raphe. The experiment was carried out in a randomized way using a factorial scheme (2 sizes x 3 cuts). A germination test was carried out at 22±2°C in dark chamber between paper towels, with 12 seeds or their fractions in each Gerbox. Germination and epicotile emergence were evaluated every other day and normal seedling each 10 days. Germination was higher and faster for cut seeds. Emergence and production of normal seedlings were higher for big seeds with longitudinal cut. Transversal cuts produced roots in both halves, indicating high regenerative capacity, even in the absence of embryo axe. Seedlings were successfully acclimatized. Seed cutting did not have effect on seedling architecture nor on biomass partitioning.

---

\* Guidance committee: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga (Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

A maior parte das espécies de *Eugenia* nativas do Brasil produz frutos, geralmente, com uma ou duas sementes. Além disso, a disponibilidade de matrizes, geralmente, é baixa (Silva et al., 2005). Com relação à estrutura das sementes, Barroso (2002) afirma que, no gênero *Eugenia*, o embrião é globoso, sem diferenciação aparente entre o eixo embrionário e os cotilédones, sendo denominado conferruminado, devido à dificuldade de distinção da linha de soldadura entre os cotilédones.

As sementes de diversas espécies *Eugenia* são sensíveis à dessecação e não podem ser armazenadas por longos períodos (Andrade & Ferreira, 2000; Andrade et al., 2003; Bulow et al., 1994; Delgado, 2006; Farias Neto et al., 1991; Goldbach, 1979; Kohama et al., 2006; Maluf et al., 2003), sendo denominadas recalcitrantes em comparação às sementes ortodoxas, pois este termo sugere um comportamento “teimoso” com relação ao armazenamento (Neves, 1994; Roberts, 1973).

A conservação de espécies com sementes recalcitrantes depende da manutenção de coleções vivas em jardins botânicos, estações experimentais e centros de pesquisas (Phartyal et al., 2002), as quais estão sujeitas ao ataque de pragas, estresses climáticos, guerras e conflitos sociais que podem subitamente dizimar toda a coleção. Além disso, exige grandes espaços e sua manutenção envolve custos de poda, adubação, irrigação, combate a pragas, dentre outras necessidades de manejo (Brasil, 2005; FAO, 1995; Panis & Lambardi, 2005; Santos, 2000). A multiplicação de muitas espécies arbóreas é realizada a partir de sementes, somando-se problemas de coleta, processamento e fitossanidade (Schmidt, 2000).

A micropropagação pode ser uma alternativa para a propagação em diferentes circunstâncias, tais como a multiplicação de genótipos resistentes a doenças, mais produtivos, híbridos e organismos geneticamente modificados, entre outros (Redenbaugh, 1991). Algumas espécies de importância econômica com sementes recalcitrantes e intermediárias têm sido micropropagadas, tais como *Coffea arabica* L. (café), *Theobroma cacao* L. (cacau) e *Hevea brasiliensis* (Willd. Ex Juss.) Muell. Arg. (seringueira) (Dublin et al., 1991), incluindo algumas espécies frutíferas tropicais, como *Persea americana* Mill. (abacate), *Mangifera indica* L. (manga), *Artocarpus heterophyllus* Lam. (jaca) e *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. (jaboticaba) (Litz & Jaiswal, 1991). A micropropagação “*in vitro*” de *E. pyrifomis* foi realizada com sucesso a partir de segmentos nodais de plântulas (Nascimento, 2006). O custo da produção de plântulas “*in vitro*” varia com a espécie e a técnica usada, mas geralmente, tem custo mais elevado do que a propagação convencional (Thorpe et al., 1991).

Embriões zigóticos ou cotilédones podem ser cultivados com sucesso para produzir plantas férteis (Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989), servindo como fonte de explantes para a propagação “*in vitro*” de diversas espécies florestais, tais como *Ilex* spp., *Larix* spp., *Pinus* spp., *Quercus* spp., *Santalus* spp., entre outras (Thorpe et al., 1991) e frutíferas, como *Garcinia mangostana* L. (mangustão). No entanto, os explantes mais comuns são segmentos nodais e ápices caulinares (Litz & Jaiswal, 1991).

O fracionamento de sementes foi sugerido como uma forma de propagação vegetativa de espécies com baixa disponibilidade de sementes. Silva et al. (2003), tentando maximizar o uso das sementes na produção de mudas, fracionaram as sementes de *Eugenia pyrifomis* (Myrtaceae), obtendo mais de uma plântula normal por semente. Essa forma de propagação vegetativa demonstra a capacidade de regeneração a partir de frações de sementes e

também foi observada em outras espécies de *Eugenia* (Anjos, 1998, citado por Silva et al., 2003; Silva et al., 2005).

No contexto do processo germinativo, considera-se a embebição como um processo físico que está relacionado com as propriedades dos colóides presentes na semente e não depende da viabilidade da mesma. A curva de embebição constitui-se num importante procedimento técnico para auxiliar na identificação de dormência associada à dureza e à impermeabilidade do tegumento, pois a entrada de água na semente é determinada, em primeira instância, pela permeabilidade dos seus revestimentos (Bewley & Black, 1994; Lula et al., 2000; Mayer & Poljakoff-Mayber, 1989).

Sucedendo a germinação da semente, a aclimatização é uma etapa fundamental para garantir a sobrevivência do material propagado, pois, durante a fase de propagação as condições ambientais diferem muito das condições externas, com relação à luminosidade e à umidade relativa do ar (Preece & Sutter, 1991). Alguns autores denominam essa fase como endurecimento ou “hardening-off” (Hartmann et al., 1990).

A partição de biomassa e a arquitetura das plantas podem ser afetadas por vários fatores ambientais, conforme observado para diversas espécies, como *Bauhinia forficata* Link. (Atroch et al., 2001), *Eugenia uniflora* L. (Scalon et al., 2001), *Hymenaea stilbocarpa* Hayne (Zanela, 2001), *Hymenaea courbaril* L., *Ochroma lagopus* (cav. Ex Lamb.) Urban, *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Campos & Uchida, 2002), *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns (Scalon et al., 2003), *Cupania vernalis* Camb. (Lima Júnior, 2004), *Campomanesia rufa* (Berg.) Nied. (Rezende, 2004) e *Calophyllum brasiliense* Cambess. (Nery, 2006). Geralmente, esse tipo de estudo é realizado em condições de viveiro por propagação sexuada. Nos estudos de propagação por fracionamento de sementes, não foi avaliado o efeito do fracionamento sobre o desenvolvimento das plântulas (Silva et al., 2003; 2005).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas obtidas de sementes fracionadas de *E. pyriformis*, comparadas com plântulas obtidas de sementes inteiras, nas mesmas condições de germinação e aclimatização.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de uvaia foram obtidas de três matrizes adjacentes localizadas na zona urbana de Lavras, MG (21°13'40"S e 44°57'50"W GRW). A identificação das plantas foi realizada no herbário ESAL, por comparação com outras amostras, depositando-se uma exsicata com número de registro 20468.

As sementes foram obtidas de frutos maduros recém-caídos, em 3 de outubro de 2005. A polpa dos frutos foi removida sob água corrente e o excesso de água na superfície das sementes foi removido com papel-toalha. As sementes foram tratadas com Captan (240 mg de pó por 100 g de semente) e armazenadas durante 60 dias, a 15°C, em embalagens plásticas de polietileno para alimentos a 100% UR.

Separaram-se, visualmente, amostras de sementes de dois tamanhos (grandes e pequenas), avaliando-se a massa de três repetições de 50 sementes de cada tamanho, para estimativa da massa média individual.

O teor de água foi determinado separadamente para sementes grandes e pequenas, com duas sementes por repetição e três repetições para cada tamanho, em estufa a 105°C, durante 24 horas, conforme Brasil (1992).

O tegumento das sementes foi mantido e seu fracionamento foi realizado com lâmina de bisturi. O corte foi realizado longitudinalmente à rafe ou transversalmente a ela, de modo a separar duas metades de tamanho

aproximadamente igual (Figura 1). Na distribuição das sementes em caixas plásticas do tipo Gerbox®, as metades foram mantidas lado a lado. Amostras de sementes inteiras, dos dois tamanhos, foram utilizadas como testemunhas. Desse modo, as parcelas com sementes inteiras eram formadas por 12 “entidades germinativas”, enquanto as parcelas com sementes fracionadas eram formadas por 24 “entidades germinativas”. Tais valores foram considerados como 100% para os cálculos de porcentagem.

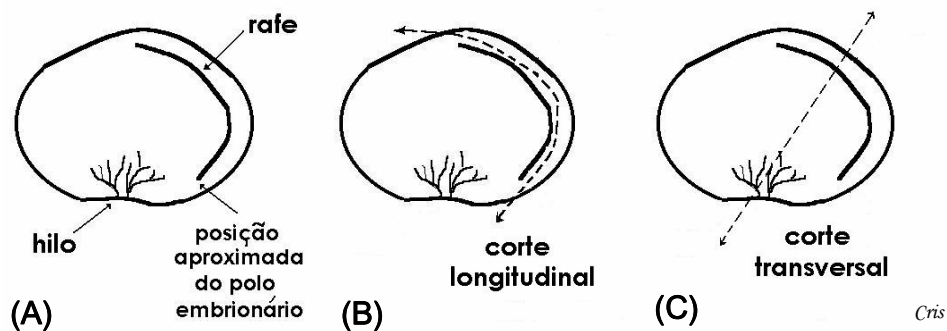


FIGURA 1. (A) Representação esquemática da semente de *Eugenia pyriformis* Camb., com alguns detalhes do tegumento e a posição aproximada do pólo embrionário em relação a essas estruturas. (B) Posição do corte longitudinal e (C) Posição do corte transversal.

As sementes inteiras ou suas frações foram colocadas para germinar em caixas plásticas do tipo Gerbox sobre dois pedaços de papel Germitest® autoclavado e cobertas por outro pedaço de papel nas dimensões internas da placa. O papel foi embebido, inicialmente, em 10 mL de água destilada, a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , em câmara de germinação do tipo Mangelsdorff no escuro. A adição de água foi realizada periodicamente para manter as placas úmidas. Após 30 dias, a folha de papel sobre as sementes foi removida e, após 40 dias, as plântulas

passaram a receber  $3,0 \mu\text{mol}$  de fótons. $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , de uma lâmpada fluorescente branca, durante 12 horas diárias. A radiação fotossinteticamente ativa foi medida com um quantômetro LI 1600M (LICOR).

Foram realizadas avaliações a cada dois dias, para registro da germinação e da emergência do epicótilo e, a cada dez dias, para a avaliação de plântulas normais. O experimento foi acompanhado por um período de 110 dias.

As sementes foram consideradas germinadas com a protrusão de 2,0 mm de radícula. Calcularam-se a porcentagem total de germinação aos 110 dias e o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo a fórmula proposta por Maguire (1962). A mesma fórmula foi usada para cálculo da velocidade de emergência do epicótilo (IVE) e do desenvolvimento de plântulas (IVP), as quais foram consideradas normais ao atingir, no mínimo, 1,0 cm de epicótilo com primórdios foliares e 3,0 cm de raiz com aparência saudável (ápice branco leitoso).

Calculou-se a entropia informacional conforme Labouriau (1983) e o tempo médio de germinação, de acordo com Baptista de Carvalho et al. (2001). Cálculos similares foram realizados para a emergência de epicótilo e desenvolvimento de plântulas. Segundo Borghetti & Ferreira (2004), o tempo médio avalia o processo com caráter cinético e fornece informações sobre as vias metabólicas envolvidas, enquanto a entropia informacional indica a sincronização do processo.

Utilizaram-se as fórmulas desenvolvidas por Silva et al. (2003) para o cálculo do fator de incremento na germinação (FIG) e do fator de incremento na produção de plântulas normais (FIP). O FIG representa o número médio de frações germinadas a partir do fracionamento de uma semente:

$$\text{FIG} = \text{nfg} \cdot \text{ns}^{-1} \quad (1)$$

em que nfg = número total de frações germinadas por repetição e ns = número de sementes colocadas para germinar em cada repetição.

Da mesma forma, o FIP é o número médio de plântulas normais obtidas a partir do fracionamento de uma semente:

$$\text{FIP} = \text{npn} \cdot \text{ns}^{-1} \quad (2)$$

em que npn = o número total de plântulas normais por repetição e ns = o número de sementes colocadas para germinar em cada repetição.

Aplicaram-se diferentes modelos matemáticos aos dados de germinação acumulada em função do tempo, optando-se pelo modelo de melhor ajuste, com maior coeficiente de determinação dentro dos graus de liberdade disponíveis. A emergência acumulada e o desenvolvimento acumulado de plântulas receberam tratamento similar.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), compondo um esquema fatorial com 6 tratamentos (2 tamanhos de semente x 3 tipos de corte) em DIC com 4 repetições e 12 sementes por repetição. Realizou-se análise de variância e a comparação entre médias foi feita pelo teste de Tukey, a 5% de significância, pelo programa Sisvar (Ferreira, 2003).

A curva de embebição foi realizada com três repetições para cada tipo de corte, nas mesmas condições de germinação ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$  no escuro em caixas plásticas do tipo Gerbox® com papel Germitest®). As sementes foram pesadas antes do início da embebição e a intervalos de tempo para cálculo do incremento em relação à massa inicial (Lima Júnior, 2004). Uma amostra foi utilizada para a determinação do conteúdo inicial de água das sementes antes da embebição. A taxa de embebição foi derivada para cada intervalo de tempo, sendo os valores expressos em porcentagem de incremento por hora ( $\% \cdot \text{h}^{-1}$ ).

Para a aclimatização, 25 plântulas normais de cada tratamento foram transferidas para bandejas plásticas<sup>1</sup> com fundo perfurado contendo 7 L de

---

<sup>1</sup> Dimensões das bandejas: 10x28x42cm (altura x largura x comprimento)



Vermiculita® autoclavada de textura fina. Em um estudo anterior, considerou-se a areia como o melhor substrato para o desenvolvimento de plântulas de *E. pyriformis* (Nascimento, 2006), mas optou-se pela vermiculita devido a sua capacidade de fixação de nutrientes (Marchetti, 1987; 1992) e de retenção de água (Cruz, 1985).

As bandejas foram mantidas em sala de crescimento sob temperatura de  $25\pm 4^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas (D/N) sob luz branca fluorescente. A intensidade da luz foi controlada com telas de sombrite. Iniciou-se com  $28,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) medida com quantômetro LI 1600M, passando para  $40,0 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e, finalmente, para  $57,3 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  após 4 semanas. Durante os primeiros 20 dias, as bandejas permaneceram cobertas por plástico transparente de PVC para minimizar a perda de umidade.

Antes do plantio, aplicou-se ao substrato 1,5 L por bandeja de solução nutritiva completa de Johnson modificada (Johnson, 1957, citado por Epstein, 1975) com força completa e pH ajustado para 6,0, devido à recomendação de fertilização suplementar para a vermiculita (Martin et al., 2006). Novas aplicações de solução nutritiva foram realizadas a cada 40 dias (400 mL/bandeja). Para manter o substrato úmido entre as aplicações, adicionaram-se 400 mL de água destilada por bandeja, a cada 2 dias.

Após 120 dias de transplante, avaliou-se a porcentagem de sobrevivência das plântulas, que não foi analisada estatisticamente; atribuíram-se notas de acordo com a aparência das plântulas, para as quais aplicou-se estatística não-paramétrica, considerando uma amostra de 25 plântulas por tratamento. Para uma subamostra de cinco plântulas por tratamento, contou-se o número de folhas e mediu-se o comprimento da parte aérea e da raiz. Cada plântula foi considerada como uma repetição. Calculou-se a razão de alongamento (RA) a partir das medidas de comprimento de caule e raiz:

$$RA = CC \cdot CR^{-1} \quad (3)$$

em que: CC = comprimento do caule (cm) e CR = comprimento da raiz (cm).

A razão de distribuição foliar (RDF) (folhas.cm<sup>-1</sup>) foi calculada para avaliar a distribuição das folhas ao longo do caule:

$$RDF = NF \cdot CC^{-1} \quad (4)$$

em que: NF = número de folhas de uma plântula e CC = comprimento do caule (cm).

Separaram-se as partes das plantas, levando para secagem em estufa com ventilação forçada a 60°C, durante 4 dias, obtendo-se a massa seca de folhas, caules, raízes e resíduos de semente. Calculou-se a partição de matéria seca em percentagem, desconsiderando os resíduos de semente. Obteve-se, ainda, a razão de massa foliar (RMF) de acordo com Hunt (1978), sendo:

$$RMF = MSF \cdot MST^{-1} \quad (5)$$

em que: MSF = massa seca foliar e MST = massa seca total da plântula.

A massa de folhas individuais (MFI) foi calculada do seguinte modo:

$$MFI = MSF \cdot NF^{-1} \quad (6)$$

em que: MSF = massa seca foliar e NF = número de folhas de uma plântula.

O coeficiente alométrico (k) foi calculado de acordo com Hunt & Cornelissen (1997):

$$k = \ln MSR \cdot \ln MSP^{-1} \quad (7)$$

em que: MSR = massa seca de raiz e MSP = massa seca de parte aérea.

O experimento de aclimatização foi realizado com delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial com 6 tratamentos (2 tamanhos de semente x 3 tipos de corte), com 5 repetições por tratamento, para análise das variáveis morfométricas. Realizou-se análise de variância e a comparação entre médias feita pelo teste de Tukey, a 5% de significância, exceto para as notas de aparência.

## 5 RESULTADOS

A massa média das sementes grandes foi de cerca de 1,0 g, enquanto as sementes pequenas pesavam aproximadamente metade desse valor. O teor de água foi superior a 50% para os dois tamanhos de semente 60 dias após a coleta (Tabela 1), indicando que as condições de armazenamento mantiveram o teor de água das sementes.

A porcentagem de germinação foi elevada para todos os tratamentos, não havendo diferenças entre os tamanhos (Tabela 1), exceto para as sementes cortadas transversalmente, que apresentaram os menores valores para os dois tamanhos de sementes. As sementes fracionadas germinaram mais rapidamente do que as sementes inteiras, com IVG mais elevado para os dois tipos de corte. Com relação ao tamanho, não houve diferença significativa, comparando-se o mesmo tipo de corte (Tabela 1). O aumento da germinação foi logarítmico até cerca de 40 dias após a instalação do experimento, para as sementes grandes e 50-55 dias para as pequenas. Os pontos encontram-se diferenciados, no segmento da curva ao qual foi aplicado um modelo matemático (Figura 2).

TABELA 1. Valores médios de massa fresca e teor de água das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. armazenadas durante 60 dias, a 15°C e 100% UR em embalagens plásticas de polietileno com papel absorvente sobre as sementes. Germinação (%) e índice de velocidade de germinação (IVG) a 22±2°C, aos 110 dias, para sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb.

	Sementes		
	Grandes	Pequenas	
Massa fresca (g/semte) *	1,068±0,001	0,534±0,002	
Teor de água (%)	52,2±1,0	56,3±5,1	
Tipo de corte	Germinação (%)**		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	100,0 aA	100,0 aA	100,0 a
Transversal	83,3 bA	86,5 bA	84,9 b
Longitudinal	99,0 aA	97,9 aA	98,4 a
Médias	94,1 A	94,8 A	
	IVG (dia <sup>-1</sup> )		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	0,868 bA	0,890 bA	0,879 b
Transversal	1,922 aA	1,979 aA	1,951 a
Longitudinal	1,965 aA	2,099 aA	2,032 a
Médias	1,585 A	1,656 A	

\* Média ± erro padrão de três repetições

\*\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

Os resultados das sementes grandes e pequenas são apresentados separadamente para maior clareza. Verifica-se, no entanto, que as curvas são similares para os dois tamanhos (Figura 2A e B), exceto para as sementes grandes e cortadas transversalmente (GT). Neste tratamento, observou-se a rápida germinação das metades com eixo embrionário, ocorrendo um longo período de estabilização (entre o 10<sup>o</sup> e o 36<sup>o</sup> dia), ao qual se seguiu uma segunda fase ascendente da curva que correspondeu à germinação das metades sem eixo embrionário pela região da superfície de corte (Figura 2A e 3A). Nas sementes pequenas cortadas transversalmente (PT), essa fase estacionária não foi evidente, sendo possível ajustar um modelo (Figura 2B).

O tempo médio de germinação variou entre 16 e 20 dias para todos os tratamentos, exceto para as sementes grandes fracionadas transversalmente, cujo tempo médio foi de cerca de 28 dias (Tabela 5), devido à fase estacionária observada (Figura 2A). Houve interação significativa entre os fatores (tamanho e tipo de corte). A entropia informacional atingiu valores entre 2,45 e 2,69 (Tabela 6), mas não houve diferença significativa entre os tratamentos para nenhum dos dois fatores estudados.

Para a porcentagem de emergência, apenas o tipo de corte foi significativo. Os menores valores de emergência foram observados para as frações transversais e os maiores para as sementes inteiras, não havendo diferença entre os tamanhos (Tabela 2). Para o IVE, a interação entre os fatores não foi significativa. O IVE foi mais elevado para as sementes grandes. Na comparação entre tipos de corte, os maiores valores foram observados para as frações cortadas longitudinalmente (Tabela 2).

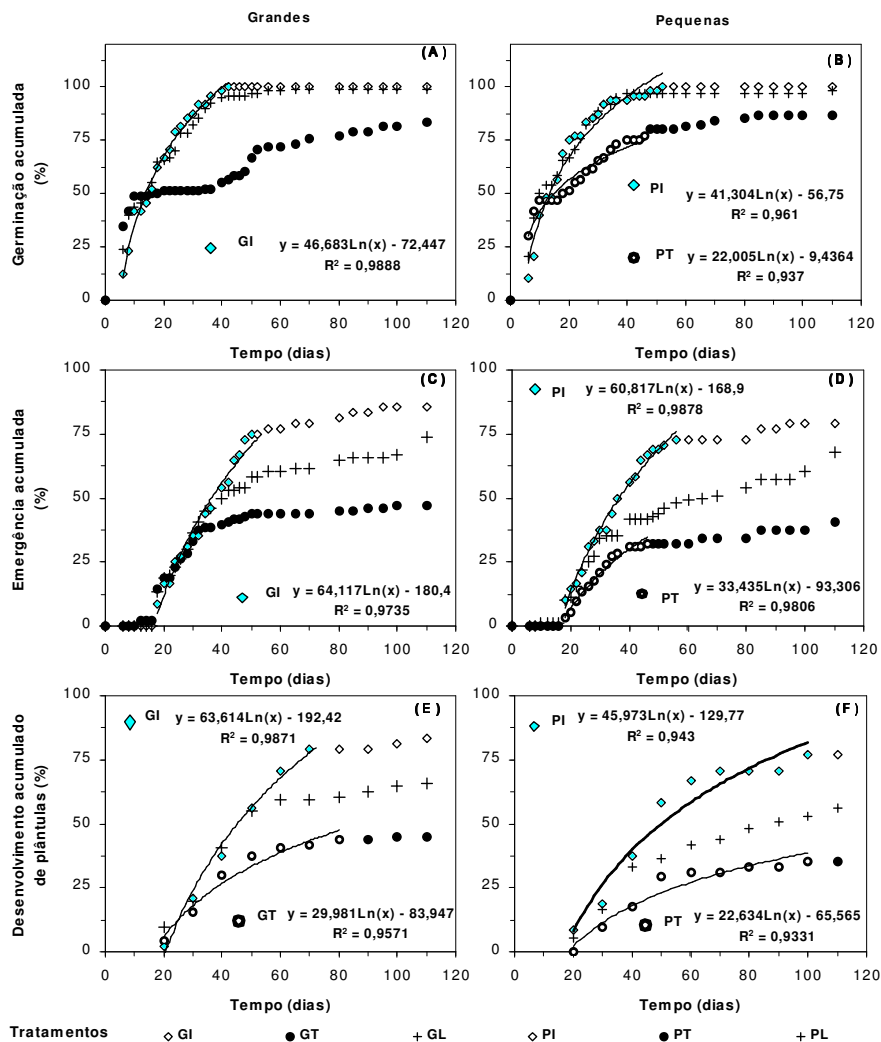


FIGURA 2. (A) e (B) Germinação acumulada, (C) e (D) emergência acumulada e (E) e (F) desenvolvimento acumulado de plântulas a partir de sementes grandes (à esquerda) e sementes pequenas (à direita) de *Eugenia pyriformis* Camb. submetidas a diferentes tipos de fracionamento e mantidas a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , no escuro em Gerbox. GI= sementes grandes inteiras, GT= grandes fracionadas transversalmente, GL= grandes fracionadas longitudinalmente. PI= sementes pequenas inteiras, PT= pequenas fracionadas transversalmente, PL= pequenas fracionadas longitudinalmente. Cada ponto representa a média de 4 repetições para cada tempo.

TABELA 2. Emergência (%) e índice de velocidade de emergência (IVE) a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ , aos 110 dias, para sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb.

Tipo de corte	Emergência (%)*		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	85,4 aA	79,2 aA	82,3 a
Transversal	46,9 bA	40,6 bA	43,8 c
Longitudinal	74,0 aA	67,7 aA	70,8 b
Médias	68,8 A	62,5 A	
	IVE ( $\text{dia}^{-1}$ )		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	0,324 bA	0,313 bA	0,319 b
Transversal	0,463 aA	0,316 bB	0,390 b
Longitudinal	0,580 aA	0,503 aA	0,541 a
Médias	0,456 A	0,377 B	

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

A emergência iniciou-se a partir de 16-18 dias, sendo mais rápida até 50-60 dias. Desacelerou-se a seguir, mas prolongou-se até o final do experimento (Figura 2C e 2D). Modelos logarítmicos foram ser ajustados a todas as curvas de emergência acumulada, na fase de crescimento mais acelerado, diferindo o ângulo de inclinação entre as curvas e a porcentagem atingida antes da fase de desaceleração. As sementes cortadas transversalmente apresentaram menor porcentagem de emergência nessa fase (Figura 2C e 2D).

O tempo médio de emergência foi de 39 dias e os maiores valores foram observados para as sementes cortadas longitudinalmente de ambos os tamanhos, com valores superiores a 40 dias. O tipo de corte e o tamanho das sementes

foram significativos para o tempo médio de emergência (Tabela 5). Não foi observada interação significativa entre os fatores.

A entropia informacional para a emergência do epicótilo variou entre 2,59 e 3,23, sendo mais elevada do que na germinação (Tabela 6), indicando que a emergência do epicótilo é um processo mais aleatório do que a protrusão da radícula, entretanto, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Os maiores valores foram observados para as sementes grandes cortadas longitudinalmente, devido à dispersão da emergência ao longo do tempo, sem indicação de estabilização até o final do experimento (Figura 2C).

A porcentagem de plântulas normais foi mais alta para as sementes grandes apesar de não haver diferença significativa entre os tamanhos dentro dos tipos de corte. Para as sementes inteiras, a porcentagem de plântulas foi de 80%, enquanto o pior desempenho foi observado para as sementes cortadas transversalmente com média de 40%, as sementes fracionadas longitudinalmente tiveram um resultado intermediário (Tabela 3).

A velocidade de produção de plântulas também foi maior para as sementes grandes, resultando num IVP mais alto. Houve diferença entre os tipos de corte, com maior IVP para os cortes longitudinais (Tabela 3). A interação entre os fatores não foi significativa para a porcentagem de plântulas normais e o IVP.



TABELA 3. Plântulas normais (%) e índice de velocidade de produção de plântulas normais (IVP) a 22±2°C aos 110 dias para sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb.

Tipo de corte	Plântulas normais (%)*		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	83,3 aA	77,1 aA	80,2 a
Transversal	44,8 cA	35,4 cA	40,1 c
Longitudinal	65,4 bA	56,3 bA	60,9 b
Médias	64,6 A	56,2 B	
	IVP (dia <sup>-1</sup> )		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	0,231 bA	0,217 bA	0,224 b
Transversal	0,289 bA	0,200 bB	0,244 b
Longitudinal	0,415 aA	0,326 aB	0,370 a
Médias	0,312 A	0,247 B	

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

O incremento de germinação (FIG) foi superior a 1,00 para os cortes longitudinais dos dois tamanhos, atingindo valor 1,00 para as sementes inteiras, indicando viabilidade elevada (Tabela 4). O incremento de plântulas (FIP) só foi superior a 1,00 para as sementes grandes cortadas longitudinalmente devido à produção de mais de uma plântula por semente (Figura 3B), enquanto para as sementes inteiras o FIP foi maior que 0,80 para os dois tamanhos de semente (Tabela 4). A produção de plântulas a partir de sementes fracionadas transversalmente igualou-se à do tratamento utilizando sementes não fracionadas (Tabela 4), devido ao fenômeno de rebrota a partir de raízes (Figura 3C).

TABELA 4. Fator de incremento de germinação (FIG) e fator de incremento de plântulas (FIP) para sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb. segundo Silva et al. (2003).

Tipo de corte	FIG*		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	1,00 cA	1,00 cA	1,00 c
Transversal	1,67 bA	1,73 bA	1,70 b
Longitudinal	1,98 aA	1,96 aA	1,97 a
Médias	1,55 A	1,56 A	
	FIP		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	0,83 bA	0,77 bA	0,80 b
Transversal	0,90 bA	0,71 bB	0,80 b
Longitudinal	1,31 aA	1,12 aB	1,22 a
Médias	1,01 A	0,87 B	

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

O tempo médio para a obtenção de plântulas normais foi menor para as sementes grandes fracionadas transversalmente (42,7 dias). Para os demais tratamentos, o tempo médio variou entre 44 e 51 dias (Tabela 5). Não houve diferença significativa entre os tratamentos.

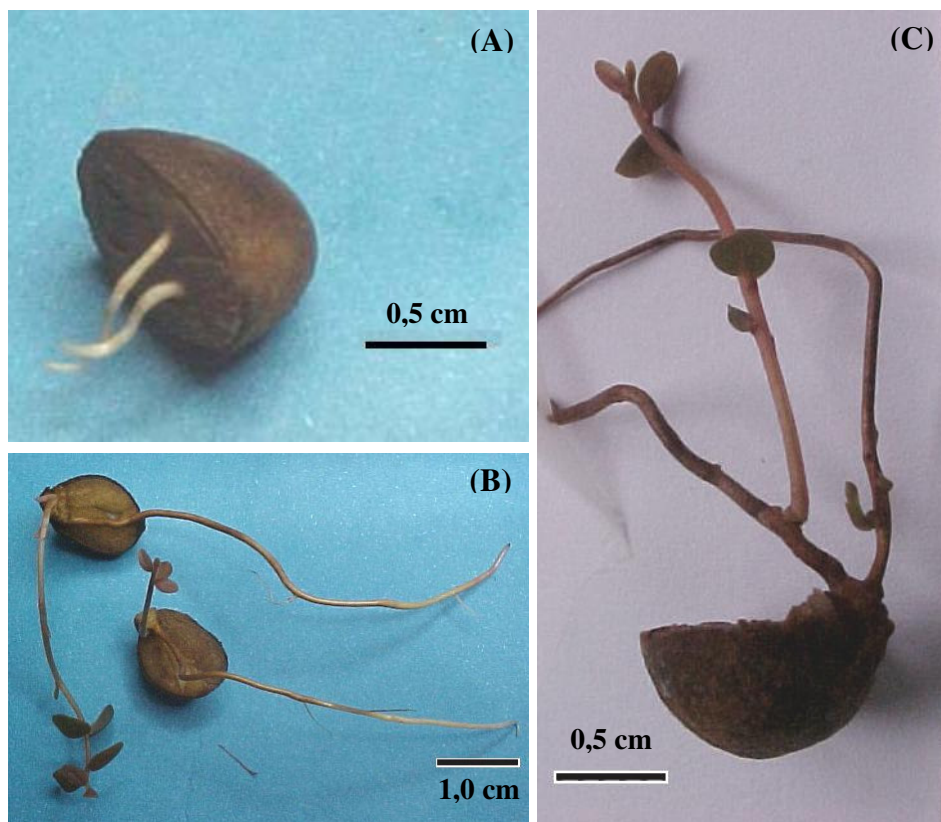


FIGURA 3. (A) Semente de *Eugenia pyriformis* Camb. fracionada transversalmente, com rizogênese na superfície de corte da fração sem eixo embrionário. (B) Duas plântulas derivadas da mesma semente fracionada longitudinalmente, antes do transplante para a vermiculita. (C) Brotação de parte aérea em raiz de semente fracionada longitudinalmente.

TABELA 5. Valores de tempo médio (dias) para os processos de germinação, emergência e desenvolvimento de plântulas normais obtidas de sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb. a 22±2°C, no escuro em recipientes plásticos do tipo Gerbox.

Tipo de corte	Germinação*		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	16,0 aA	16,1 abA	16,0 b
Transversal	27,7 bA	20,8 aB	24,3 a
Longitudinal	16,4 aA	15,6 bA	16,1 b
Médias	20,0 A	17,6 B	
	Emergência		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	38,2 abA	36,7 b	37,4 b
Transversal	30,2 bB	40,5 ab	35,3 b
Longitudinal	42,1 aA	47,7 a	44,9 a
Médias	36,8 B	41,6 A	
	Desenvolvimento de plântulas normais		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	49,4 aA	48,9 aA	49,2 a
Transversal	42,7 aA	47,7 aA	45,2 a
Longitudinal	44,5 aA	51,4 aA	48,0 a
Médias	45,5 A	49,3 A	

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

A entropia informacional para o desenvolvimento de plântulas foi mais baixa do que nos dois casos anteriores, variando entre 1,81 e 2,18; os menores valores foram observados para as sementes fracionadas transversalmente dos dois tamanhos (Tabela 6), provavelmente, devido à menor porcentagem total de

plântulas formadas (Tabela 3). Para esse variável, apenas o tipo de corte foi significativo (Tabela 6).

Ajustaram-se equações logarítmicas às curvas de desenvolvimento acumulado de plântulas normais; o modelo utilizado é adequado à fase de crescimento acelerado (Figura 2E e 2F). Não houve estabilização até cerca de 100 dias para as sementes pequenas, mas, devido à deterioração das condições experimentais, encerrou-se o experimento no 110º dia após a sua instalação. Provavelmente, houve esgotamento das reservas das frações de sementes, principalmente das pequenas. O substrato utilizado permitiu visualizar o desenvolvimento, mas não tinha capacidade de manter as plântulas. Para contornar esse problema, plântulas saudáveis de cada tratamento foram transplantadas para vermiculita e realizou-se o processo de aclimatização.

Nas curvas de embebição, verificou-se maior incremento de massa para as sementes cortadas. O ganho de massa segue uma tendência logarítmica para as três curvas (Figura 4A). A taxa de embebição declinou rapidamente após a fase I, mantendo-se abaixo de 0,1% após esse período de embebição (Figura 4B). A variação da taxa de embebição nas primeiras 40 horas foi muito acentuada, sendo 6 vezes maior nas sementes cortadas do que nas sementes inteiras (Figura 4C).

A taxa de embebição das sementes inteiras declinou menos do que as sementes fracionadas após a embebição inicial, mas, em ambos os casos, manteve-se abaixo de  $0,1\% \cdot h^{-1}$ . A germinação das sementes inteiras ocorreu após 630 horas (aproximadamente 26 dias), enquanto para as sementes fracionadas, pelo menos uma das metades apresentava-se germinada desde 168 horas em todas as repetições (seta cheia na Figura 4A), sem aceleração perceptível da taxa de embebição (Figura 4B). Com cerca de 16 dias ocorreu emergência da parte aérea para as sementes fracionadas; no entanto, para as

cortadas transversalmente, esse fato ocorreu apenas para as metades com eixo embrionário.

TABELA 6. Valores de entropia informacional (bits) para os processos de germinação, emergência e desenvolvimento de plântulas normais obtidas de sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb., a  $22\pm 2^\circ\text{C}$ , no escuro, em recipientes plásticos do tipo Gerbox.

Tipo de corte	Germinação*		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	2,45 aA	2,66 aA	2,55 a
Transversal	2,46 aA	2,65 aA	2,55 a
Longitudinal	2,69 aA	2,67 aA	2,68 a
Médias	2,53 A	2,66 A	
	Emergência		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	2,90 abA	2,91 aA	2,90 ab
Transversal	2,59 bA	2,93 aA	2,76 b
Longitudinal	3,23 aA	3,04 aA	3,13 a
Médias	2,90 A	2,96 A	
	Desenvolvimento de plântulas normais		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	2,11 aA	2,02 aA	2,07 ab
Transversal	1,81 aA	1,84 aA	1,83 b
Longitudinal	2,18 aA	2,17 aA	2,18 a
Médias	2,03 A	2,01 A	

\* Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

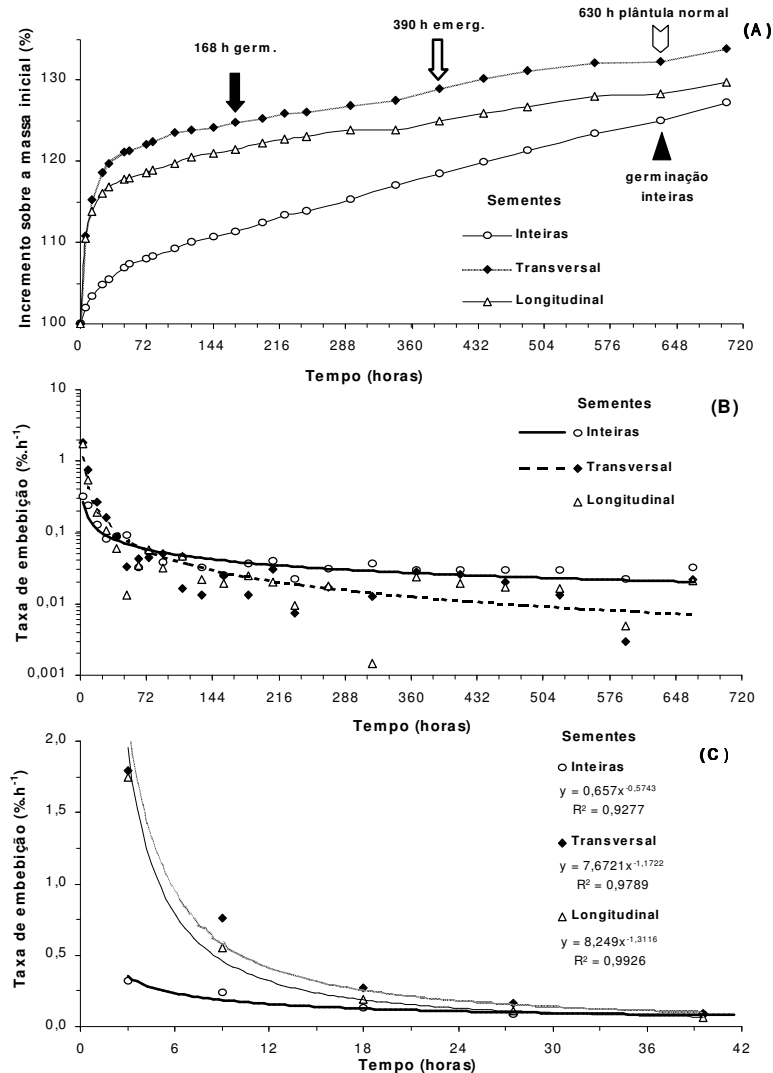


FIGURA 4. (A) Curva de embebição de sementes inteiras e fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb. Germinação, de pelo menos, uma fração para as sementes cortadas (▀). Emergência de parte aérea em, pelo menos, uma das frações (▁). Germinação das sementes inteiras (▴). Pelo menos uma plântula normal de sementes fracionadas (▧). (B) Taxa de embebição de sementes inteiras e fracionadas, em função do tempo. (C) Detalhe da variação da taxa de embebição nas primeiras 40 horas. Cada ponto representa a média de 3 repetições por tempo e por tratamento.

Durante a aclimatização, as plântulas desenvolveram-se, produzindo folhas novas e alongando-se (Figura 5). A sobrevivência foi elevada para todos os tratamentos (Tabela 7). Plântulas de melhor aparência foram observadas para as sementes grandes. A nota média variou entre 2,72 e 3,36 para as plântulas oriundas de sementes grandes, enquanto para as sementes pequenas, a média foi de 2,47 (Tabela 7). Não houve diferença entre sementes fracionadas e inteiras para as sementes pequenas; já para as sementes grandes, as plântulas obtidas de corte longitudinal obtiveram nota de aparência significativamente menor do que as inteiras (Tabela 7).

O número médio de folhas por plântula variou entre 21 e 38, sendo maior para as plântulas provenientes de sementes grandes inteiras. Apenas o tamanho das sementes foi significativo para o número de folhas. O tipo de corte na semente não influenciou esta variável, nem houve interação significativa (Tabela 7).

A massa de folhas individuais foi inferior a 5,0 mg por folha (Tabela 7). Embora não tenham ocorrido diferenças estatísticas significativas, a massa das folhas foi maior para as plântulas obtidas a partir de sementes grandes inteiras, decrescendo para as sementes fracionadas.





FIGURA 5. (A) Aspecto geral da bandeja com plântulas resultantes da aclimatização de plântulas resultantes de sementes grandes fracionadas transversalmente (GT), após 120 dias de aclimatização em sala de crescimento a  $25\pm 4^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas (D/N), usando vermiculita como substrato. (B) Plântula completa resultante do fracionamento transversal de semente grande.

TABELA 7. Sobrevivência e aparência de plântulas obtidas de sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb. aclimatizadas durante 120 dias em sala de crescimento a  $25 \pm 4^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas (D/N) usando vermiculita como substrato. Valores médios do número de folhas por plântula e massa de folhas individuais.

Tipo de corte	Sobrevivência (%) *		
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	100	100	
Transversal	96	100	
Longitudinal	100	96	
	Aparência *		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	3,4 aA	2,5 aB	2,9 a
Transversal	3,0 abA	2,4 aB	2,7 a
Longitudinal	2,7 bA	2,5 aA	2,6 a
Médias	3,0 A	2,5 B	
	Folhas por plântula $\diamond$		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	37,8 aA	22,0 aB	29,9 a
Transversal	25,4 aA	21,2 aA	23,3 a
Longitudinal	29,8 aA	23,0 aA	26,4 a
Médias	31,0 A	22,1 B	
	Massa foliar (mg/folha) $\diamond$		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	4,7 aA	2,9 aA	3,8 a
Transversal	4,1 aA	2,5 aA	3,3 a
Longitudinal	3,2 aA	2,8 aA	3,0 a
Médias	4,0 A	2,7 A	

\* N=25 plântulas. Notas para a aparência das plântulas 0= morta, 1= muito atrofiada ou doente, 2= parcialmente atrofiada ou doente, 3= vigorosa, 4= muito vigorosa. Teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade.

$\diamond$  N= 5 plântulas por tratamento. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

O comprimento médio de caule foi menor para as sementes pequenas, embora só houvesse diferença significativa entre as sementes inteiras. Não houve diferença entre os tipos de fracionamento e nem interação entre os fatores (Tabela 8).

O comprimento médio de raiz foi maior para as plântulas obtidas a partir de sementes grandes, observando-se também diferença significativa entre tamanhos. Contudo, não houve diferença entre tipos de fracionamento e tampouco ocorreu interação entre os fatores (Tabela 8).

A razão de alongamento caule/raiz indica que o crescimento do caule em comprimento foi metade ou menos do alongamento de raiz, com valores inferiores a 0,5 para todos os tratamentos, exceto nas sementes grandes e inteiras (Tabela 8). Não foi observada diferença significativa para os fatores tamanho de semente e tipo de fracionamento, nem interação entre eles.

A razão de distribuição foliar foi de cerca de 2 folhas por centímetro do caule (Tabela 8). Não houve diferença significativa entre os tamanhos de semente e os tipos de corte para essa variável e tampouco, a interação entre os fatores.

A massa absoluta das plântulas variou entre 0,190 e 0,661 g, após 120 dias de aclimatização (Tabela 9). Tanto o tamanho da semente quanto o tipo de fracionamento afetaram a massa das plântulas; por outro lado, a interação entre os dois fatores não foi significativa.

A massa média das plântulas provenientes de sementes grandes foi de 442 mg, enquanto que para as plântulas obtidas de sementes pequenas, a média foi de cerca da metade desse valor (218 mg). Por outro lado, o tipo de corte teve efeito para as sementes grandes, mas não para as pequenas. Embora não ocorra diferença estatística, pode-se observar que a massa média das plântulas obtidas de sementes grandes por corte transversal e longitudinal foi de 50% a 100% maior do que das sementes pequenas para o mesmo tipo de corte (Tabela 9).

TABELA 8. Avaliação morfométrica de plântulas obtidas de sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb. aclimatizadas durante 120 dias em sala de crescimento a  $25\pm 4^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas (D/N), usando vermiculita como substrato.

Tipo de corte	Caule (cm) *		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	17,5 aA	8,9 aB	13,2 a
Transversal	12,5 aA	9,1 aA	10,8 a
Longitudinal	12,9 aA	10,5 aA	11,7 a
Médias	14,3 A	9,5 B	
	Raiz (cm)		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	35,9 aA	25,6 aA	30,7 a
Transversal	26,3 aA	24,0 aA	25,1 a
Longitudinal	36,4 aA	26,2 aA	31,3 a
Médias	32,8 A	25,3 B	
	Razão de alongamento (caule/raiz)		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	0,51 aA	0,37 aA	0,44 a
Transversal	0,50 aA	0,39 aA	0,44 a
Longitudinal	0,36 aA	0,41 aA	0,39 a
Médias	0,46 A	0,39 A	
	Distribuição foliar (folhas/cm de caule)		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	2,2 aA	2,4 aA	2,3 a
Transversal	2,1 aA	2,4 aA	2,2 a
Longitudinal	2,3 aA	2,4 aA	2,3 a
Médias	2,2 A	2,4 A	

\* N= 5 plântulas por tratamento.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

TABELA 9. Partição de matéria seca de plântulas obtidas de sementes fracionadas de *Eugenia pyriformis* Camb. aclimatizadas durante 120 dias em sala de crescimento a 25±4°C e fotoperíodo de 12 horas (D/N), usando vermiculita como substrato.

Tipo de corte	Massa da plântula (mg) *		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	661,3 aA	256,3 aB	458,8 a
Transversal	300,4 bA	209,7 aA	255,0 b
Longitudinal	363,3 bA	188,9 aA	276,1 ab
Médias	441,7 A	218,3 B	
	Resíduos de semente (%)		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	23,9 aA	33,0 aA	28,5 a
Transversal	23,9 aA	29,7 aA	26,8 a
Longitudinal	33,2 aA	21,6 aB	27,4 a
Médias	27,0 A	28,1 A	
	Coeficiente alométrico (k)		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	1,234 aA	1,168 aA	1,201 a
Transversal	1,383 aA	1,206 aA	1,296 a
Longitudinal	1,120 aA	1,277 aA	1,198 a
Médias	1,247 A	1,217 A	
	Razão de massa foliar		Médias
	Grandes	Pequenas	
Inteiras	0,3461 aA	0,3564 aA	0,3513 a
Transversal	0,4459 aA	0,3639 aA	0,4049 a
Longitudinal	0,3543 aA	0,4372 aA	0,3957 a
Médias	0,3821 A	0,3858 A	

\* N= 5 plântulas por tratamento.

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Letras minúsculas para comparação entre tipos de corte (na coluna) e maiúsculas para comparação entre tamanhos (na linha).

Os resíduos da semente representaram de 23% a 33% da massa seca total das plântulas, aproximadamente 200 dias após a germinação. Não há diferença entre os tamanhos de semente e os tipos de fracionamento, exceto entre os cortes longitudinais (Tabela 9).

Excluindo-se os resíduos da semente, o caule representou cerca de 20% da massa média das plântulas de todos os tratamentos, não havendo diferença entre os tamanhos e os tipos de fracionamento.

O coeficiente alométrico (k) variou entre 1,12 e 1,38, não havendo diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 9).

A massa seca de folhas variou entre 35% e 45% da massa seca das plântulas, excluindo-se os resíduos de semente. Para as sementes grandes, a maior contribuição das folhas foi observada para as sementes cortadas transversalmente (44,6%), enquanto que, para as sementes pequenas a maior contribuição ocorreu para os cortes longitudinais (43,7%). Já para as sementes inteiras, a média foi de 35% para os dois tamanhos de sementes. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a variável razão de massa foliar (Tabela 9).

## 6 DISCUSSÃO

As sementes utilizadas neste trabalho correspondem, aproximadamente, às classes II e III de tamanho, propostas para as sementes de *E. pyriformis* (Andrade & Ferreira, 2000). A manutenção da umidade das sementes durante o armazenamento evitou a perda de vigor, pois a perda desta é um fator relevante para a redução da viabilidade de sementes recalcitrantes de diferentes espécies (Andrade & Ferreira, 2000; Andrade et al., 2003; Finch-Savage, 1992; Gentil & Ferreira, 2000; Harrington, 1972; Oliveira & Valio, 1992; Schmidt, 2000).

Nas superfícies cortadas observou-se escurecimento devido à oxidação do tecido lesionado, mesmo assim, houve formação de raízes nessas superfícies (Figura 3A). Essas raízes podem ser consideradas adventícias, em função de sua origem a partir de tecido cotiledonar. Provavelmente, tais raízes formaram-se a partir de tecidos sadios mais internamente à superfície de corte, de maneira similar à origem endógena de raízes laterais e adventícias (Esau, 1974). As raízes adventícias podem originar-se em diferentes regiões de plantas lenhosas, principalmente a partir de tecidos feridos nas proximidades de feixes vasculares (Jackson, 1986). A conexão vascular é indispensável para a funcionalidade da raiz recém-formada (Apezato-da-Glória & Hayashi, 2003). Aparentemente, as raízes desenvolvidas nas superfícies cortadas não diferem de outras raízes em sua estrutura.

As sementes fracionadas germinaram mais rapidamente do que as sementes inteiras, porque o corte libera em parte a resistência mecânica oferecida pelo tegumento à protrusão da radícula, mesmo que ele não tenha sido removido, conforme observado na curva de embebição, comparando-se sementes inteiras e fracionadas (Figura 4A). Silva et al. (2003) afirmam que o tegumento não atrasa a germinação de sementes de *E. pyriformis*, em função do IVG obtido. No presente trabalho, o valor do IVG foi superior ao obtido por esses autores, inclusive para as sementes inteiras. Observou-se ainda uma embebição mais rápida nas sementes fracionadas do que nas inteiras (Figura 4B), possivelmente porque a superfície cortada diretamente em contato com o substrato permitiu absorção de água mais rápida do que através do tegumento. Além disso, a semente inteira tem forma ovóide e grande parte de sua superfície não se encontra em contato direto com o substrato plano.

Andrade & Ferreira (2000) observaram diferença de vigor em função do tamanho das sementes de uvaia, obtendo melhor desempenho para a classe II (0,5-0,9g). Por outro lado, no presente trabalho, as sementes grandes fracionadas

apresentaram maior IVE, indicando que a quantidade de reservas disponíveis na parte fracionada foi relevante para o desenvolvimento da parte aérea. Silva et al. (2003) também observaram melhor desempenho das sementes grandes fracionadas em relação ao fator de incremento de plântulas (FIP). A quantidade de reservas, provavelmente, é um fator relevante para determinar o alongamento do epicótilo, mas não para a protrusão da radícula.

As diferenças entre o corte transversal e o longitudinal podem ser explicadas em parte porque, no corte transversal, apenas uma das metades apresentava eixo embrionário. Andrade & Ferreira (2000) afirmam que as sementes de uvaia apresentam embrião globoso sem diferenciação do eixo hipocótilo-radicular. No entanto, em estudos de ultra-estrutura das sementes, observou-se que o eixo está presente e completamente diferenciado na semente madura de *E. pyriformis* (Justo et al., 2006). Silva et al. (2003) observaram, ainda, que o fracionamento transversal foi o que mais prejudicou a capacidade germinativa das sementes de *E. pyriformis*.

Silva et al. (2005) realizaram fracionamento de sementes de três espécies de *Eugenia* usando o hilo como referência e obtiveram plântulas normais de sementes fracionadas que mantinham, pelo menos, metade do hilo. No embrião do tipo eugenóide, o pólo embrionário encontra-se localizado próximo ao hilo, em uma das extremidades da rafe (Figura 1A). No presente trabalho, os dois tipos de corte seccionaram o hilo ao meio, mas, no corte longitudinal, o eixo embrionário também foi fracionado (Figura 1B), enquanto que, nas sementes cortadas transversalmente, apenas numa das metades foi mantido o eixo embrionário (Figura 1C). Na metade sem eixo, observou-se rizogênese, principalmente na superfície cortada (Figura 3A).

Silva et al. (2003) sugerem que o fracionamento altera o balanço hormonal das sementes, induzindo a formação de calos meristemáticos. No cultivo *in vitro*, a rizogênese é favorecida por uma elevada razão



auxina/citocinina, enquanto que a formação de gemas é induzida por uma baixa razão (Skoog & Miller, 1965 citados por Taiz & Zeiger, 1998). É provável que a aplicação de reguladores de crescimento induza a formação de plântulas completas nas metades sem eixo. Observou-se, ainda, o brotamento de gemas a partir de raízes de sementes fracionadas (Figura 3C). Lorenzi (2002) relata a ocorrência de rebrota a partir de raízes em pitanga (*E. uniflora* L.).

As sementes fracionadas no presente estudo não apresentavam sinais da presença de embriões adicionais que pudessem explicar a formação de plântulas a partir das frações. Segundo Gurgel & Soubiê Sobrinho (1951), as sementes de *E. uvalha* são monoembriônicas. Os mesmos autores constataram que a presença de dois ou mais caulículos na mesma plântula resultava de ramificações do caule, partindo da região do colo. As sementes de *E. uniflora*, *E. tomentosa* e *E. brasiliensis* foram estudadas por esses autores, sendo também monoembriônicas. Silva et al. (2003) descartam a possibilidade de poliembrião em *E. pyriformis*; no entanto, Andrade & Ferreira (2000) observaram o fenômeno em cerca de 3% das sementes de *E. pyriformis*. Outra possibilidade é a ocorrência de apomixia, como verificado em *Citrus*, diversas gramíneas entre outras espécies (Costa et al., 2004; Dall’Agnol & Schifino-Wittman, 2005; Medeiros et al., 2000; Silva et al., 2004). A apomixia foi registrada em *Syzygium* e está associada à poliembrião verificada nesse gênero (Nic Lughahdha & Proença, 1996). Sugere-se a realização de um estudo a respeito de apomixia para as sementes de *E. pyriformis*.

Embriões coalecidos foram observados nas sementes de *E. hookeri* Steud., dificultando a visualização de todos os embriões existentes na semente (Johnson, 1936, citado por Silva et al., 2003). Salomão & Allem (2001) estudaram a ocorrência de poliembrião em espécies de cerrado e caatinga, não observando, no entanto, esse fenômeno em *E. dysenterica*.

Silva et al. (2003) comparam o fracionamento das sementes ao efeito de danos físicos causados às sementes por insetos ou pássaros, pois houve desenvolvimento de plântulas normais até nas frações que permaneceram com apenas 1/4 da semente.

Existe, ainda, a possibilidade de frações de sementes assumirem comportamento semelhante ao de estacas, com possibilidade de enraizamento e desenvolvimento de nova parte aérea, a partir da migração de hormônios vegetais (Anjos & Ferraz, 1999). Não foi observada calogênese nas superfícies de corte (Figura 3A), como é freqüente em casos de estaquia (Esau, 1974). A produção de brotações de *E. pyriiformis* a partir de segmentos nodais foi bem sucedida em meio WPM com adição de 0,1% de benzilaminopurina (BAP) e 3,0% de sacarose (Nascimento, 2006).

Andrade & Ferreira (2000) consideraram como plântulas normais aquelas que apresentaram emergência do epicótilo, obtendo cerca de 65% de plântulas normais para o tratamento de maior vigor. No entanto, neste trabalho, verificou-se que algumas plântulas apresentaram emergência sem, no entanto, ocorrer desenvolvimento posterior. Portanto, o número de plântulas normais foi inferior à emergência, segundo os critérios estabelecidos.

O tipo de fracionamento das sementes não afetou a arquitetura das plântulas obtidas após a aclimatização. Além disso, a avaliação subjetiva da aparência concordou com os resultados quantitativos. As plântulas com notas baixas produziram pouca ou nenhuma folha após o transplante e o alongamento do caule e da raiz foi mínimo. Por outro lado, as plântulas com notas altas apresentaram alongamento do caule e produção de folhas (Figura 5B).

Plântulas de maior vigor foram obtidas a partir de sementes grandes e inteiras, mas, as plântulas obtidas a partir de sementes fracionadas apresentaram um desenvolvimento absolutamente normal. O fracionamento da semente parece não ter afetado a partição de biomassa das plântulas de *E. pyriiformis*, indicada

pelo coeficiente alométrico (k), entre outras variáveis que não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos.

Houve um elevado investimento em folhas, provavelmente devido às condições de luminosidade durante a aclimatização ( $50\text{-}60 \mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), as quais são comparáveis às de sub-bosque de mata (Montgomery & Chazdon, 2002; Pearcy, 1987; Pearcy et al., 2005). Sob baixa luminosidade, muitas vezes, ocorre aumento do comprimento dos internós para aumentar a eficiência de captura da luz ou como sinal de estiolamento (Pearcy et al., 2005; Zanela, 2001). Todavia, para plântulas de *E. pyriformis* não se observou esse fenômeno, pois as folhas estão densamente agrupadas ao longo do caule e os internós são curtos (Figura 5A).

Os valores observados de razão de massa foliar (RMF) foram ligeiramente inferiores aos de espécies lenhosas de clima temperado (0,497), mantidas sob radiação fotossinteticamente ativa de  $135 \mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (Hunt & Cornelissen, 1997).

De acordo com a teoria de particionamento ótimo, as plantas deveriam alocar mais biomassa para os órgãos envolvidos na obtenção do recurso mais limitante (Weiner, 2004), que pode ser a luz, a água ou os nutrientes, dependendo do estudo (Hikosaka et al., 2005; Lof et al., 2005; McMillin & Wagner, 1995; Tan & Hogan, 1998). Existem, ainda, as mudanças de alocação durante o desenvolvimento da planta e as diferenças hereditárias (Bongarten & Teskey, 1987; McMillin & Wagner, 1995; Gedroc et al., 1996). Segundo Grantz et al. (2006), o mecanismo de regulação da alocação de biomassa ainda não é bem esclarecido em resposta a diferentes fatores ambientais. Considerando a força dos drenos, há dúvidas sobre a equivalência da raiz e da parte aérea. Em alguns casos, há uma clara competição entre os drenos, como observado por Thaler & Pages (1996) para o desenvolvimento de folhas e de raízes primárias e secundárias em plântulas de *Hevea brasiliensis*.

Geralmente, o número de raízes secundárias é proporcional ao comprimento da raiz primária (Harmer & Robertson, 2003). Contudo, a ramificação das raízes das plântulas de *E. pyriformis* foi insignificante durante a aclimatização, havendo uma predominância quase absoluta da raiz principal em todos os tratamentos.

## 7 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a rafe é uma boa referência para o fracionamento de sementes de uvaia. O corte longitudinal foi mais eficiente para a produção de plântulas normais, pois o FIG e o FIP são mais baixos para sementes inteiras e para as cortadas transversalmente. O uso de sementes inteiras resultou em maiores porcentagens de emergência e de plântulas normais. No entanto, o processo de germinação, de emergência e de desenvolvimento de plântulas é mais lento. As sementes grandes cortadas foram mais eficientes na produção de plântulas normais. A aclimatização permitiu a sobrevivência de plântulas de todos os tratamentos, mas as plântulas obtidas de sementes fracionadas apresentaram menor vigor que as de sementes grandes e inteiras. O fracionamento não afetou a arquitetura das plântulas e a partição de matéria seca.

O sucesso na obtenção de plântulas a partir do fracionamento das sementes aponta para uma elevada capacidade de regeneração embriogênica das sementes de *E. pyriformis*, com a possibilidade de aplicação desse potencial para embriogênese somática *in vitro*, possivelmente sem a aplicação de fitorreguladores.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.
- ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. F. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.
- ANJOS, A. M. G.; FERRAZ, I. D. K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 29, n. 3, p. 337-348, set. 1999.
- APPEZATO-DA-GLÓRIA, B.; HAYASHI, A. H. Raiz. In: APPEZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2003. p. 267-281.
- ATROCH, E. M. A. C.; SOARES, A. M.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. de. Crescimento, teor de clorofilas, distribuição de biomassa e características anatômicas de plantas jovens de *Bauhinia forficata* Link. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 4, p. 853-862, out./dez. 2001.
- BAPTISTA de CARVALHO, P. G.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature- dependent germination and endo-beta-mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, ago. 2001.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. v. 2, 377 p.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BONGARTEN, B. C.; TESKEY, R. O. Dry weight partitioning and its relationship to productivity in Loblolly Pine from seven sources. **Forest Science**, Bethesda, v. 33, n. 2, p. 255-267, June 1987.
- BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação dos resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Áreas protegidas no Brasil**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/sbf/dap/apbpparq.html>>. Acesso em: 04 maio 2005.
- BULOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 961-970, jun. 1994.
- CAMPOS, M. A. A.; UCHIDA, T. Influência do sombreamento no crescimento de mudas de três espécies amazônicas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 281-288, mar. 2002.
- COSTA, M. E.; SAMPAIO, D. S.; PAOLI, A. A. S.; LEITE, S. C. A. L. Poliembrionia e aspectos anatômicos da embriogênese em *Tabebuia ochraceae* (Chamisso) Stanley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 395-406, abr./jun. 2004.
- CRUZ, R. L. **Efeito residual da vermiculita nas propriedades hídricas do solo**. 1985. 76 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMAN, M. T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 127-133, abr./jun. 2005.
- DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de Eugenia**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica, São Paulo. Disponível em : <<http://www.ibot.sp.gov.br/teses/liliana2006.pdf>> Acesso em: 20 ago. 2006.
- DUBLIN, P.; ENJALRIC, F.; LARDET, L.; CARRON, M. P.; TROLINDER, N.; PANNETIER, C. Estate crops. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p.337-361.
- EPSTEIN, E. **Nutrição mineral das plantas: princípios e perspectivas**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1975. 341 p.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blucher, 1974. 293 p.
- FARIAS NETO, A. L. de; FONSECA, C. E. L. da; GOMIDE, C. C. C.; SILVA, J. A. da. Armazenamento de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.).

**Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 55-62, 1991.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Conservation and sustainable utilization of plant genetic resources in indian ocean islands. Sub-Regional Synthesis Report. In: INTERNATIONAL TECHNICAL CONFERENCE ON PLANT GENETIC RESOURCES Annex 1 of the Report of the Sub-Regional Preparatory Meeting for Eastern Africa and Indian Ocean Islands, Nairobi, Kenya 12-14 September 1995. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/AGP/AGPS/Pgrfa/pdf/afreas1e.pdf>>. Acesso em: 05 maio 2005.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistema de análise de variância para dados balanceados. Versão 4. 6. Lavras: UFLA, 2003.

FINCH-SAVAGE, W. E. Embryo water status and survival in the recalcitrant species *Quercus robur* L: Evidence for a critical moisture content. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 250, p. 663-669, May 1992.

GEDROC, J. J.; McCONNAUGHAY, K. D. M.; COLEMAN, J. S. Plasticity in root/shoot partitioning: optimal, ontogenetic, or both? **Functional Ecology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 44-50, Feb. 1996.

GENTIL, D. F. de O.; FERREIRA, S. A. do N. Tolerância à dessecação e viabilidade de sementes de camu-camu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 264-267, ago. 2000.

GOLDBACH, H. Imbibed storage of *Melicoccus bijugatus* and *Eugenia brasiliensis* (*E. dombeyi*) using abscisic acid as a germination inhibitor. **Seed Science Technology**, Zurich, v. 7, n. 3, p. 403-406, 1979.

GRANTZ, D. A.; GUNN, S.; VU, H. -B. O<sub>3</sub> impacts on plant development: a meta-analysis of root shoot allocation and growth. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 29, n. 7, p. 1193-1209, July 2006.

GURGEL, J. T. A.; SOUBIHE-SOBRINHO, J. Poliembriõnia em mirtáceas frutíferas. **Bragantia**, Campinas, v. 11, n. 4/6, p. 141-163, abr./jun. 1951.

HARMER, R.; ROBERTSON, M. Seedling root growth of six broadleaved tree species grown in competition with grass under irrigated nursery conditions. **Annals of Forest Science**, Les Ulis Cedex, v. 60, n. 7, p. 601-608, Oct./Nov. 2003.

HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOSLOWSKI, T. T. (Ed.) **Seed Biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 3, p. 145-245.

- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T. Jr. **Plant propagation: principles and practices**. 5. ed. Englewoos Cliffs: Prentice Hall, 1990.
- HIKOSAKA, K.; TAKASHIMA, T.; KABEYA, D.; HIROSE, T.; KAMATA, N. Biomass allocation and leaf chemical defense in defoliated seedlings of *Quercus serrata* with respect to carbon-nitrogen balance. **Annals of Botany**, London, v. 95, n. 6, p. 1025-1032, May 2005.
- HUNT, R. **Plant growth analysis**. London: Edward Arnold, 1978. 67 p. (Studies in Biology, n. 96).
- HUNT, R.; CORNELISSEN, J. H. C. Components of relative growth rate and their interrelations in 59 temperate plant species. **New Phytologist**, Oxford, v. 135, n. 3, p. 395-417, Mar. 1997.
- JACKSON, M. B. (Ed.). **New root formation in plants and cuttings**. Dordrecht: Martinus Nijhoff Publishers, 1986. 265 p.
- JUSTO, C. F.; ALVARENGA, A. A. de; ALVES, E.; GUIMARÃES, R. M.; STRASSBURG, R. C. Aspectos anatômicos das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. e efeito da secagem, do armazenamento e da germinação sobre sua ultra-estrutura. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, 2006. (Aceito para publicação após correções).
- KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Organização dos Estados americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. 174 p. (Série Biologia, Monografia, 24).
- LIMA JÚNIOR, E. de C. **Germinação, armazenamento de sementes e fisiologia de plantas jovens de *Cupania vernalis* Camb.** 2004. 115 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- LITZ, R. E.; JAISWAL, V. S. Micropropagation of tropical and subtropical fruits. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p. 247-263.
- LOF, M.; BOLTE, A.; WELANDER, T. Interacting effects of irradiance and water stress on dry weight and biomass partitioning in *Fagus sylvatica* seedlings. **Scandinavian Journal of Forest Research**, Oslo, v. 20, n. 4, p. 322-328, 2005.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 2 v.



LULA, A. de A.; ALVARENGA, A. A. de; ALMEIDA, L. P. de; ALVES, J. D.; MAGALHÃES, M. M. Efeito de agentes químicos na quebra da dormência de sementes de *Paspalum paniculatum* L. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 358-366, abr./jun. 2000.

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

MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, Jul./Sep. 2003.

MARCHETTI, M. E. **Efeito da vermiculita expandida na retenção de fósforo e potássio em dois solos**. 1992. 155 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MARCHETTI, M. E. **Estudo do comportamento do potássio em solos que receberam quantidades variáveis de minérios vermiculíticos**. 1987. 74 p. (Dissertação de Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

MARTIN, T. N.; LIMA, L. B. de; RODRIGUES, A.; GIRARDI, E.; FABRI, E. G.; MINAMI, K. Utilização de vermiculita, casca de pinus e carvão na produção de mudas de pepino e pimentão. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 107-113, Jan./Mar. 2006.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 4. ed. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.

McMILLIN, J. D.; WAGNER, M. R. Effects of water stress on biomass partitioning of Ponderosa Pine seedlings during primary root growth and shoot growth periods. **Forest Science**, Bethesda, v. 41, n. 3, p. 594-610, Sept. 1995.

MEDEIROS, M. R. de; MANN, R. S.; VICHATO, M.; PASQUAL, M. Uso de marcadores isoenzimáticos na identificação de poliembriões de ‘citravo’ [*Citrus limonia* Osb. X *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n. 2, p. 409-416, abr./jun. 2000.

MONTGOMERY, R.; CHAZDON, R. Light gradient partitioning by tropical tree seedling in the absence of canopy gaps. **Oecologia**, New York, v. 131, n. 2, p. 165-174, Apr. 2002.

NASCIMENTO, A. da C. **Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyroformis* Cambess.)**. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- NERY, F. C. **Aspectos da germinação, armazenamento de sementes, crescimento inicial de plantas jovens de *Calophyllum brasiliense* Cambess.** 2006. 173 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- NEVES, C. S. V. J. Sementes recalcitrantes – revisão de literatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 1459-1467, set. 1994.
- NIC LUGHADHA, E.; PROENÇA, C. A survey of the reproductive biology of Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 83, n. 4, p. 480-503, 1996.
- OLIVEIRA, L. M.; VALIO, I. F. M. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 1, p. 1-5, Jan. 1992.
- PANIS, B.; LAMBARDI, M. Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees). In: **The role of biotechnology**. Villa Gualino, Turin, Italy – 5-7 March, 2005. Disponível em: <[www.fao.org/biotech/docs/panis.pdf](http://www.fao.org/biotech/docs/panis.pdf)>. Acesso em: 02 maio 2005.
- PEARCY, R. W. Photosynthetic gas exchange responses of Australian tropical Forest trees in canopy, gap and understory micro-environments. **Functional Ecology**, Oxford, v. 1, p. 169-178, 1987.
- PEARCY, R. W.; MURAOKA, H.; VALLADARES, F. Crown architecture in sun and shade environments: assessing function and trade-offs with a three-dimensional simulation model. **New Phytologist**, Oxford, v. 166, n. 3, p. 791-800, June 2005.
- PHARTYAL, S. S.; THAPLIYAL, R. C.; KOEDEMAN, N.; GODEFROID, S. *Ex situ* conservation of rare and valuable forest tree species through seed-gene bank. **Current Science**, Bangalore, v. 83, n. 11, p. 1351-1357, Dec. 2002.
- PREECE, J. E.; SUTTER, E. G. Acclimatization of micropropagated plants to greenhouse and field. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.) **Micropropagation: technology and Application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p. 71-93.
- REDENBAUGH, K. Applications of micropropagation for agronomic crops. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Eds.) **Micropropagation: technology and Application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p. 285-310.
- REZENDE, M. R. R. **Germinação, armazenamento de sementes e crescimento inicial de plantas de *Campomanesia rufa* (Berg.) Nied.** 2004. 84 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG

- ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 1, p. 499-514, 1973.
- SALOMÃO, A. N.; ALLEM, A. C. Polyembryony in Angiospermous trees of the Brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 369-378, jul./set. 2001.
- SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, p. 70-84, 2000. Edição especial.
- SCALON, S. de P. Q.; MUSSURY, R. M.; RIGONI, M. R.; SCALON FILHO, H. Crescimento inicial de mudas de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns sob diferentes condições de sombreamento. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 6, p. 753-758, nov./dez. 2003.
- SCALON, S. de P. Q.; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R.; VERALDO, F. Germinação e crescimento inicial de mudas de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob diferentes condições de sombreamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 652-655, dez. 2001.
- SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Denmark, Danida Forest Seed Centre. 2000. 511 p.
- SILVA, C. L. S. P.; MACHADO, M. A.; LEMOS, E. G. M. Expressão protéica diferencial entre plantas apomíticas e zigóticas de citros. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 1-4, abr. 2004.
- SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de *Eugenia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 86-92, 2005.
- SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; MALUF, A. M.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. - Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 231-221, jun. 2003.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer, 1998. 792 p.
- TAN, W.; HOGAN, G. D. Dry weight and N partitioning in relation to substrate N supply, internal N status and developmental stage in Jack Pine (*Pinus banksiana* Lam.) Seedlings: Implications for modeling. **Annals of Botany**, London, v. 81, n. 2, p. 195-201, Feb. 1998.
- THALER, P.; PAGES, L. Periodicity in the development of the root system of young rubber trees (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): relationship with shoot

development. **Plant Cell and Environment**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 56-64, Jan. 1996.

THORPE, T. A.; HARRY, I. S.; KUMAR, P. P. Application of micropropagation to forestry. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.) **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer, 1991. p. 311-336.

WEINER, J. Allocation, plasticity and allometry in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, Jena, v. 6, n. 4, p. 207-215, 2004.

ZANELA, S. M. **Respostas ecofisiológicas e anatômicas ao sombreamento em plantas jovens de diferentes grupos ecológicos**. 2001. 79 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

## **CAPÍTULO V**

### **LONGEVIDADE DAS SEMENTES DE *Eugenia pyriformis* Camb. (MYRTACEAE) ARMAZENADAS SOB BAIXA TEMPERATURA**

## 1 RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. Longevidade das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae) sob armazenamento a baixa temperatura. In:\_\_\_\_\_. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006. Cap. 5, p. 145-173. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. produz frutos saborosos que podem ser consumidos in natura, na forma de sucos e geléias. A propagação da espécie é realizada por sementes, as quais são grandes, pouco numerosas e de curta longevidade, devido a sua recalcitrância. O experimento foi conduzido com o objetivo de estabelecer sua longevidade sob armazenamento a temperaturas de 10°C em embalagem plástica com tratamento fungicida. As sementes recém-colhidas apresentaram elevada germinabilidade a 25°C, no escuro e não havendo diferença entre as safras no tempo zero. Os maiores IVGs foram observados para a safra 2005. Houve queda do IVG ao longo do período de armazenamento para ambas as safras. O tempo médio de germinação foi crescente ao longo do armazenamento e aumentou mais rapidamente para a safra 2004. O índice de entropia informacional ( $\bar{E}$ ) foi menor para os períodos mais prolongados de armazenamento em função do número reduzido de sementes germinadas. A germinação foi nula aos 5 meses, para a safra 2004 e muito reduzida aos 6 meses, para a safra 2005.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).

## 2 ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. Longevity of *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae) seeds under storage at low temperature. In:\_\_\_\_. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006, Chap. 5, p. 145-173. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. is a neotropical myrtaceous tree, with tasteful fruits. Its seeds are large and scarce. This work was conducted with recently collected seeds from 2004 and 2005 harvest to test its longevity under storage at 10°C in plastic bags treated with fungicide. The initial germinability was high at 25°C in the dark on paper roll. There were no differences between years for recently collected seeds. Higher germination velocity index (GVI) was observed for 2005 stored seeds. GVI lowered during storage for both years. The average germination time increased faster for 2004 stored seeds. Informational entropy ( $\bar{E}$ ) was lower for longer stored seeds, because few seeds germinated. The germination was null for 2004 seeds stored for 135 days and very low for 2005 seeds stored for 6 months.

---

\* Guidance committee: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga (Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

Várias Myrtaceae brasileiras apresentam frutos carnosos de sabor agradável ao paladar, os quais são apreciados pela fauna e consumidos pela população, sendo, portanto, potencialmente úteis para a alimentação humana e recuperação de áreas degradadas (Andersen & Andersen, 1989; Lorenzi, 2002). Dentre elas, destaca-se o gênero *Eugenia*, cujas espécies apresentam sementes grandes, a quais perdem rapidamente a viabilidade quando submetidas à dessecação (Andrade & Ferreira, 2000; Andrade et al. 2003; Bulow et al., 1994; Delgado, 2006; Goldbach, 1979; Maluf et al., 2003; Silva et al., 2003 ), ou seja, suas sementes são recalcitrantes (Roberts, 1973).

As sementes de muitas Myrtaceae de matas do Brasil Central são produzidas no início da estação chuvosa (Oliveira & Paula, 2001; Ressel et al., 2004) e, geralmente, germinam prontamente na natureza, com estabelecimento das plântulas antes do início da estiagem subsequente (Silva et al., 2005).

As sementes de *E. brasiliensis* Lamb. (Myrtaceae) suportam o armazenamento em estado de embebição, a 15°C, em presença de 10<sup>-4</sup>M de ácido abscísico (ABA) (Goldbach, 1979). Nessas condições de armazenamento, a temperatura deve ser baixa o suficiente para evitar a germinação e o desenvolvimento de patógenos. Contudo, existe o risco de dano pelo frio (Corbineau & Come, 1988).

A germinabilidade de *E. dysenterica* DC. decresce ao longo do armazenamento, mesmo com a manutenção do seu teor de água (Andrade et al., 2003). Farias Neto et al. (1991) obtiveram 15% de germinação dessa espécie após 300 dias de armazenamento em câmara fria a 10°C e 60% de umidade relativa (UR).



*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea que ocorre na região sul e sudeste do Brasil. Seu crescimento é relativamente rápido e sua frutificação é precoce (Andrade & Ferreira, 2000), sendo conhecida como uvaia, ubaia e uvalha (Franzon et al., 2004; Leal, 2005; Lorenzi; 2002). Os frutos, de coloração amarela ou alaranjada, podem ser consumidos *in natura*, na forma de sucos, sorvetes, geléias e doces (Franzon et al., 2004). Suas sementes apresentam baixa longevidade e recomenda-se a semeadura logo após o despulpamento dos frutos (Lorenzi, 1992). Na base de dados *Seed Information Database* (SID), a sensibilidade à dessecação de *E. uvalha* é considerada incerta (Flynn et al., 2004).

A preservação da qualidade fisiológica das sementes é influenciada pelo tipo de embalagem utilizada (Villela & Peres, 2004). Embalagens plásticas têm sido utilizadas para o armazenamento de sementes recalcitrantes (Carvalho, 2005), pois permitem conservar a sua viabilidade por um período mais prolongado, durante o qual as trocas gasosas são possíveis, sem perda excessiva de água (Cunha, 1986; Schmidt, 2000).

Andrade & Ferreira (2000) verificaram que a emergência de plântulas de *E. pyriformis* torna-se nula após 60 dias de armazenamento em câmara seca a  $15\pm 2^{\circ}\text{C}$  e 60% de UR em embalagens abertas. A redução da emergência foi menos acentuada quando as sementes foram armazenadas em câmara fria, a  $5\pm 2^{\circ}\text{C}$  e 90% de UR, porém, houve queda de vigor. Já Scalon et al. (2004) obtiveram viabilidade superior a 50% para sementes de *E. uvalha* Cambess. armazenadas durante 120 dias à temperatura ambiente ( $30^{\circ}\text{C}$ ) e, em geladeira, a  $13^{\circ}\text{C}$ , em frascos fechados.

O uso de embalagens de papel dentro de embalagens plásticas foi testado para o armazenamento de diferentes espécies com variado grau de sucesso (Sousa-Silva & Franco-Silva, 1999 citados por Sousa-Silva et al., 2001).

Apesar da propagação vegetativa estar sendo viabilizada para *E. pyriformis* (Nascimento, 2006), a manutenção de bancos de sementes é desejável para conservar a diversidade genética da espécie (Bewley & Black, 1994). A conservação de germoplasma de espécies com sementes recalcitrantes é complexa, devido à rápida perda de sua viabilidade (Andrade & Ferreira, 2000; Bulow et al., 1994), sendo necessário manter coleções vivas, nem sempre viáveis devido à erosão genética. Além disso, ainda são poucas as informações disponíveis sobre a variabilidade genética das populações naturais, com implicações para o seu manejo, bem como a conservação de populações viáveis (Telles et al., 2001; 2003).

A deterioração das sementes é inevitável, mas sua longevidade varia em função de um conjunto de fatores que incluem a temperatura, a umidade do ambiente de armazenamento e as características fisiológicas das sementes (Harrington, 1972).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de determinar a longevidade de sementes de *Eugenia pyriformis* de duas safras, armazenadas a 10oC, em embalagens plásticas para alimentos e avaliar a sua capacidade de germinação, bem como a produção de plântulas após o armazenamento.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

As sementes foram obtidas de árvores matrizes localizadas no perímetro urbano do município de Lavras, MG (21°14'20"S e 45°00'17"W GRW), tendo sido coletadas na última semana do mês de outubro de 2004 e de 2005. Uma amostra de material com flores foi depositada no Herbário ESAL, com número de registro 20468.

Os frutos foram colhidos antes da queda, em estágio maduro, determinado pela coloração amarela, a qual pode estar associada ao estágio de maturação das sementes (Copelanes & Biella, 1985 citados por Gentil & Ferreira, 2002). Schmidt (2000) sugere vários critérios práticos de índice de maturidade para evitar a coleta de frutos e sementes imaturos e no caso de *E. pyriformis*, características como o amolecimento da polpa e o adoçamento do sabor podem ser úteis, conforme observado neste trabalho.

Os frutos foram processados no mesmo dia da coleta, para a remoção da polpa. As sementes foram submetidas à lavagem sob água corrente para limpeza e remoção dos resíduos de polpa, sendo mantidos os tegumentos. O excesso de água foi removido com papel-toalha. Apenas as sementes visivelmente chochas foram eliminadas.

O teor de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a  $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas (Brasil, 1992a), utilizando-se 4 subamostras de 5 sementes de cada período de armazenamento em cada safra. Os resultados foram expressos em porcentagem, base úmida.

Antes do armazenamento as sementes foram tratadas com suspensão de fungicida na concentração de 0,1%, Benlat® para as sementes coletadas em 2004 e Captan® para a safra de 2005. Em seguida, as sementes foram envolvidas em papel Germitest® limpo e seco, embaladas em embalagens plásticas para alimentos e armazenadas em geladeira a  $10\pm 2^{\circ}\text{C}$  e UR de 48%.

Os testes de germinação foram conduzidos em rolo de papel a  $25^{\circ}\text{C}$ , conforme descrito anteriormente (Capítulo 2), com 20 sementes em cada rolo de papel e com 4 repetições por tempo de armazenamento para cada safra.

A assepsia foi realizada com a imersão das sementes em solução de hipoclorito de sódio comercial diluído com água destilada (1:1) por 3 minutos. As sementes foram lavadas cinco vezes em água destilada e imersas em

suspensão do fungicida Cercobin®, na concentração de 1,0 g.L<sup>-1</sup>, durante 30 minutos, antes de serem distribuídas sobre papel Germitest®.

O papel foi umedecido em água destilada, na razão de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos foram mantidos na posição vertical em béqueres com uma lâmina de água no fundo, cobertos com saco plástico transparente preso com elástico e mantidos no escuro em câmara de germinação tipo Mangelsdorff.

Como critério de germinação foi considerada a protrusão de 2 mm de radícula, com avaliações a intervalos de 2 dias, durante 90 dias. As sementes germinadas foram mantidas no rolo de papel para acompanhar o desenvolvimento inicial até a contagem de plântulas normais. O intervalo para a avaliação de plântulas normais foi de 10 dias até 120 dias, retirando-as do rolo ao atingirem no mínimo de 10 mm de epicótilo com primórdios foliares e 30 mm de raiz com aspecto saudável (ápice branco-leitoso).

Ao final do experimento, foram consideradas como anormalidades as seguintes características: plântulas com ápice da raiz ou epicótilo escurecido, ausência de epicótilo ou de raiz, raiz ou parte aérea que não atingiram o tamanho mínimo.

O experimento foi conduzido num delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 safras x 4 períodos de armazenamento), com 4 repetições de 20 sementes para cada período de armazenamento em cada safra. Uma amostra de cada safra foi colocada em rolo de papel, para avaliação da germinação inicial (Tzero), constituindo as testemunhas dos lotes.

A percentagem de germinação foi determinada após 90 dias [ $G (\%) = (\sum n_i / N) \cdot 100$ ] e o índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado segundo a fórmula proposta por Maguire (1962) [ $IVG = \sum n_i / t_i$ ]. A percentagem de plântulas normais foi determinada aos 120 dias; enquanto o índice de Maguire foi adaptado para a obtenção do índice de velocidade de produção de plântulas normais (IVP). Obtiveram-se, ainda, o tempo médio de germinação e

de desenvolvimento de plântulas normais [ $t \text{ médio} = \sum n_i \cdot t_i \cdot (\sum n_i)^{-1}$ ] (Baptista de Carvalho et al., 2001) e o índice de entropia informacional para a germinação e o desenvolvimento de plântulas [ $\bar{E} = -\sum f_i \cdot \log_2 f_i$ , onde:  $f_i = n_i \cdot (\sum n_i)^{-1}$ ], segundo Labouriau (1983).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas, pelo teste de Tukey (5% de probabilidade), pelo programa Sisvar (Borghetti & Ferreira, 2004; Ferreira, 2003). Para as interações significativas entre os fatores safra e tempo de armazenamento, foram feitos desdobramentos dentro de safras e de tempos de armazenamento.

## 5 RESULTADOS

O teor de água inicial das sementes obtidas nas safras de 2004 e 2005 variou entre  $49,6 \pm 0,3$  e  $50,8 \pm 0,8\%$ , respectivamente, não havendo diferença significativa entre elas. Durante o armazenamento, a umidade diminuiu de modo linear para as sementes da safra de 2004, atingindo aproximadamente 13%, após 135 dias de armazenamento (Figura 1A). Por outro lado, para as sementes da safra de 2005, a perda de umidade foi mais lenta, ajustando-se um modelo polinomial de 2ª ordem. O grau de umidade das sementes aos 135 dias não diferiu significativamente da umidade inicial, havendo uma redução significativa apenas aos 180 dias de armazenamento (Figura 1A).

A queda da umidade comprometeu diretamente a germinação das sementes em função do seu teor de água (Figura 1B), sobretudo para as sementes da safra 2004, que apresentaram maior durante o armazenamento.

Os fatores safra e tempo de armazenamento interagiram quanto às características de germinação (%), IVG, entropia informacional ( $\bar{E}$ ) e tempo

médio de germinação ( $T_{médio}$ ). Para análise da  $\bar{E}$  e do  $T_{médio}$  de germinação, os períodos de 135 e 180 dias de armazenamento não foram comparados entre as safras.

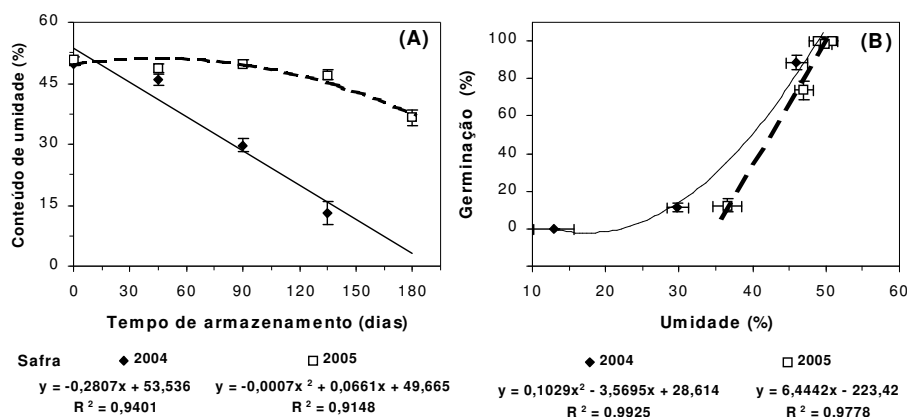


FIGURA 1. (A) Variação do teor de água de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. envolvidas em papel Germitest limpo e seco, embaladas em embalagens plásticas e armazenadas a 10°C e UR de 100%. (B) Variação da porcentagem de germinação em função do conteúdo de água das sementes de duas safras. Cada ponto representa a média de cada repetição e as respectivas barras de erro padrão para o eixo x e y. As barras de erro que não aparecem encontram-se dentro dos limites do ponto.

Não foi observada diferença quanto à germinação inicial das duas safras (Figura 2A). Considerando-se a safra 2005, a porcentagem de germinação manteve-se alta até 90 dias de armazenamento, sem diferença significativa em relação à germinação inicial, com valores menores para os períodos subsequentes. Todavia, nas sementes da safra 2004, a germinação foi significativamente menor que a inicial para, 45 e 90 dias de armazenamento e nula para os períodos subsequentes (Figura 2A).

Quanto ao IVG, os valores foram mais elevados para a safra 2005, desde a primeira avaliação. Apenas para 180 dias de armazenamento, o valor do IVG não diferiu de zero. Os valores de IVG decresceram mais rapidamente dentro da safra 2004, enquanto que, para a safra 2005, não foram observadas diferenças significativas entre 90 e 135 dias de armazenamento (Figura 2B).

A entropia informacional variou entre 2,00 e 3,00, para as datas de avaliação com elevada germinação (Figura 2C); baixos valores foram observados para 90 dias de armazenamento da safra de 2004 e para 180 dias da safra de 2005, em consequência da reduzida porcentagem de germinação (Figura 2A). Esses períodos de armazenamento diferiram significativamente dentro das respectivas safras.

O tempo médio de germinação apresentou valores crescentes para períodos mais longos de armazenamento dentro de cada safra, exceto 180 dias (Figura 2D), devido à baixa germinação total (Figura 2A). Comparando-se as safras, menores valores de germinação foram observados para as sementes da safra 2005, nos três períodos de armazenamento considerados (Figura 2D).

A germinação das sementes recém-colhidas da safra 2004 está concentrada entre 10 e 30 dias, enquanto que, para a safra 2005, as maiores frequências absolutas ocorreram entre 5 e 20 dias (Figura 3A). Isso resulta em valores mais baixos de entropia informacional (Figura 2C) e de tempo médio de germinação (Figura 2D). Para 45 dias de armazenamento, a germinação foi mais dispersa para ambas as safras, sendo mais tardia para as sementes da safra 2004 (Figura 3B), indicando provável perda de vigor. Para 90 dias de armazenamento, considerando as sementes da safra 2005, verifica-se um pico de maior frequência aos 20 dias, enquanto para 2004, a germinação foi tardia, dispersa e reduzida (Figura 3C).

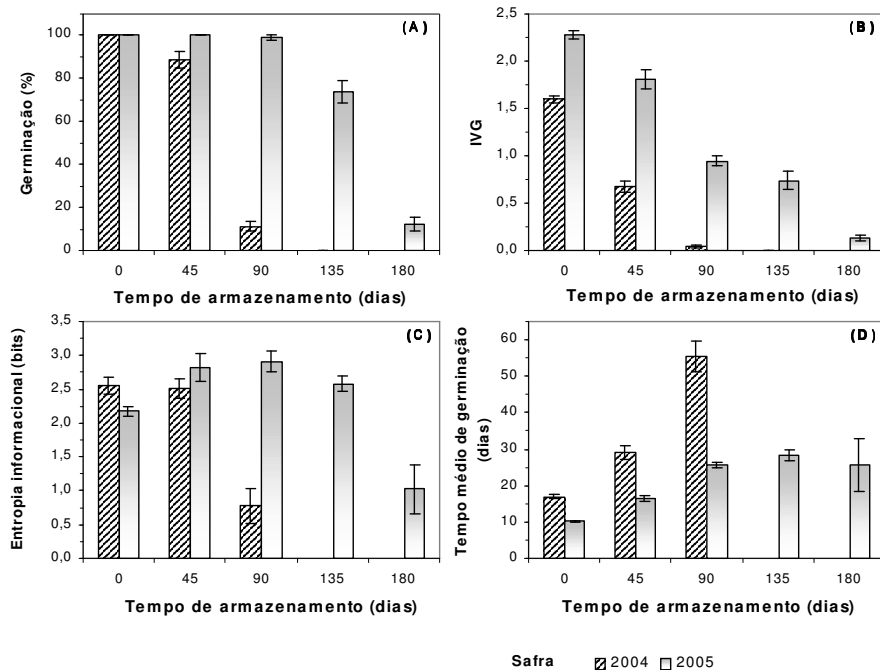


FIGURA 2. (A) Porcentagem de germinação (%) aos 90 dias, (B) IVG, (C) Entropia informacional e (D) tempo médio da germinação de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. armazenadas a 10°C, em embalagens plásticas para alimentos, durante diferentes períodos de tempo. As colunas representam a média de 4 repetições por períodos de armazenamento em cada safra e as barras representam o erro padrão da média.

Para 135 e 180 dias de armazenamento, a germinação ocorreu apenas para as sementes da safra 2005 (Figura 3D). Observou-se grande dispersão temporal para a germinação das sementes armazenadas por 135 dias (Figura 3D), apesar da germinação ser superior a 70% (Figura 2A). Para 180 dias de armazenamento, a porcentagem de germinação foi reduzida (12,5%) e apenas algumas sementes germinaram por volta do 20º dia, não ocorrendo germinação posterior (Figura 3D).



A partir da análise de frequência absoluta da germinação, verifica-se que sementes saudáveis e vigorosas germinaram em cerca de 20 a 30 dias; germinação posterior, provavelmente, ocorre em sementes menos vigorosas. Considerando os dados experimentais obtidos (Figura 3), os testes de germinação em rolo de papel em *E. pyriformis* poderão ser encerrados aos 60-70 dias, sem comprometimento dos resultados, considerando a protrusão da radícula como critério de germinação.

Quanto à porcentagem de plântulas normais, os valores foram mais elevados para a safra 2005, para todos os períodos de armazenamento, exceto para 180 dias, cujo valor não diferiu de zero (8,75%). Uma diminuição significativa foi observada aos 90 dias de armazenamento para a safra 2004, enquanto que, para a safra 2005, verificou-se maior produção de plântulas normais para as sementes armazenadas durante 45 dias, embora sem diferença estatística das sementes recém-colhidas (Figura 4A).

Os valores de IVP decresceram ao longo do armazenamento. Diferença significativa foi observada entre as safras, desde as sementes recém-colhidas, indicando menor vigor de desenvolvimento das plântulas para as sementes da safra 2004. Na safra de 2005, o IVP foi mais elevado, considerando as plântulas provenientes das sementes armazenadas por 45 dias, embora de maneira não significativa (Figura 4B).

Para a comparação entre as safras, a entropia informacional e o tempo médio de desenvolvimento de plântulas normais foram analisados apenas para as sementes recém-colhidas e para os períodos de 45 e 90 dias de armazenamento. Para a safra 2004, também foram analisados esses três períodos e para a de 2005, analisaram-se todos os períodos.

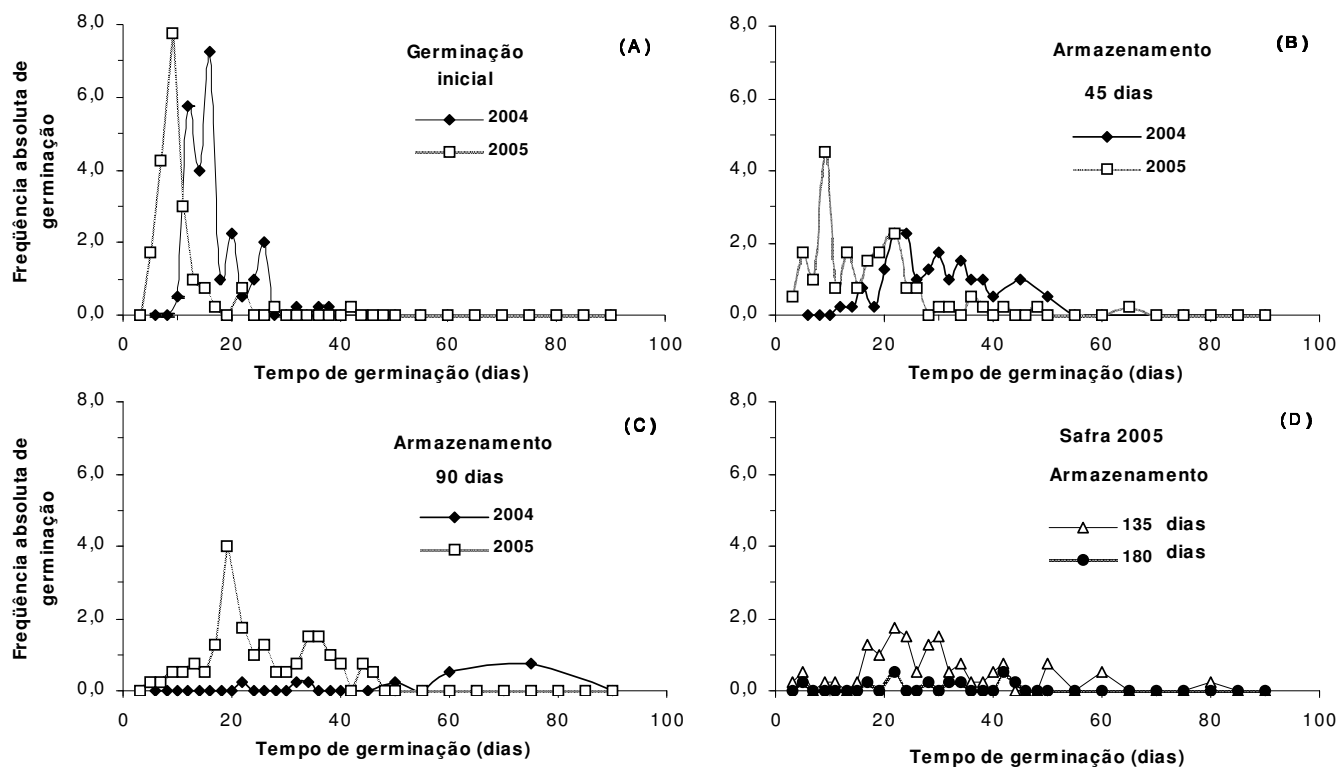


FIGURA 3. Freqüência absoluta de germinação de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. armazenadas a 10°C, em embalagens plásticas durante diferentes períodos de tempo. Cada ponto representa a média de 4 repetições.

Na figura 4C, verifica-se que os dados de entropia informacional foram ambíguos para o desenvolvimento de plântulas, apesar de haver diferenças significativas.

O tempo médio de desenvolvimento de plântulas foi crescente para as sementes armazenadas na safra 2004. Para a safra 2005, foi observado um menor o tempo médio para as sementes armazenadas por 45 dias, com valor inferior aos demais períodos de armazenamento (Figura 4D). Esta característica foi inversamente proporcional ao IVP, para as duas safras, indicando que essas duas variáveis retratam bem a variação de vigor ao longo do armazenamento (Figura 5A).

Uma relação linear entre o tempo médio de germinação e o tempo médio de desenvolvimento de plântulas também foi observada nas sementes provenientes da safra 2004. Houve uma defasagem de cerca de 20 dias entre o tempo médio para a obtenção de plântulas normais e o tempo médio de germinação para a safra 2004 (Figura 5B). Por outro lado, para as sementes colhidas em 2005, a relação entre as duas variáveis não foi significativa.

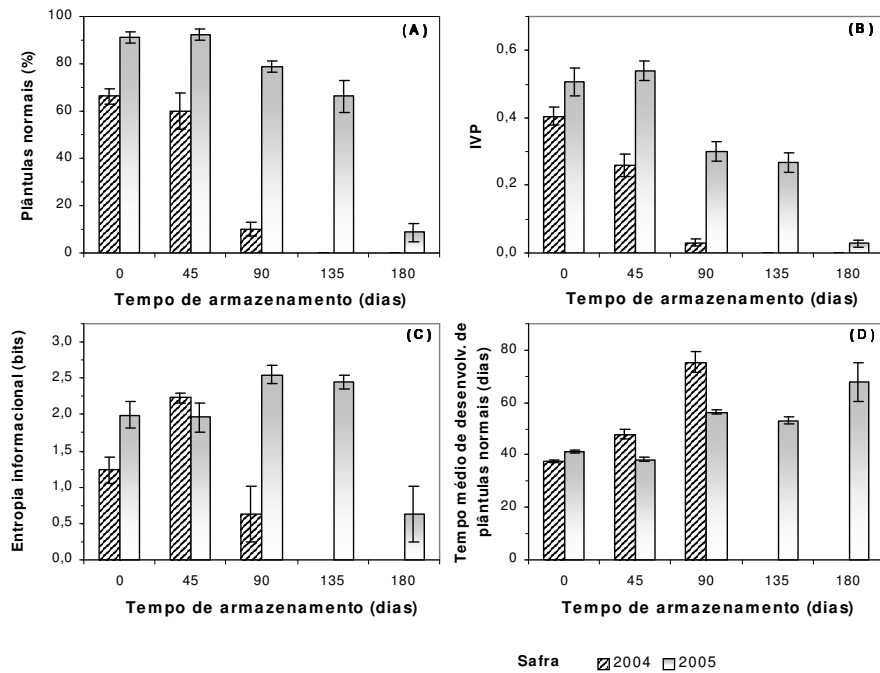


FIGURA 4. (A) Porcentagem de plântulas normais aos 120 dias, (B) IVP, (C) entropia informacional e (D) tempo médio de desenvolvimento de plântulas normais obtidas a partir de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. armazenadas a 10°C, em embalagens plásticas, por diferentes períodos. As colunas representam a média de 4 repetições por tempo de armazenamento em cada safra e as barras representam o erro padrão da média.

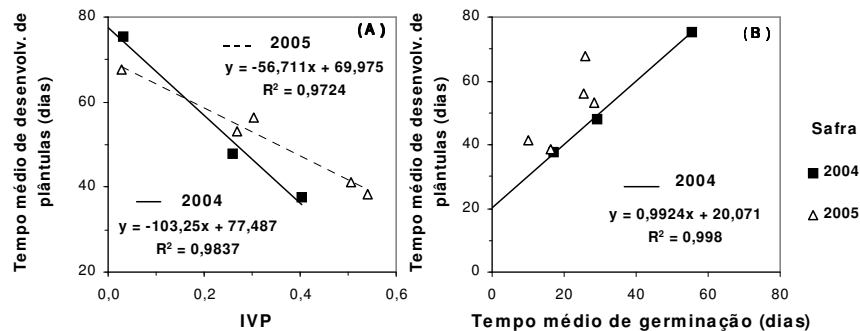


FIGURA 5. Regressões lineares entre as variáveis avaliadas de germinação e desenvolvimento inicial de plântulas obtidas a partir de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. armazenadas a 10°C, em saco plástico, durante diferentes períodos de tempo. (A) Tempo médio de desenvolvimento de plântulas normais em função do IVP. (B) Tempo médio de desenvolvimento de plântulas normais, em função do tempo médio de germinação. Cada ponto representa a média de 4 repetições.

## 6 DISCUSSÃO

O conteúdo inicial de água das sementes de *E. pyriformis* (49%-50% em base úmida) é típico de sementes recalcitrantes. Delgado (2006) relata um conteúdo ainda mais elevado para as sementes da espécie (73,5%).

Diversas espécies de Myrtaceae são dispersas com elevada umidade, variando entre 38% e 47% a 53% para as sementes de *E. dysenterica* (Andrade et al., 2003; Cunha, 1986, respectivamente), 41% para *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Valio & Ferreira, 1992), 46% para *M. dubia* (H.B.K.) McVaugh (Ferreira & Gentil, 2003), 57% para *E. involucrata* D.C. (Maluf et al., 2003), 33% para *Campomanesia xanthocarpa* Berg., 34% para *E. rostrifolia* Legr. e 68% para *Myrcianthes pungens* (Berg.) Legr. (Santos et al., 2004), 46,6% a

49,5% para *E. brasiliensis* e 44,5% para *E. uniflora* L. (Delgado, 2006). No entanto, essa variável nem sempre é mencionada para estudos de armazenamento de sementes recalcitrantes (Goldbach, 1979; Farias Neto et al., 1991; Scalon et al., 2004).

Nos diversos conteúdos de umidade mencionados nos parágrafos anteriores, o metabolismo das sementes encontra-se ativo, sendo possível a ocorrência de respiração celular (Vertucci & Farrant, 1995). Segundo Harrington (1972), no intervalo de umidade citado para as diferentes espécies pode ocorrer germinação durante o armazenamento, como foi observado ao longo deste trabalho.

Considerando que as sementes são higroscópicas, seu teor de água tende a entrar em equilíbrio com a UR do ambiente, num conteúdo que varia em função da composição química da semente e das oscilações da UR do ambiente (Harrington, 1972). O conteúdo de água das sementes recalcitrantes está muito acima da umidade no equilíbrio higroscópico. Para as sementes de *M. dubia*, o equilíbrio é atingido com 15% de água, havendo, nesse conteúdo perda, completa de viabilidade (Gentil & Ferreira, 2000).

A vantagem do uso de embalagens plásticas foi observada para sementes de *E. dysenterica* em câmara fria a 10°C e UR de 60%, sem prejuízos causados pela baixa temperatura (Andrade et al., 2003; Farias Neto et al., 1991) e para as sementes de *Hancornia speciosa* Gomez, independente do ambiente de armazenamento (Oliveira & Valio, 1992).

A queda no teor de água das sementes durante o armazenamento pode estar relacionada com a formação de radicais livres e o acúmulo de toxinas (Vertucci & Farrant, 1995), cujos efeitos refletem sobre a viabilidade e o vigor das sementes (Figura 2A e 4).

Diversos trabalhos têm sido realizados visando estabelecer o conteúdo crítico de água para armazenamento de sementes recalcitrantes com o menor

grau de umidade possível, porém, sem perda de viabilidade (Andrade et al., 2003; Bilia et al., 1999; Delgado, 2006; Ferreira & Gentil, 2003; Kohama, et al., 2006; Maluf et al., 2003). No entanto, em alguns casos, essa pré-secagem pode prejudicar a germinação posterior, como observado para *Araucaria husterii* K. Schum (Pritchard et al., 1995) *Trichilia dregeana* Sond. (Drew et al., 2000), *Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh (Ferreira & Gentil, 2003) e *E. involucrata* (Barbedo et al., 1998; Maluf et al., 2003). Por outro lado, sementes com sua umidade inicial podem germinar durante o armazenamento (Farrant et al., 1986).

A secagem parcial de sementes recalcitrantes antes do armazenamento é recomendada para evitar o desenvolvimento de patógenos (Fonseca & Freire, 2003). Os fungos que infestam as sementes podem causar redução da viabilidade e do vigor (Gentil et al., 2004). Andrade & Ferreira (2000) observaram a ocorrência de *Aspergillus* spp. em sementes de *E. pyriformis*.

No presente trabalho, as sementes foram armazenadas com o seu conteúdo inicial de água após tratamento com fungicida, mas apresentaram comportamento diferente para as duas safras, fato que pode estar relacionado com a diferença de perda de umidade durante o armazenamento entre as duas safras (Figura 1A). Maior quantidade de papel foi utilizada para envolver as sementes da safra 2004, antes da colocação em embalagens plásticas. Para o armazenamento das sementes colhidas em 2005, utilizou-se apenas uma folha de papel Germitest e uma vedação mais eficiente das embalagens, contribuindo para conservar a umidade das sementes e seu poder germinativo (Figura 1B).

A viabilidade de sementes armazenadas de *E. pyriformis* variou entre 60 e 120 dias em estudos anteriores (Andrade & Ferreira, 2000; Scaloni et al., 2004, respectivamente). Vários fatores podem ter influenciado a longevidade das sementes estudadas por esses autores: como a procedência, a embalagem utilizada para armazenamento e as condições de armazenamento e germinação.

Andrade & Ferreira (2000) utilizaram embalagens abertas para armazenar as sementes de *E. pyriformis*, as quais permitiram maior perda de água, resultando em menor período de armazenamento.

Por outro lado, Scalon et al. (2004) utilizaram frascos plásticos hermeticamente fechados, que, possivelmente, permitiram manter a umidade das sementes, mas que podem ter prejudicado as suas trocas gasosas (Bonner, 1990). Scalon et al. (2004) argumentam, ainda, que pode ter ocorrido imaturidade das sementes devido à necessidade de aplicação exógena de giberelina para se obter emergência a partir de sementes armazenadas por menos de 60 dias. Diferença entre procedências de sementes foi observada por Daws et al. (2004), para *Aesculus hippocastanum* L. (Hippocatanaceae), havendo, inclusive, variação no nível de tolerância à dessecação.

A diferença de umidade entre as duas safras, no presente estudo, é de cerca de 1%, sendo, provavelmente, insuficiente para caracterizar diferença de maturidade. As sementes foram colhidas na última semana de outubro de cada safra, a partir das mesmas matrizes. Supõe-se, portanto, que apresentavam o mesmo grau de maturidade. Andrade & Ferreira (2000) utilizaram sementes com 38,6% de umidade, enquanto Delgado (2006) trabalhou com sementes com elevado teor de água (73,5%). Segundo Kermode & Finch-Savage (2002), sementes imaturas tendem a apresentar maior conteúdo de água.

Delgado (2006) sugere diferença de maturidade entre lotes de *E. pyriformis* em seu estudo de tolerância à dessecação, cujas sementes apresentavam umidade inicial elevado (66%-68%). A diferença entre safras foi observada também por outros autores, sendo atribuída à diferença de temperatura durante o desenvolvimento das sementes de *Arum maculatum* L. (Pritchard et al., 1993) e *A. hippocastanum* (Daws et al., 2004).

O aparente aumento do vigor durante o armazenamento para as sementes colhidas em 2005 (Figura 4B) pode estar relacionado com a ocorrência de



alterações subcelulares relacionadas com processos germinativos durante o armazenamento, conforme observado para sementes de *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. (Aviceniaceae) armazenadas em atmosfera saturada de umidade à temperatura ambiente (Farrant et al., 1986; Pammenter et al., 1984). Tais alterações incluíam divisões celulares, vacuolização incipiente, formação de polissomos e desenvolvimento de cristas mitocondriais, entre outros. Após o início desses eventos, há aumento da sensibilidade à dessecação das sementes (Tompsett & Pritchard, 1998). Caso água adicional não seja disponibilizada, as sementes deterioram-se, com degeneração das endomembranas, desorganização de mitocôndrias, desaparecimento de grãos de amido dos plastídeos e aumento da vacuolização (Drew et al., 2000; Farrant et al., 1986).

É provável que tenha ocorrido deterioração das sementes da safra 2004, a partir de 45 dias de armazenamento e da safra 2005, após 135 dias. Uma lenta perda de água foi observada durante o armazenamento (Figura 1A), fato que pode relacionar-se negativamente com a capacidade germinativa das sementes (Figura 1B). O estudo realizado por Delgado (2006) permite prever a porcentagem de germinação das sementes de *E. pyriformis* em função do teor de água para sementes recém-colhidas. No presente trabalho, há o fator adicional da duração do armazenamento e das alterações metabólicas que, provavelmente, ocorreram mesmo sob uma temperatura baixa de armazenamento, uma vez que ocorreu germinação e sementes dentro das embalagens para a safra 2005.

A deterioração das sementes de *E. pyriformis* envolve mudança de coloração do embrião, passando de branco-leitoso para vários tons de bege e marrom, indicando provável oxidação de origem endógena. A mudança de coloração pode ser homogênea ou localizada e é similar à observada quando as sementes são submetidas à elevada temperatura ou em caso de fermentos. A coloração do embrião talvez seja uma boa indicação do seu estado fisiológico. Sementes germinadas de baixo vigor também apresentaram alteração de cor.

Em estudos com o armazenamento de sementes em outras Myrtaceae, verificou-se a manutenção da viabilidade e vigor até 150 dias para camu-camu (*M. dubia*). No entanto, a temperatura de 10°C para o armazenamento foi desfavorável, talvez devido à origem amazônica dessa espécie (Ferreira & Gentil, 2003).

Farrant et al. (1988) consideram que as sementes intolerantes a temperaturas próximas de 0°C, durante o armazenamento, são altamente recalcitrantes. Segundo o critério desse autor, as sementes de *E. pyriformis* são minimamente recalcitrantes, uma vez que foi possível manter a viabilidade das que foram armazenadas entre 5°C e 15°C (Andrade & Ferreira, 2000; Scaloni et al., 2004). No entanto, além da temperatura de armazenamento deve-se considerar o nível de tolerância à secagem (Hong & Ellis, 1996).

Considerando a distribuição mais meridional da espécie (Lorenzi, 2002), ela está sujeita a temperaturas baixas durante o inverno, inclusive abaixo do ponto de congelamento (Brasil, 1992b). No entanto, naquela região, as sementes são produzidas e dispersas na época mais quente do ano (Andrade & Ferreira, 2000; Franzon et al., 2004). Segundo Andrade et al. (2003), sementes de *E. dysenterica* também toleraram armazenamento até 5°C, apesar de ser uma espécie característica da região de Cerrado (Andrade et al., 2003), onde as temperaturas mínimas raramente são inferiores a 10°C (Brasil, 1992b).

No presente estudo, o armazenamento foi conduzido a 10°C, no entanto, observou-se germinação das sementes da safra de 2005 dentro das próprias embalagens. Andrade et al. (2003) mencionam fenômeno semelhante para sementes de *E. dysenterica* armazenadas a 15°C. Segundo Pritchard et al. (1995), a germinação espontânea depende do teor de água das sementes e da temperatura de armazenamento. Provavelmente, a germinação espontânea pode ser prevenida pelo armazenamento a temperaturas inferiores a 10°C (Andrade et al., 2003).

Como as sementes germinadas nas embalagens são excluídas para a realização dos testes de germinação, é possível que as mais vigorosas estejam sendo eliminadas dos experimentos. A germinação das sementes dentro das embalagens sem água adicional é uma indicação da continuidade do metabolismo durante o armazenamento, mesmo com a redução de temperatura (Andrade et al., 2003; Farrant et al., 1986; Pammenter et al., 1984).

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que não foi possível estabelecer um método satisfatório para armazenar as sementes de *E. pyriformis* a longo prazo. A manutenção do teor de água das sementes foi benéfica para prolongar a longevidade das mesmas para a safra 2005. A embalagem plástica lacrada não prejudicou as trocas gasosas das sementes armazenadas, pois o plástico utilizado era permeável à trocas gasosas. A germinação dentro das embalagens durante o armazenamento indica a continuidade do metabolismo a baixa temperatura.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, O.; ANDERSEN, V. U. **As frutas silvestres brasileiras**. São Paulo: Globo, 1989. 203 p.
- ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.
- ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. F. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.
- BAPTISTA de CARVALHO, P. G.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature- dependent germination and endo- $\beta$ -mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, dez. 2001.
- BARBEDO, C. J.; KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C. Germinação e armazenamento de diásporos de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC. - Myrtaceae) em função do teor de água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 184-188, 1998.
- BARBOSA, J. M.; BARBOSA, L. M.; SILVA, T. S. da; FERREIRA, D. T. L. Influência de substratos e temperatura na germinação de duas espécies frutíferas silvestres. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 12, n. 2, p. 66-73, 1990.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BILIA, D. A. C.; MARCOS FILHO, J.; NOVEMBRE, A. D. C. L. Desiccation tolerance and seed storability of *Inga uruguensis* (Hook. et Arn.). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 77-89, 1999.
- BONNER, F. T. Storage of seeds: potential and limitations for germoplasm conservation. **Forest Ecology and Management**, Amsterdam, v. 35, n. 1/2, p. 35-43, June 1990.
- BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. Interpretação dos resultados de germinação. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Normais climatológicas**. 1961-1990. Brasília, 1992b. 84 p.

- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992a.365p.
- BULOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 961-970, jun. 1994.
- CARVALHO, L. R. **Conservação de sementes de espécies dos gêneros *Nectandra*, *Ocotea* e *Persea* (Lauraceae)**. 2005. 75 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CORBINEAU, F.; CÔME, D. Storage of recalcitrant seeds of four tropical species. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 16, n. 1, p. 97-103, 1988.
- CUNHA, M. do C. L. **Estudo de preservação do poder germinativo de sementes, enraizamento de estacas e anatomia da rizogênese em *Eugenia dysenterica* DC**. 1986. 95 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- DAWS, M. I.; GAMENÉ, C. S.; GLIDEWELL, S. M.; PRITCHARD, H. W. Seed mass variation potentially masks a single critical water content in recalcitrant seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 185-195, June 2004.
- DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de *Eugenia***. 2006. 96 p. (Dissertação Mestrado) - São Paulo, Instituto de Botânica, São Paulo. Disponível em: <<http://www.ibot.sp.gov.br/teses/liliana2006.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2006.
- DREW, P. J.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. 'Sub-imbibed' storage is not an option for extending longevity of recalcitrant seeds of the tropical species, *Trichilia dregeana* Sond. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 3, p. 355-363, Sept. 2000.
- FARIAS NETO, A. L. de; FONSECA, C. E. L. da; GOMIDE, C. C. C.; SILVA, J. A. da. Armazenamento de sementes de cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 55-62, 1991.
- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with storage time. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 67, n. 2, p. 291-298, June 1986.
- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Recalcitrance a current assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 16, n. 1, p. 155-166, 1988.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistema de análise de variância para dados balanceados. Versão 4. 6. Lavras: UFLA, 2003.

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

FLYNN, S.; TURNER, R. M.; DICKIE, J. B. **Seed information database**. (release 6. 0, October 2004). Disponível em: <<http://rbgkew.org.uk/data/sid/>> Acesso em: 15 ago. 2006.

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JÚNIOR, A. Fenologia da floração e maturação dos frutos da uvalheira (*Eugenia pyriformis* Camb.), em Pelotas, RS. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1., 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 397-402. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 123). Disponível em: <<http://www.cpact.embrapa.br>>. Acesso em: 10 dez. 2005.

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

GENTIL, D. F. de O.; FERREIRA, S. A. do N. Preparação das subamostras, temperatura e período de secagem na determinação do grau de umidade de sementes de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 2, p. 62-69, 2002.

GENTIL, D. F. de O.; FERREIRA, S. A. do N. Tolerância à dessecação e viabilidade de sementes de camu-camu. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 264-267, ago. 2000.

GENTIL, D. F. de O.; SILVA, W. R da; FERREIRA, S. A. do N. Conservação de sementes de *Myrciaria dubia*. (H. B. K.) McVaugh. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 421-430, 2004.

GOLDBACH, H. Imbibed storage of *Melicoccus bijugatus* and *Eugenia brasiliensis* (*E. dombeyi*) using abscisic acid as a germination inhibitor. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 7, n. 3, p. 403-406, 1979.

GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W. E.; ATHERTON, N. M.; BERJAK, P. Viability loss and free radical processes during desiccation of recalcitrant *Avicennia marina* seeds **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 235-242, Sept. 2001.

HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOSLOWSKI, T. T. (Ed.) **Seed Biology**. New York: Academic Press, 1972. v. 3, p. 145-245.

- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour.** IPGRI Technical Bulletin N. 1. Rome International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 62 p.
- KERMODE, A. R.; FINCH-SAVAGE, B. E. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. In: BLACK, M; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants:** drying without dying. Wallingford: CAB International, 2002. p. 149-184.
- KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes.** Organização dos Estados americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. 174 p. (Série Biologia, Monografia, 24).
- LEAL, M. A. G. **Fórum do Atelier do Bonsai.** 2005. Disponível em: <<http://www.atelierdobonsai.com.br/forum/viewtopic.php?t=355&start=0&postdays=0&postorder=asc&highlight=>>>. Acesso em: 14 jan. 2006.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 1, 368 p.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination- aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar/Apr. 1962.
- MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, Jul./Sep. 2003.
- NASCIMENTO, A. da C. **Micropropagação de uvaieira (*Eugenia pyroformis* Cambess.).** 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- OLIVEIRA, L. M.; VALIO, I. F. M. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 1, p. 1-5, Jan. 1992.
- OLIVEIRA, P. E. A. M. de; PAULA, F. R. de. Fenologia e biologia reprodutiva de plantas de Matas de Galeria. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.). **Cerrado:** caracterização e recuperação de Matas de Galeria. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. p. 303-332.
- PAMMENTER, N. W.; FARRANT, J. M.; BERJAK, P. Recalcitrant seeds: short-term storage effects in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. may be

germination-associated. **Annals of Botany**, London, v. 54, n. 6, p. 843-846, 1984.

PRITCHARD, H. W.; TOMPSETT, P. B.; MANGER, K.; SMITH, W. J. The effect of moisture content on low temperature responses of *Araucaria hunsteinii* seed and embryos. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 1, p. 79-88, Jan. 1995.

RESSEL, K.; GUILHERME, F. A. G.; SCHIAVINI, I.; OLIVEIRA, P. E. Ecologia morfo-funcional de plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 311-323, abr./jun. 2004.

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

SANTOS, C. M. R dos; FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 14, n. 2, p. 13-20, dez. 2004.

SCALON, S.; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R. Armazenamento e germinação de sementes de uvaia *Eugenia uvalha* Cambess. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1228-1234, nov./dez. 2004.

SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Denmark, Danida: Forest Seed Centre. 2000. 511 p.

SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de *Eugenia*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 86-92, 2005.

SILVA, C. V.; BILIA, D. A. C.; MALUF, A. M.; BARBEDO, C. J. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess. – Myrtaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 231-221, jun. 2003.

SOUSA-SILVA, J. C.; RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; ANTUNES, N. B. Germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies arbóreas e arbustivas que ocorrem em Matas de Galeria. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L. da; SOUSA-SILVA, J. C. (Ed.) **Cerrado: caracterização e recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. p. 379-422.

TELLES, M. P. C.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J.; DINIZ, J. A. F.; VALVA, F. D. Genetic diversity and population structure of *Eugenia dysenterica* DC. (“cagaiteira” – Myrtaceae) in Central Brazil: spatial analysis and implications for conservation and management. **Conservation Genetics**, Dordrecht, v. 4, n. 6, p. 685-695, 2003.



- TELLES, M. P. C.; DINIZ, J. A. F.; COELHO, A. S. G.; CHAVES, L. J. Autocorrelação espacial das frequências alélicas em sub-populações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica* DC. Myrtaceae) no sudeste de Goiás. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 2, p. 145-1254, jun. 2001.
- TOMPSETT, P. B.; PRITCHARD, H. W. Effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastaneum* L. seed. **Annals of Botany**, London, v. 82, n. 2, p. 249-261, Aug. 1998.
- VALIO, I. F. M.; FERREIRA, Z. de L. Germination of seeds of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 4, n. 2, p. 95-98, dez. 1992.
- VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIEGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.
- VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-281.



## **CAPÍTULO VI**

### **EFEITO DA SECAGEM DE SEMENTES SOBRE A GERMINAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO INICIAL DE *Eugenia pyriformis* Camb.**

## 1 RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. Efeito da secagem de sementes sobre a germinação de *Eugenia pyriformis* Camb. In:\_\_\_\_\_. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006. Cap. 6, p. 175-206. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

A tolerância à dessecação em sementes não é universal e muitas espécies florestais tropicais possuem sementes sensíveis à perda de água. *Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea nativa da mata atlântica e ocorre desde São Paulo até o Rio Grande do Sul, sendo ocasionalmente cultivada em quintais e chácaras. A longevidade das sementes é curta. Este trabalho teve o objetivo de avaliar a germinação de sementes de *E. pyriformis* submetidas à secagem antes do plantio. Coletaram-se sementes de matrizes localizadas em Lavras, MG. Amostras com 100 sementes foram pesadas antes e após secagem, calculando-se a perda de massa. Realizaram-se dois experimentos. No primeiro, a secagem foi realizada em estufa não ventilada a  $35\pm 1^{\circ}\text{C}$  e intervalos de tempo progressivos: zero (testemunha), 16, 24, 40, 65, 112, 185 e 256 horas. Determinou-se o teor de água das sementes antes e após cada tempo de secagem. A germinação foi conduzida em rolo de papel Germitest®, em câmara de germinação do tipo BOD, a  $25^{\circ}\text{C}$ , no escuro. No segundo experimento, foram utilizadas quatro condições de secagem e três tempos (24, 48 e 72 horas) em duas temperaturas ( $20^{\circ}\text{C}$  e  $35^{\circ}\text{C}$ ). A germinação final (%) foi menos afetada pela secagem que o índice de velocidade de germinação (IVG). O tempo para 50% de germinação ( $T_{50}$ ) foi crescente em função do tempo de secagem. O desenvolvimento das plântulas foi normal. A secagem de sementes de *E. pyriformis* prejudica sua qualidade fisiológica independentemente da velocidade de secagem, causando envelhecimento precoce, retardando a germinação e reduzindo seu vigor. O conteúdo crítico de água das sementes foi estabelecido entre 42% e 46%, enquanto o conteúdo letal foi calculado entre 15% e 17%, portanto, essas sementes são recalcitrantes.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).

## 2 ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. Effect of drying on germination of *Eugenia pyriformis* Camb. seeds. In:\_\_\_\_\_. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006. Chap. 6, p. 175-206. Thesis (Doctor degree in Agronomy/Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

The capacity to support water loss is adaptative for seeds, but many tropical forest trees have desiccation sensitive seeds. *Eugenia pyriformis* Camb. is a native tree from Atlantic Forest in Brazil, it occurs between Sao Paulo and Rio Grande do Sul, and it is occasionally cultivated in backyards. Seed longevity is short. The objective of this work was to evaluate seed germination after desiccation. Seeds were collected at Lavras, MG (21°13'40"S and 44°57'50"W GRW). Seed samples were weighed before and after drying, to calculate loss of mass, Seed water content was determined before and after drying, which was carried out at 35±1°C in the first experiment. Time intervals were progressive: zero (control), 16, 24, 40, 65, 112, 185, 256h. In the second experiment, four desiccation rates were used during 24, 48 and 72 hours at two temperatures 20 and 35°C. Germination was conducted in paper rolls at 25°C in dark. Germinability (%) was less affected by desiccation than germination velocity index (GVI). Time to reach 50% of germination ( $T_{50}$ ) correlated positively with desiccation time. Desiccation was harmful to physiological quality of seeds, causing their early aging, retarding germination and reducing their vigor. Critical water content of seeds is between 42 and 46% and lethal content is between 15 and 17%. *E. pyriformis* seeds are recalcitrant.

---

\* Guidance committee: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga (Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

Dentre as Myrtaceae frutíferas, merece destaque a espécie *Eugenia pyriformis* Camb., que ocorre naturalmente desde São Paulo até o Rio Grande do Sul, sendo ocasionalmente cultivada em chácaras e quintais. É conhecida popularmente como uvaia, ubaia, uvalha, derivando da denominação indígena *iwa'ya*, cujo significado é fruto ácido. Seus frutos são muito atraentes devido à coloração amarela ou alaranjada e podem ser consumidos *in natura* ou utilizados no preparo de sucos, sorvetes, geléias e doces. Suas sementes são grandes e de curta longevidade (Andrade & Ferreira, 2000; Bertani et al., 2001; Franzon et al., 2004; Leal, 2005; Lorenzi, 2002; Nascimento et al., 2001; Rondon Neto et al., 2002).

As Myrtaceae neotropicais pertencem à subfamília Myrtoideae, segundo Judd et al. (2002), esse táxon é polifilético, pois os frutos tipo baga evoluíram independentemente em dois subgrupos. No gênero *Eugenia* ocorrem várias espécies com sementes sensíveis à dessecação (Andrade et al., 2003; Anjos & Ferraz, 1999; Bulow et al., 1994; Delgado, 2006; Kohama et al., 2006; Maluf et al., 2003). Von Teichman & Van Wik (1991) investigaram a anatomia de sementes recalcitrantes, chegando à conclusão de que essa sensibilidade é um caráter primitivo.

A capacidade de suportar a perda de água é uma característica adaptativa para as sementes. Atualmente, a maioria dos cultivos comerciais é realizada com espécies de sementes tolerantes à dessecação, também conhecidas como “ortodoxas”, as quais permanecem viáveis durante anos em estado desidratado. Por outro lado, a tolerância à dessecação não é universal e muitas espécies produzem sementes sensíveis à dessecação, as quais são denominadas “recalcitrantes” (Barbedo & Bilia, 1998; Neves, 1994; Roberts, 1973). Várias

características são comuns às sementes recalcitrantes, tais como o alto teor de água na dispersão, banco de sementes transitório no solo, curta longevidade e perda completa da viabilidade durante a dessecação, sendo esta última a característica que, provavelmente, distingue melhor esse grupo de sementes (Hong & Ellis, 2004; Schmidt, 2000).

Possivelmente, essas espécies evoluíram em ambientes onde não havia restrição para a germinação e o desenvolvimento das plântulas em qualquer época do ano; geralmente, são espécies de florestas tropicais úmidas ou de ambiente inundável (Barbedo & Bilia, 1998; Roberts, 1973). Diversas espécies de importância econômica têm sementes recalcitrantes, principalmente entre espécies frutíferas, tais como a jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam.), a mangueira (*Mangifera indica* L.), o abacateiro (*Persea americana* Mill.) e o mangostão (*Garcinia mangostana* L.), entre outras. Podem-se citar, ainda, diversas espécies de palmeiras e espécies florestais, tais como as Dipterocarpaceae, a seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd.) Muell. Arg. (Euphorbiaceae)] e a andiroba [*Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae)] (Berjak & Pammenter, 2002; Connor et al., 1998; Neves, 1994; Schmidt, 2000).

O conteúdo crítico de água é definido como o mais baixo conteúdo de água que não resulta em qualquer redução da porcentagem de germinação observada para as sementes frescas (Thomsen, 2000). A sensibilidade à dessecação varia em função da maturidade das sementes (Berjak et al., 1992), da parte da semente considerada (Finch-Savage, 1992) e da velocidade de secagem (Berjak et al., 1990; Berjak & Pammenter, 1994; Farrant et al., 1985; Pammenter et al., 2002).

Tecidos sensíveis à dessecação, geralmente, toleram maior perda de água se a secagem for realizada rapidamente, em poucas horas (Berjak et al., 1993; Farrant et al., 1989; Finch-Savage, 1992; Pammenter et al., 1984; Pammenter et al., 1991; Pammenter et al., 1998; Pritchard, 1991; Pritchard &

Manger, 1998; Pritchard & Prendergast, 1986). A secagem rápida não aumenta a tolerância à dessecação em si, mas evita que o tecido permaneça muito tempo em conteúdos intermediários de água, de modo que processos deletérios não têm tempo de acumularem-se (Pammenter et al., 2002).

O presente trabalho teve por objetivos: determinar o conteúdo crítico de água para as sementes de *E. pyriformis*, testar o efeito da velocidade de secagem sobre a germinação de sementes de *E. pyriformis* e testar a hipótese de que o meristema apical do caule é mais sensível à dessecação do que o da raiz.

Sementes de uvaia foram obtidas de três matrizes adjacentes localizadas na zona urbana de Lavras, MG (21°13'40"S e 44°57'50"W GRW). A identificação das plantas foi realizada no Herbário ESAL, sendo depositada uma exsicata com número de registro 20468.

Para o primeiro experimento, as sementes foram obtidas em 23 de outubro de 2003. A polpa dos frutos foi removida sob água corrente e as sementes foram embrulhadas em papel jornal para a remoção do excesso de umidade. Separaram-se amostras de 100 sementes com tegumento, observando-se que, em cada amostra, estivessem presentes os variados tamanhos de sementes obtidas. Todas as amostras foram pesadas no início do experimento e aspergidas com uma suspensão de benomil (Benlate®), na concentração de 1,0 mg.mL<sup>-1</sup>. Uma amostra-testemunha não recebeu tratamento de secagem, sendo considerada como testemunha (tempo zero). As amostras foram levadas para estufa não ventilada, a 35±1°C (marca Fanem, modelo 515C) e umidade relativa do ar (UR) de 40%, sendo removidas a intervalos de tempo de: 16, 24, 40, 65, 112, 185 e 256 horas.



Cada amostra foi pesada logo após a retirada da estufa e calculou-se a perda de massa durante a secagem pela seguinte fórmula:

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{(\text{MI} - \text{MS})}{\text{MI}} * 100 \quad (1)$$

em que: MI = massa inicial da amostra e MS = massa da amostra após secagem durante um dado intervalo de tempo.

Ao final do tempo de secagem de cada amostra, tomaram-se 4 subamostras de 5 sementes para a determinação do teor de água das sementes em estufa a 105°C, durante 48 horas (adaptado de Brasil, 1992). Os resultados foram expressos como porcentagem em relação à massa úmida das sementes.

As sementes restantes de cada amostra foram subdivididas em 3 subamostras de 20 sementes e colocadas para germinar em rolo de papel umedecido em H<sub>2</sub>O destilada, sendo levados a uma câmara de germinação do tipo BOD (marca Eletrolab, modelo 102G), a 25°C, no escuro. Os testes de germinação foram montados uma hora após retirarem-se as sementes da secagem, pois o material parcialmente seco perde rapidamente a viabilidade (Walters et al., 2001).

As sementes foram observadas diariamente até a protrusão de 1,0 mm de radícula e removidas do rolo. Calcularam-se a porcentagem total de germinação aos 85 dias e o índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962). Obtiveram-se ainda o tempo médio de germinação (Baptista de Carvalho et al., 2001) e a entropia informacional (Labouriau, 1983).

A germinação acumulada foi calculada a partir da média da germinação diária das três repetições. O tempo para a ocorrência de 50% de germinação ( $T_{50}$ ) foi calculado de acordo com Guimarães (2000):

$$T_{50} = [(G - G_1) / (G_2 - G_1)] * T$$

em que:  $T_{50}$  = tempo necessário para atingir 50% de germinação (dias).

G = metade do valor máximo de germinação

$G_1$  = valor de germinação igual ou imediatamente inferior a G

$G_2$  = valor de germinação imediatamente superior a G

I = intervalo entre as contagens

T = tempo para a ocorrência de  $G_1$

O delineamento do primeiro experimento foi inteiramente casualizado, tendo sido realizada análise de variância e regressão em função do tempo de secagem. A comparação entre médias foi feita pelo teste de Tukey, a 5% de significância. Calculou-se a correlação entre o tempo de secagem e o conteúdo de água das sementes.

Para o segundo experimento, foram colhidas sementes das mesmas matrizes na safra de 2005, em quatro datas: 10, 17, 24 e 31 de outubro de 2005. A remoção da polpa dos frutos foi realizada da mesma maneira.

Uma testemunha de cada data de coleta foi colocada para germinar sem nenhum procedimento de secagem. A secagem foi realizada a duas temperaturas (20°C e 35°C), com duas condições de ventilação em cada temperatura, de modo a manipular a velocidade de secagem das sementes. Amostras foram retiradas após 24, 48 e 72 horas de secagem. A temperatura e a umidade relativa do ar foram acompanhadas durante a secagem, com um termoigrógrafo (Tabela 1).

As condições de secagem foram obtidas do seguinte modo:

- a) 20°C, com ventilação - em sala climatizada a 20°C, com um fluxo de ar proveniente de um aparelho de ar condicionado (marca Springer, modelo Topline) incidindo diretamente sobre as sementes;
- b) 20°C, sem ventilação - em câmara de germinação tipo Mangelsdorff (marca De Leo) a 20°C e com uma lâmina de água no fundo;
- c) 35°C, com ventilação - em estufa de secagem com ventilação regulada para 35°C (marca Fanem, modelo 320-SE);

- d) 35°C, sem ventilação - em estufa de secagem sem ventilação regulada para 35°C com uma bandeja de sílica gel ativada (marca Fanem, modelo 515C).

A exposição a temperaturas mais elevadas pode afetar o metabolismo das sementes, principalmente a respiração celular (Taiz & Zeiger, 1998). Além disso, as plântulas de *E. pyriformis* mostraram-se sensíveis ao calor em experimentos anteriores (Capítulo 2). Por esse motivo, optou-se por incluir condições de secagem a 20°C, no segundo experimento.

TABELA 1. Umidade relativa do ar (%) durante a secagem de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb., em diferentes condições.

Temperatura (°C)	Ventilação	
	Presente	Ausente
20	60 *	100
35	20	40

\* Umidade e temperatura registradas com termoígrafo

Avaliou-se a massa inicial e final de cada amostra, do mesmo modo que no experimento anterior. Calculou-se a massa média de uma semente, a partir da pesagem inicial de amostras de 30 sementes levadas à secagem. Após a secagem, retiraram-se subamostras de 5 sementes para a determinação direta do conteúdo de água em estufa a 105°C (Brasil, 1992), sendo uma repetição por bloco, totalizando quatro repetições por tratamento de secagem em cada tempo.

Amostras de 20 sementes foram colocadas para germinar em rolo de papel Germitest embebido em suspensão do fungicida Cercobin® (1g.L<sup>-1</sup>) e levadas à câmara de germinação do tipo Mangelsdorff (marca De Leo), a 25°C, no escuro.

Avaliou-se a porcentagem de germinação, de emergência do epicótilo e de plântulas normais após 120 dias. As avaliações foram realizadas a cada dois dias, para cálculo do IVG, IVE e a cada dez dias, para cálculo do índice de velocidade de produção de plântulas normais (IVP) segundo Maguire (1962). Obtiveram-se, ainda, o tempo médio de germinação (Baptista de Carvalho et al., 2001) e a entropia informacional (Labouriau, 1983).

Cada data de coleta foi considerada como um bloco e o experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados, em esquema fatorial com tratamento adicional (2 temperaturas x 2 condições de ventilação x 3 tempos de secagem + testemunha), constituindo 13 tratamentos no total.

A análise dos dados foi realizada pelo software Sisvar e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Ferreira, 2003).

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O conteúdo inicial de água das sementes para o primeiro experimento foi de 52,0% e não diferiu das sementes de outras safras obtidas a partir das mesmas matrizes em outras coletas (Capítulos 2, 3 e 4). A massa média de uma semente foi de  $772 \pm 17$  mg, tendo tamanho intermediário em relação às utilizadas para o experimento de fracionamento (Capítulo 4) e menores do que as utilizadas para estudo do efeito da temperatura sobre a germinação (Capítulo 2).

A exposição a 35°C causou redução da massa das sementes, bem como a redução do seu conteúdo de água (Figura 1A), mas a relação entre essas duas variáveis não é linear, pois a secagem foi mais lenta para sementes com maior conteúdo de água e mais rápida para sementes que já haviam perdido parte de

sua umidade (Figura 1B). Nas primeiras 24 horas, a perda de umidade foi de cerca de 2%, enquanto que, para o décimo dia de secagem, a taxa de perda foi de 4%, em 24 horas. Esses valores foram deduzidos a partir da equação apresentada na figura 1A:

$$y = -0,0002x^2 - 0,085x + 51,528$$

em que: y = conteúdo de água (%) e x = tempo de secagem (horas).

Esperava-se que as sementes perdessem água mais rapidamente no início da secagem (Andrade et al., 2003; Berjak et al., 1992), mas a tendência observada foi contrária. Talvez, durante a secagem, o acúmulo de danos tenha aberto caminho para maiores perdas.

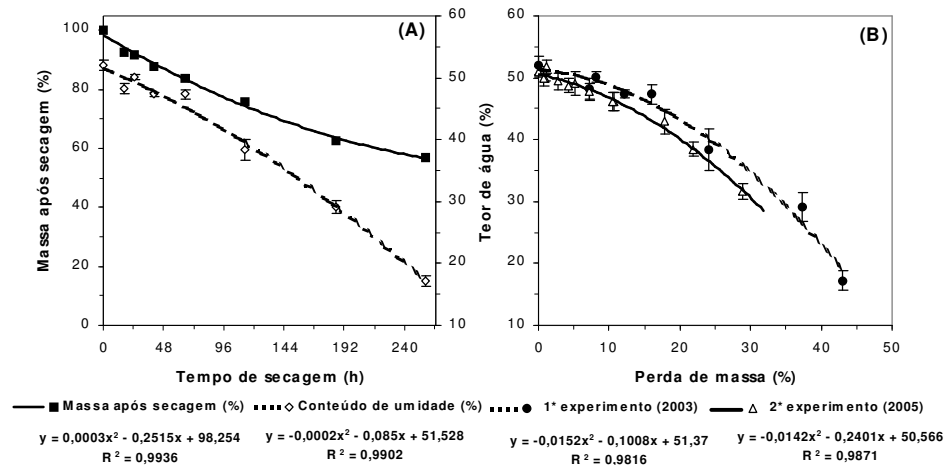


FIGURA 1. (A) Variação da massa e do teor de água das sementes de *E. pyriformis* Camb., em função do tempo de secagem em estufa não ventilada a 35°C e 40% de UR. (B) Relação entre a perda de massa e o conteúdo de água das sementes para os dois experimentos. Para o teor de água, cada ponto representa a média de quatro repetições, com a respectiva barra de erro padrão.

A porcentagem de germinação foi pouco afetada até 65 horas de secagem e 47,3% de umidade. Para 112 horas de secagem e 38,4% de umidade, observou-se uma queda significativa na germinação (Figura 2A). A partir desses resultados, pode-se considerar que o conteúdo crítico de água para as sementes de *E. pyriformis* está entre as duas porcentagens citadas.

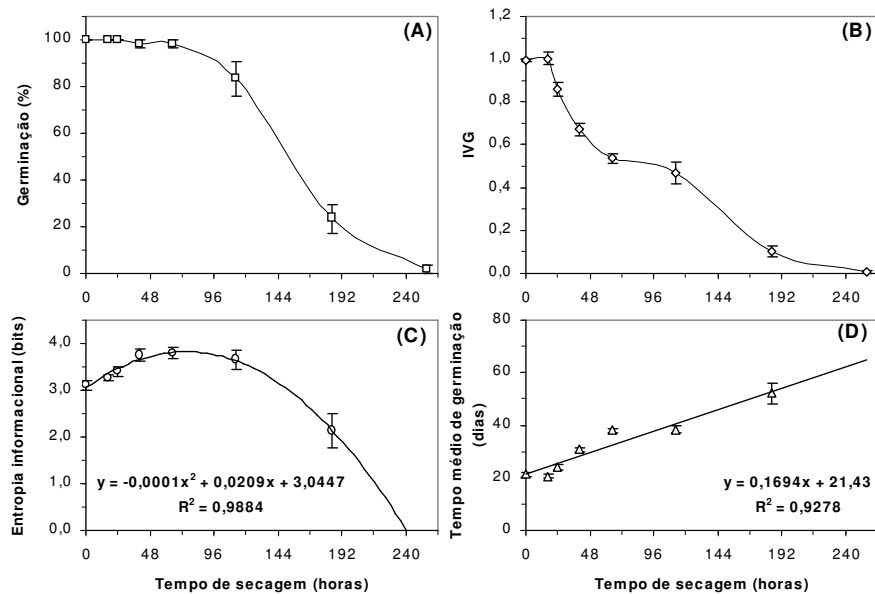


FIGURA 2. (A) Porcentagem de germinação, aos 85 dias de embebição, (B) índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962), (C) entropia informacional da germinação (bits) e (D) tempo médio de germinação (dias) para sementes de *E. pyriformis* Camb., em função do tempo de secagem em estufa não ventilada a 35°C e 40% de UR. Cada ponto representa a média de três repetições com a respectiva barra de erro padrão.

Para um teor de água inferior a 30% (Figura 2A, 185 horas de secagem), supõe-se que as sementes de *E. pyriformis* entraram no nível 3 de umidade da

classificação proposta por Vertucci & Farrant (1995), no qual algumas atividades metabólicas ainda estão ativas e a respiração ainda é mensurável, mas o catabolismo está desregulado e ocorre produção de radicais livres.

O conteúdo letal de água para as sementes de *E. pyriformis* é inferior a 20% (Figura 2A, 256 horas de secagem e germinação nula). Segundo Vertucci & Farrant (1995), para esse nível de hidratação (10% a 22%), geralmente, as sementes recalcitrantes sofrem danos irreversíveis.

O valor do IVG foi progressivamente reduzido desde 24 horas de secagem, no qual o conteúdo de água ainda era de 50% (Figura 2B). A entropia informacional aumentou em relação à testemunha, mas, para períodos mais longos de secagem, houve redução do valor dessa variável, principalmente devido à germinação total mais reduzida (Figura 2C). Os valores de tempo médio de germinação foram crescentes em função do tempo de secagem (Figura 2D). O comportamento foi similar quando os resultados foram expressos em função do conteúdo de água.

A perda de vigor das sementes de *E. pyriformis*, em função da redução do IVG (Figura 2B) e do aumento do tempo médio de germinação (Figura 2D), foi significativa. Mesmo secagens brandas causaram redução de vigor para as sementes de outras espécies de *Eugenia* (Kohama et al., 2006; Maluf et al., 2003). Geralmente ocorre redução de vigor bem antes da perda de viabilidade das sementes (Schmidt, 2000). Delgado (2006) realizou secagem das sementes de várias espécies de *Eugenia* e foi observada redução da porcentagem de germinação e de formação de plântulas normais, mas não se avaliou a redução de vigor.

A germinação acumulada mostrou grande diferença entre os tratamentos (Figura 3A), principalmente para os tempos de secagem mais longos que também retardaram o  $T_{50}$ . Para 185 e 256 horas de secagem, não foi alcançado o valor de 50% de germinação para o cálculo dessa variável (Figura 3B).

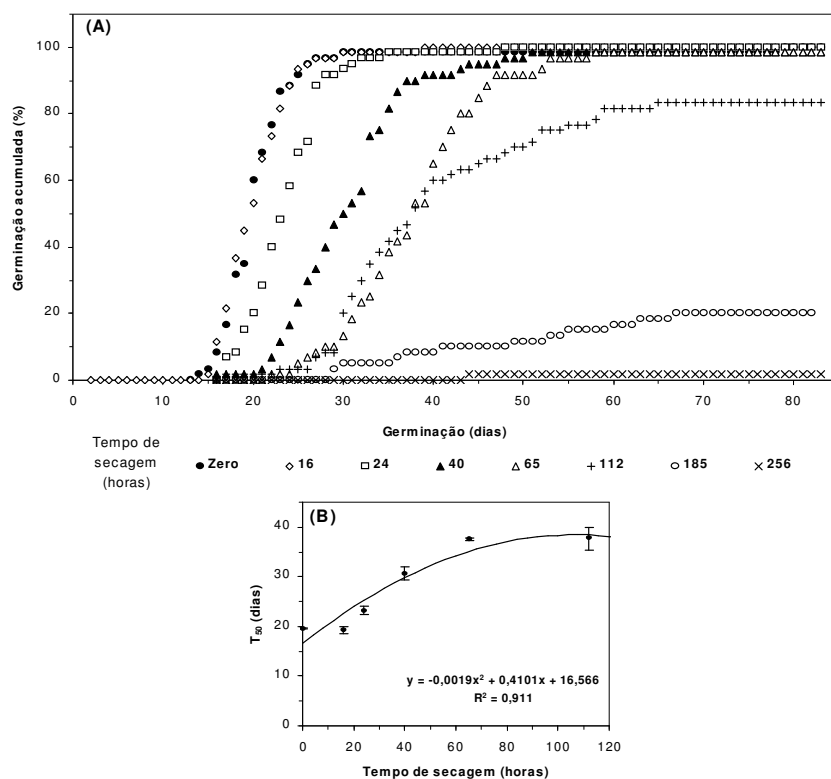


FIGURA 3. (A) Germinação acumulada de sementes de *E. pyriformis* Camb. submetidas a diferentes tempos de secagem a 35°C e 40% de UR e (B) tempo necessário para ocorrência de 50% de germinação ( $T_{50}$ ), em função do tempo de secagem das sementes. Na figura A, cada ponto corresponde ao somatório das três repetições do teste de germinação. Na figura B, cada ponto representa a média de três repetições, com a respectiva barra de erro padrão.

No segundo experimento, além do conteúdo de água, consideraram-se a velocidade e a temperatura de secagem como fontes de variação sobre o desempenho germinativo das sementes.

A massa das sementes variou entre as datas de coleta, sendo maiores para a coleta de 17 de outubro (Tabela 2). Em função dessa diferença, optou-se



por um delineamento em blocos, pois poderia haver diferença de secagem em função do tamanho das sementes. Segundo Daws et al., (2004), a variação da massa das sementes pode interferir na determinação do conteúdo crítico de água, pois sementes menores tendem a secar mais rapidamente. Andrade et al., (2003) avaliaram a massa de sementes individuais de *E. dysenterica* DC. e o conteúdo de água das mesmas e verificaram uma grande variação de ambos, mas não se estabeleceu uma relação de proporcionalidade entre essas variáveis.

TABELA 2. Massa média das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb e conteúdo inicial de água, de acordo com a data de coleta (outubro/2005).

Data de coleta (dia)	Massa de uma semente (g)	Conteúdo de água (%)
10	1,073 ± 0,010 *	52,49
17	1,418 ± 0,008	52,33
24	1,266 ± 0,006	49,78
31	1,279 ± 0,010	49,19

\* Média de 13 repetições por data de coleta e o respectivo erro padrão.

O conteúdo inicial de água foi ligeiramente menor para as coletas de 24 e 31 de outubro (Tabela 2), mas, essa diferença não afetou o padrão de secagem das sementes, pois a variação dentro de tratamentos foi reduzida (Figura 4A). Quanto menor a umidade relativa do ar (UR) nas condições de secagem (Tabela 1), mais baixo o conteúdo final de umidade das sementes (Figura 4B).

A velocidade de perda de umidade foi praticamente linear para as quatro condições de secagem. Foram ajustadas equações lineares a esses dados, para determinar a taxa de secagem em cada tratamento (Tabela 3). A taxa de perda de

umidade das sementes foi cerca do dobro na secagem com ventilação para as duas temperaturas e 6 vezes maior a 35°C.

O tempo de secagem foi bem mais curto neste experimento, mas observou-se uma relação não linear entre a perda de massa e o conteúdo umidade, do mesmo modo que no primeiro experimento (Figura 1C).

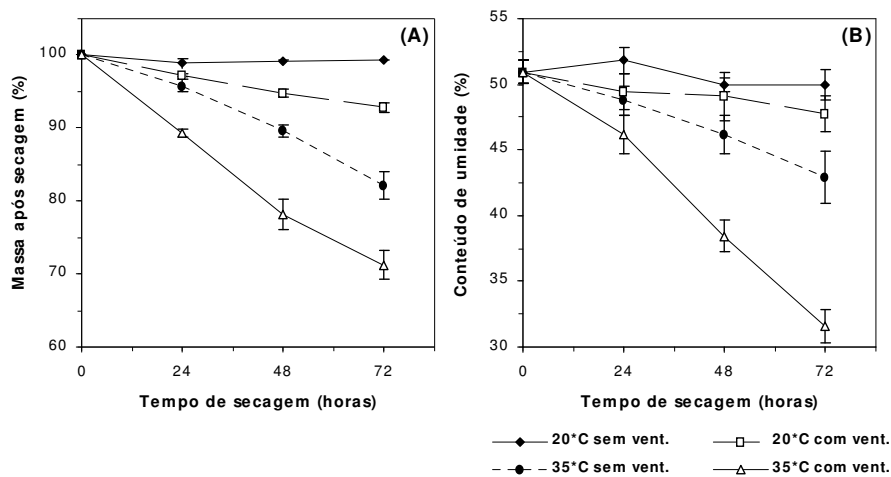


FIGURA 4. (A) Variação da massa e (B) do conteúdo de água das sementes de *E. pyriformis* Camb., em função do tempo de secagem em quatro condições de secagem. Cada ponto representa a média de quatro repetições com a respectiva barra de erro padrão.

Liang & Sun (2000) obtiveram diferentes taxas de secagem, manipulando a umidade relativa do ar para a secagem de eixos embrionários de *Theobroma cacao* L. (Sterculiaceae). Para essa espécie, a melhor condição de secagem foi obtida entre 88% e 91% de UR, a 16°C.

Maluf et al. (2003) realizaram secagem de sementes de *E. involucrata* em três temperaturas (30°C, 40°C e 50°C), observando diferentes taxas de secagem. Para um conteúdo de água entre 31% e 32%, a germinação reduziu-se

mais acentuadamente para a temperatura mais elevada, mas a diminuição de vigor foi mais ambígua. Kohama et al. (2006) também alertam para a elevada temperatura de secagem ( $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) para as sementes de *E. brasiliensis*. Finch-Savage (1992) realizaram a secagem de sementes inteiras e eixos embrionários de *Quercus robur* L. a  $20^{\circ}\text{C}$  e duas condições de UR, 30% e 80%, enquanto Liang & Sun (2000) compararam a secagem a  $16^{\circ}\text{C}$  e a  $25^{\circ}\text{C}$ , obtendo resultados similares em ambas as temperaturas e várias condições de UR.

TABELA 3. Regressões lineares obtidas a partir da secagem de sementes de *Eugenia pyriformis* Camb., em função do tempo.

Tratamento		Equação	R <sup>2</sup>	P
Temperatura (°C)	UR (%)			
20	100	$y = -0,0208x + 51,395$ §	0,5037	NS
20	60	$y = -0,0415x + 50,786$	0,9492	*
35	40	$y = -0,1116x + 51,203$	0,9918	*
35	20	$y = -0,2740x + 51,615$	0,9918	*

§ Em que: y = conteúdo de água (%) e x = tempo de secagem (horas),

\* Regressão linear significativa a 5% de probabilidade, NS = não significativo.

A germinação total foi pouco afetada para 24 horas de secagem e para os demais tempos a  $20^{\circ}\text{C}$  (Figura 5A), mas decresceu em função do tempo, principalmente para os tratamentos que perderam mais umidade a  $35^{\circ}\text{C}$  (Figura 7A).

O IVG diminuiu para todos os tratamentos de secagem em relação à testemunha (Figura 5B), mesmo para aqueles de secagem mais branda a  $20^{\circ}\text{C}$ . A

diminuição do IVG foi mais acentuada quanto maior a redução de umidade (Figura 7B).

A entropia informacional elevou-se para todos os tratamentos em relação à testemunha (Figura 5C), decrescendo novamente para as condições de secagem mais intensa, a 35°C, por tempos mais longos. Neste caso, os valores de entropia informacional foram afetados pela menor germinação para conteúdos de umidade mais baixos (Figura 7A e 7C).

O tempo médio de germinação elevou-se, para todos os tratamentos, em relação à testemunha (Figura 5D). O menor efeito foi observado para as sementes mantidas em ambiente úmido (20°C sem ventilação). Houve uma tendência de elevação do tempo médio de germinação em função do tempo de secagem. A perda de umidade durante a secagem resultou em uma germinação mais lenta (Figura 7A).

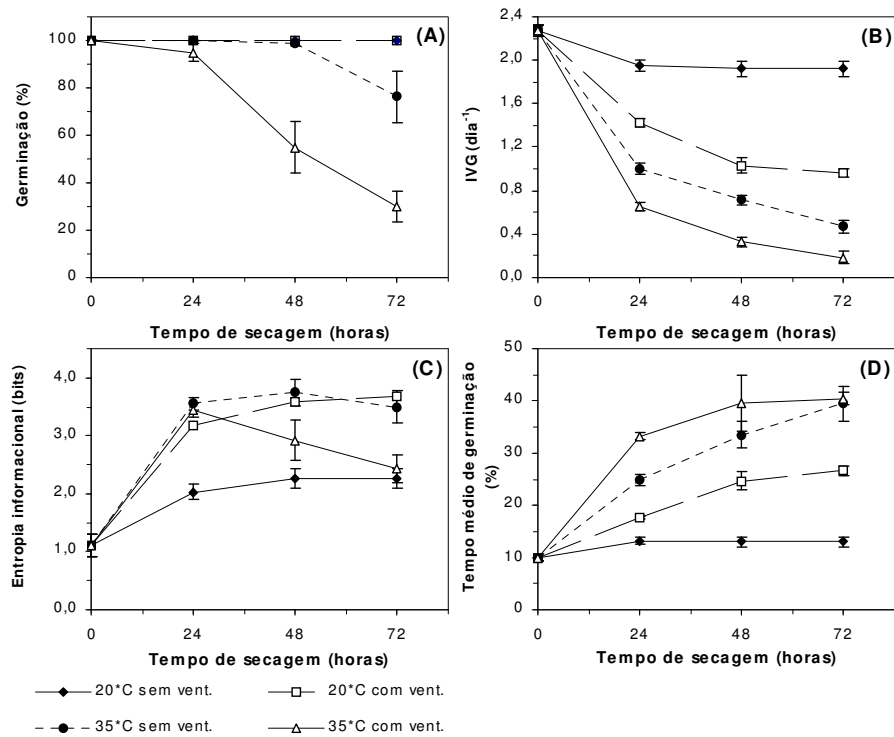


FIGURA 5. (A) Porcentagem de germinação aos 120 dias de embebição, (B) índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962), (C) entropia informacional da germinação (bits) e (D) tempo médio de germinação (dias) para sementes de *E. pyriformis* Camb. em função do tempo de secagem em quatro condições diferentes. Cada ponto representa a média de quatro repetições com a respectiva barra de erro padrão, exceto para o tratamento a 35°C com ventilação por 72 horas (3 repetições). Na figura 5A, as curvas de germinação a 20°C sobrepõe-se, atingindo 100% de germinação em todas as repetições para todos os tempos de secagem.

Ocorreu redução da emergência do epicótilo para os tratamentos de maior tempo de secagem a 35°C (Figura 6A). Houve, ainda, redução do IVE (Figura 6B). A variação da entropia informacional comportou-se diferentemente para cada tratamento (Figura 6C) e observou-se aumento do tempo médio de

emergência para todos os tratamentos em relação à testemunha (Figura 6D). Para as sementes mantidas em ambiente úmido (20°C sem ventilação), o efeito foi pouco relevante para a emergência total e o tempo médio de emergência (Figura 6A e 6D).

Em alguns trabalhos, o critério de germinação é a emergência do epicótilo (Andrade & Ferreira, 2000; Scaloni et al., 2004) e esta pode ser bastante retardada em relação à protrusão da radícula (Capítulo 5). Além disso, a temperatura parece também ter mais efeito sobre a emergência do que sobre a germinação de sementes de *E. pyriformis* (Capítulo 2).

Finch-Savage (1992) afirma que as células do meristema da raiz são as mais tolerantes à dessecação. Anatomicamente, este meristema está mais protegido do que o meristema do caule, devido à presença da coifa. No entanto, na semente, o ápice da raiz fica localizado mais próximo da superfície da semente (Beltratti & Paoli, 2003; Cutter, 1987; Fahn, 1982), talvez estando mais sujeito à dessecação.

A testa da semente pode ser de fundamental importância para retardar a perda de água (Esau, 1974), mas também pode ser bastante porosa, tendo em vista a perda de umidade observada durante a secagem das sementes de *E. pyriformis* (Figura 1A e 4B). Em Myrtaceae, a testa pode variar em espessura e textura (Barroso, 2002). Mesmo no gênero *Eugenia*, a espessura dela varia muito entre espécies (Van Wyk & Botha, 1984).

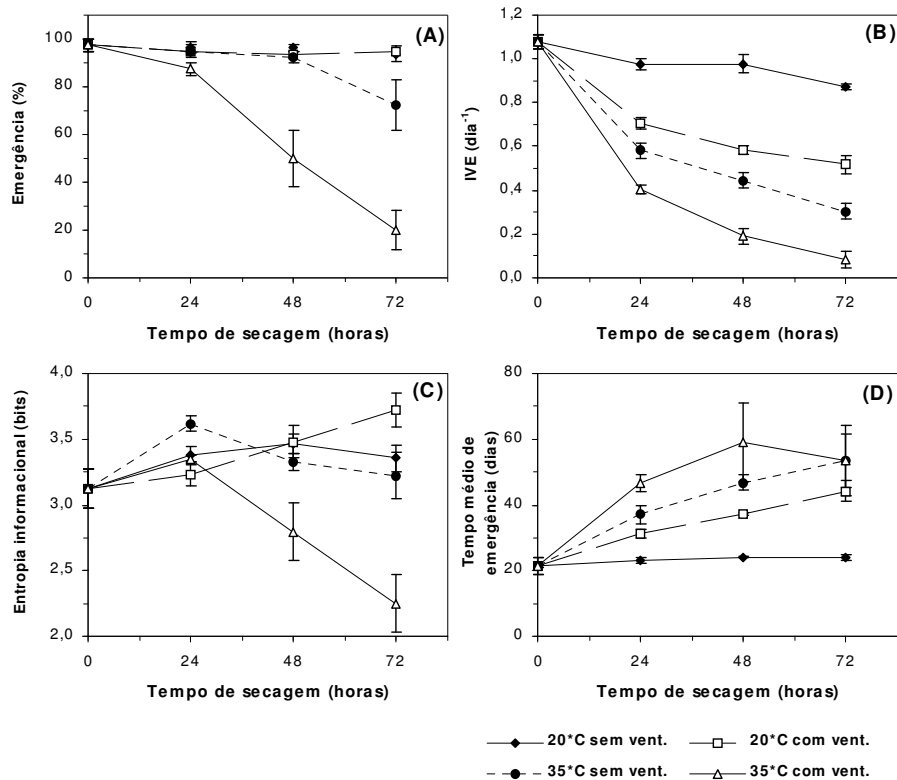


FIGURA 6. (A) Porcentagem de emergência, aos 120 dias de embebição, (B) índice de velocidade de emergência (IVE), segundo Maguire (1962), (C) entropia informacional da emergência (bits) e (D) tempo médio de emergência do epicótilo (dias) para sementes de *E. pyriformis* Camb., em função do tempo de secagem em quatro condições diferentes. Cada ponto representa a média de quatro repetições com a respectiva barra de erro padrão, exceto para o tratamento 35°C, com ventilação por 72 horas (três repetições).

As variações das porcentagens de germinação e de plântulas normais em função do teor de água foram similares, sendo que a segunda foi ligeiramente inferior à primeira para todos os conteúdos de água, independentemente do tratamento de secagem (Figura 7A). Pode-se supor a existência de uma pequena

proporção de sementes com mal-formações que germinaram, mas foram incapazes de apresentar alongamento do epicótilo.

O índice de velocidade de produção de plântulas (IVP) foi bem menor do que o IVG, para os mesmos conteúdos de umidade (Figura 7B). Aparentemente, houve maior perda de vigor da ponta da raiz em relação à secagem, pois a curva ajustada para o IVG declina acentuadamente, enquanto a redução do IVP é menos drástica em função da perda de água.

A entropia informacional variou de forma mais acentuada para a germinação (Figura 7C), com valores baixos para um elevado conteúdo de água, aumentando para os tratamentos de conteúdo intermediário e declinando à medida que se aproxima o conteúdo letal de água, o qual não foi atingindo no segundo experimento. Os valores de entropia foram bem menores para o desenvolvimento de plântulas e a amplitude de variação também foi pequena (Figura 7C).

Os tempos médios de germinação e de desenvolvimento de plântulas tiveram comportamento semelhante em relação à perda de umidade (Figura 7D) e foram afetados de modo similar pela secagem.

A perda de viabilidade é bem representada pelas curvas de porcentagem de germinação e de produção de plântulas (Figura 7A). O índice de velocidade e a entropia informacional parecem ser mais sensíveis à variação do vigor das sementes, principalmente para a germinação (Figura 7B e 7C). Por outro lado, o tempo médio é um bom indicador da perda de vigor até 43% de umidade, mas declina para perdas de umidade maiores devido à perda de viabilidade (Figura 7D).

Na comparação entre os dois experimentos, verifica-se que a curva de perda de viabilidade é sigmoideal nos dois casos (Figura 2A e 7A). Essa curva é similar à observada para *E. dysenterica* (Andrade et al., 2003). Em alguns casos, a taxa de secagem é indiferente (Andrade et al., 2003; Bonner, 1996; Connor et



al., 1998), embora outros autores tenham obtido sucesso com a secagem mais rápida, principalmente para eixos embrionários isolados (Berjak et al., 1990; 1992; Pammenter et al., 1998), mas nem sempre os eixos embrionários isolados reagem da mesma maneira que as sementes inteiras (Bonner, 1996).

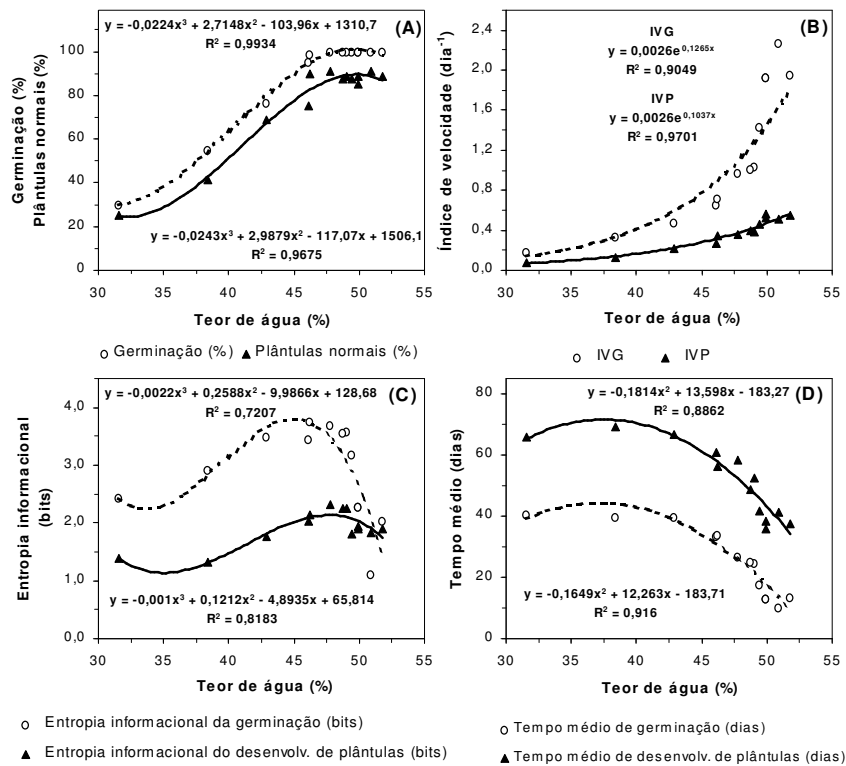


FIGURA 7. Relação entre o conteúdo de água e as características da germinação de sementes e do desenvolvimento inicial de plântulas de *E. pyriformis* Camb. submetidas a secagem sob quatro condições diferentes. Cada ponto representa a média de quatro repetições, exceto para 35°C com ventilação por 72 horas (3 repetições).

Para o primeiro experimento, não houve diferença em relação à germinação inicial para um conteúdo de água de 47,3%. No segundo

experimento, a germinação não diferiu da inicial para 46,2% de umidade, mas ocorreu redução significativa para 42,4%. Portanto, pode-se dizer que o conteúdo crítico de água das sementes de *E. pyriformis* encontra-se entre 42% e 46% de umidade.

Delgado (2006) avaliou a germinação de sementes de *E. pyriformis* em função do potencial hídrico das mesmas e obteve uma relação polinomial de segunda ordem ( $y = 0,034 x^2 - 3,56 x + 93$ ). Estabeleceu-se, ainda, uma relação não linear entre o potencial hídrico e o conteúdo de água das sementes de várias espécies de *Eugenia* expresso em porcentagem ( $y = 94,792 x^{-0,4575}$ ). A partir dos dados dessa autora, foi possível deduzir duas equações que relacionam o teor de água com a germinação e plântulas normais:

$$y = 0,0011x^3 - 0,1848 x^2 + 10,759 x - 132,42 \quad (3)$$

$$z = 0,0010 x^3 - 0,1736 x^2 + 10,142 x - 127,25 \quad (4)$$

em que:

$x$  = conteúdo de água (%),  $y$  = germinação (%) e  $z$  = plântulas normais (%).

O comportamento das curvas obtidas a partir das equações 3 e 4 é muito similar aos resultados apresentados na figura 7A, no entanto, as sementes utilizadas por Delgado (2006) tinham um conteúdo inicial de água bem mais alto (68%) e a germinação não atingiu 100%.

Ao menos teoricamente, esse tipo de equação torna possível prever o potencial germinativo de um lote de sementes de *E. pyriformis* a partir da determinação do seu conteúdo de água, o qual pode ser avaliado dentro de 24 horas, enquanto um teste de germinação pode demorar de 80 a 100 dias e, nesse prazo, as sementes podem perder o poder germinativo (Capítulo 5).

O conteúdo letal de água observado durante o primeiro experimento foi inferior a 20% (Figura 2A), mas não foi atingido no segundo (Figura 7A). Pela equação (3), o valor calculado é de 15,8%. Andrade & Ferreira (2000) utilizaram sementes de *E. pyriformis* com menor conteúdo inicial de água (38,6%), as quais

perderam a umidade e a viabilidade durante o armazenamento, atingindo emergência nula após 45 dias num conteúdo de água de 14%, o qual está próximo do limite letal calculado.

Delgado (2006) afirma que o nível letal de água das sementes para *E. pyriformis* é de 39,8%, mas, provavelmente, essa autora utilizou sementes imaturas para o teste de dessecação, pois as mesmas apresentavam elevado grau de umidade inicial (66,8%). Geralmente, as sementes imaturas são mais sensíveis à dessecação, conforme observado para os eixos embrionários das sementes de *Ekebergia capensis* Sparrm. (Meliaceae) (Perán et al., 2004). Durante o desenvolvimento de sementes recalcitrantes, o acúmulo de reservas é simultâneo ao aumento da tolerância à dessecação e à redução do conteúdo de água dentro de certos limites, mesmo que as sementes não se tornem completamente tolerantes à dessecação; por outro lado, sementes ortodoxas imaturas são intolerantes à dessecação. Em *Acer pseudoplatanus* L. (Aceraceae), cujas sementes são recalcitrantes, a máxima tolerância à dessecação é atingida pouco antes da dispersão (Bewley & Black, 1994; Farrant et al., 1997; Kermode & Finch-Savage, 2002).

O limite calculado (15,8%) é similar ao observado para outras espécies com sementes recalcitrantes, tais como 18% a 20% para *Hevea brasiliensis*, 15% a 20% para *Hopea odorata* Roxb. (Dipterocarpaceae), acima de 15% para *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae) e 21% para *Myrciaria cauliflora* Berg. (Myrtaceae) (Chin et al., 1981; Corbineau & Come, 1988; Oliveira & Valio, 1992; Valio & Ferreira, 1992). Para espécies do gênero *Eugenia*, o nível letal variou entre espécies, coletas, métodos de secagem e biótipos, com valores de 10% para *E. uniflora*, 18% a 20% para *E. dysenterica* e 34% para *E. brasiliensis*, entre outras (Andrade et al., 2003; Barbedo et al., 1998; Delgado, 2006; Kohama et al., 2006; Maluf et al., 2003).

As sementes de *E. pyriformis* são relativamente grandes (Tabela 2) e a secagem de sementes inteiras foi relativamente lenta, em comparação com outros estudos (Berjak et al., 1992; Finch-Savage, 1992; Pammenter et al., 1998). Segundo esses e outros autores, formam-se radicais livres durante a secagem, causando estresse oxidativo, devido à diminuição da atividade dos sistemas de defesa antioxidante (Hendry et al., 1992; Greggains et al., 2001; Nkang et al., 2003; Tommasi et al., 1999).

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a secagem de sementes de *E. pyriformis* prejudicou sua qualidade fisiológica. O conteúdo crítico de água está entre 42% e 46% e o limite letal foi calculado em 15,8%. Houve dano em todas as velocidades de secagem utilizadas. A germinação e o desenvolvimento do epicótilo foram afetados da mesma maneira pela secagem, rejeitando-se a hipótese de maior sensibilidade do meristema apical do caule.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.

ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. F. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

- ANJOS, A. M. G.; FERRAZ, I. D. K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 29, n. 3, p. 337-348, set. 1999.
- BAPTISTA de CARVALHO, P. G.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature- dependent germination and endo- $\alpha$ -mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, ago. 2001.
- BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. especial, p. 121-125, 1998.
- BARBEDO, C. J.; KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C. Germinação e armazenamento de diásporos de cerejeira (*Eugenia involucrata* DC. - Myrtaceae) em função do teor de água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 184-188, 1998.
- BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. 2. ed. Viçosa: Imprensa da Universidade Federal de Viçosa, 2002. v. 2, 377 p.
- BAPTISTA de CARVALHO, P. G.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature- dependent germination and endo- $\beta$ -mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, dez. 2001.
- BELTRATI, C. M.; PAOLI, A. A. S. Semente. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Ed.). **Anatomia vegetal**. Viçosa: UFV, 2003. p. 399-424.
- BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; MACAQUE, D. J.; PAMMENTER, N. W. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: the enigma of their desiccation-sensitivity. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 2, p. 297-310, 1990.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Recalcitrant is not an all-or-nothing situation. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 3, p. 263-264, Sept. 1994.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Recalcitrant seeds. In: ARNOLD, R. L.; SANCHEZ, R. A. (Ed.). **Handbook of seed physiology: applications to agriculture**. New York: Harworth Reference Press, 2002. p. 305-345.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. Homoiohydrous (recalcitrant) seeds: Developmental status, desiccation sensitivity and the state of water in axes of *Landolphia kirkii* Dyer. **Planta**, Berlin, v. 186, n. 2, p. 249-261, June 1992.
- BERJAK, P.; VERTUCCI, C. W.; PAMMENTER, N. W. Effect of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and

- desiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia sinensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 155-166, June 1993.
- BERTANI, D. F.; RODRIGUES, R. R.; BATISTA, J. L. F.; SHEPHERD, G. J. Análise temporal da heterogeneidade florística e estrutural em uma floresta ribeirinha. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 11-23, mar. 2001.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BONNER, F. T. Responses to drying of recalcitrant seeds of *Quercus nigra* L. **Annals of Botany**, London, v. 78, n. 2, p. 181-187, Aug. 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BULOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 961-970, jun. 1994.
- CHIN, H. F.; AZIZ, M.; ANG, B. B.; HAMZAH, S. The effect of moisture content and temperature on the ultrastructure and viability of *Hevea brasiliensis*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 9, n. 2, p. 411-422, 1981.
- CONNOR, K. F.; KOSSMANN, I. D.; BONNER, F. T.; VOZZO, J. A. Effects of desiccation on the recalcitrant seed of *Carapa guianensis* Aubl. and *C. procera* DC. **Seed Technology**, v. 20, p. 71-82. 1998. Disponível em: <<http://www.treeseearch.fs.fed.us/pubs/87>>. Acesso em: 15 set. 2006.
- CORBINEAU, F.; CÔME, D. Storage of recalcitrant seeds of four tropical species. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 16, n. 1, p. 97-103, 1988.
- CUTTER, E. **Anatomia vegetal**. 2. ed. São Paulo: Roca. 1987. pt. 2, 336 p.
- DAWS, M. I.; GAMENÉ, C. S.; GLIDEWELL, S. M.; PRITCHARD, H. W. Seed mass variation potentially masks a single critical water content in recalcitrant seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 185-195, June 2004.
- DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de Eugenia**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica, São Paulo. Disponível em: <<http://www.ibot.sp.gov.br/teses/liliana2006.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2006.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo: Edgard Blucher, 1974. 293 p.
- FAHN, A. **Anatomia vegetal**. 3. Madrid: Piramide, 1982. 599 p.

- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Germination associated events and the desiccation-sensitivity of recalcitrant seeds – a study on three unrelated species. **Planta**, Berlin, v. 178, n. 2, p. 188-198, May 1989.
- FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; WALTERS, C. Subcellular organization and metabolic activity during the development of seeds that attain different levels of desiccation tolerance. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 135-144, June 1997.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistema de análise de variância para dados balanceados. Versão 4. 6. Lavras: UFLA. 2003.
- FINCH-SAVAGE, W. E. Embryo water status and survival in the recalcitrant species *Quercus robur* L: Evidence for a critical moisture content. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 250, p. 663-669, May 1992.
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JÚNIOR, A. Fenologia da floração e maturação dos frutos da uvalheira (*Eugenia pyriformis* Camb.), em Pelotas, RS. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1., 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas, RS: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 397-402. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 123). Disponível em: <www.cpact.embrapa.br>. Acesso em: 10 dez. 2005.
- GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W. E.; ATHERTON, N. M.; BERJAK, P. Viability loss and free radical processes during desiccation of the recalcitrant *Avicennia marina* seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 231-242, Sept. 2001.
- GUIMARÃES, R. M. **Tolerância a dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade federal de Lavras, Lavras, MG.
- HENDRY, G. A. F.; THORPE, P. C.; ATHERTON, N. M.; BUCKLAND, S. M.; NILSSON, K. A.; SEEL, W. E. Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. **New Phytologist**, Oxford, v. 122, n. 2, p. 273-279, Oct. 1992.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Storage. Pp. 125-138. In: J. A. VOZZO (Ed.). **Tropical tree seed manual**. United States: Department of Agriculture Forest Service, 2003. Disponível em: <http://www.rngr.net/publications/ttsm/ch3.> Acesso em: 04 ago. 2004.
- JUDD, W.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer Associates, 2002. 576 p.

- KERMODE, A. R.; FINCH-SAVAGE, B. E. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 149-184.
- KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Organização dos Estados americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. 174 p. (Série Biologia, Monografia, 24).
- LEAL, M. A. G. **Fórum do Atelier do Bonsai**. 2005. Disponível em: <<http://www.ateliodobonsai.com.br/forum/viewtopic.php?t=355&start=0&postdays=0&postorder=asc&highlight=>>. Acesso em: 14 jan. 2006.
- LIANG, Y.; SUN, W. Q. Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes: the optimal drying rate and its physiological basis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, n. 352, p. 1911-1919, Nov. 2000.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 2v.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination- aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, maio/jun. 2003.
- NASCIMENTO, A. R. T.; LONGHI, S. J.; BRENA, D. A. Estrutura e padrões de distribuição espacial de espécies arbóreas em uma amostra de floresta ombrófila mista em Nova Prata-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 105-119, jun. 2001.
- NEVES, C. S. V. J. Sementes recalcitrantes. Revisão de literatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 459-467, set. 1994.
- NKANG, A.; OMOKARO, D.; EGBE A.; AMANKE, G. Variations in fatty acid proportions during desiccation of *Telfairia occidentalis* seeds harvested at physiological and agronomic maturity. **African Journal of Biotechnology**, Abuja, v. 2, n. 2, p. 33-39, 2003.



OLIVEIRA, L. M.; VALIO, I. F. M. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 69, p. 1-5, 1992.

PAMMENTER, N. W.; FARRANT, J. M.; BERJAK, P. Recalcitrant seeds: short-term storage effects in *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. may be germination-associated. **Annals of Botany**, London, v. 54, n. 6, p. 843-846, 1984.

PAMMENTER, N. W.; GREGAINS, V.; KIOKO, J. I.; WESLEY-SMITH, J.; BERJAK, P.; FINCH-SAVAGE, W. E. Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds of *Eckebergia capensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 4, p. 463-471, Dec. 1998.

PAMMENTER, N. W.; VERTUCCI, C. W.; BERJAK, P. Homeohydrous (recalcitrant) seeds: dehydration, the state of water and viability characteristics in *Landorpha kirkii*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 4, p. 1093-1098, Aug. 1991.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; WESLEY-SMITH, J.; WILLIGEN, C.V. Experimental aspects of drying and recovery. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 93-110.

PERÁN, R.; PAMMENTER, N. W.; NAICKER, J.; BERJAK, P. The influence of rehydration technique on the response of recalcitrant seed embryos to desiccation. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 179-184, Aug. 2004.

PRITCHARD, H. W.; MANGER, K. R. A calorimetric perspective on desiccation stress during preservation procedures with recalcitrant seeds of *Quercus robur* L. **Cryo-Letters**, London, v. 19, p. 23-30, 1998. Supplement, 1.

PRITCHARD, H. W. Water potential and embryonic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra*. **Annals of Botany**, London, v. 67, n. 1, p. 43-49, Jan. 1991.

PRITCHARD, H. W.; PRENDERGAST, F. G. Effects of desiccation and cryopreservation on the in vitro viability of embryos of the recalcitrant seeds of *Araucaria huestinii* K. Schum. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 37, n. 182, p. 1388-1397, Sept. 1986.

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

RONDON NETO, R. M.; WATZLAWICK, L. F.; CALDEIRA, M. V. W.; SCHOENINGER, E. R. Análise florística e estrutural de um fragmento de

floresta ombrófila mista Montana, situado em Criúva-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 29-37, jun. 2002.

SCALON, S.; SCALON FILHO, H.; RIGONI, M. R. Armazenamento e germinação de sementes de uvaia *Eugenia uvalha* Cambess. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1228-1234, nov./dez. 2004.

SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Denmark, Danida Forest Seed Centre, 2000. 511 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer, 1998. 792 p.

THOMSEN, K. **Handling of desiccation and temperature sensitive tree seeds**. Denmark, Danida: Forest Seed Centre, 2000. 30 p. (DFSC Series of Technical notes. TN 56).

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; ARRIGONI, O. The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 105, n. 2, p. 193-198, Feb. 1999.

VALIO, I. F. M.; FERREIRA, Z. de L. Germination of seeds of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 4, n. 2, p. 95-98, 1992.

VAN WYK, A. E.; BOTHA, R. The genus *Eugenia* (Myrtaceae) in southern Africa: Ontogeny and taxonomic value of the seed. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 3, n. 1, p. 63-80, 1984.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIEGEL, J.; G. GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 237-271.

VON TEICHMAN, I.; VAN WYK, A. E. Structural aspects and trends in the evolution of recalcitrant seed in dicotyledons. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 3, p. 225-239, Sept. 1991.

WALTERS, C.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; CRANE, J. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 2, p. 135-148, June 2001.

## **CAPÍTULO VII**

### **EFEITO DO CÁLCIO E DO MAGNÉSIO SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES ENVELHECIDAS DE *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae)**

## 1 RESUMO

JUSTO, Cristina Filomena. Efeito do cálcio e do magnésio sobre a germinação de sementes envelhecidas de *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae). In:\_\_\_\_\_. **Aspectos fisiológicos e anatômicos das sementes e do desenvolvimento inicial de *Eugenia pyriformis* Camb.** 2006, Cap. 7, p. 207-225. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie arbórea nativa da Mata Atlântica. A longevidade de suas sementes é curta. Este trabalho teve o objetivo de avaliar a germinação de sementes de *E. pyriformis* submetidas a tratamento com soluções de sais contendo cálcio e ou magnésio. Coletaram-se sementes de matrizes localizadas em Lavras, MG. Amostras de sementes foram armazenadas durante 135 e 180 dias, a 10°C, em embalagens plásticas de polietileno. Avaliou-se a germinação de sementes embebidas em soluções contendo cálcio e ou magnésio em baixas concentrações, em comparação com controles embebidos em água destilada. A germinação foi conduzida em rolo de papel Germitest®, em câmara de germinação do tipo Mangelsdorff, a 25°C, no escuro. A porcentagem de germinação não diferiu do controle para 135 dias e foi mais elevada para sementes tratadas com as soluções para 180 dias de armazenamento. O índice de velocidade de germinação (IVG) também mostrou diferença para 180 dias. A entropia informacional foi menor para 180 dias. O tempo médio de germinação não diferiu entre os tratamentos e entre os tempos de armazenamento. O desenvolvimento das plântulas foi normal.

---

\* Comitê orientador: Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (orientador).

## 2 ABSTRACT

JUSTO, Cristina Filomena. Effect of calcium and magnesium on germination of old seeds of *Eugenia pyriformis* Camb. (Myrtaceae). In:\_\_\_\_\_. **Physiological and anatomical aspects of seeds and initial development of *Eugenia pyriformis* Camb. seedlings.** 2006, Chap. 7, p. 207-225. Thesis (Doctoral degree in Plant Physiology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. \*

*Eugenia pyriformis* Camb. is a native tree from Atlantic Forest in Brazil,. Seed longevity is short. The objective of this work was to evaluate seed germination in calcium and magnesium solutions. Seeds were collected at Lavras, MG (21°13'40"S and 44°57'50"W GRW). Seed samples were stored for 135 and 180 days at 10°C in plastic bags. Seeds were exposed to low concentration solutions of calcium and magnesium in comparison with controls imbibed in distilled water. The germination test was carried out in paper roll at 25°C in dark. Germinability did not differed between control and treated seeds for 135 days of storage and was higher for treated seeds for 180 days. Germination velocity index (GVI) also show difference between control and treated seed for 180 days. Informational entropy was lower for 180 days. Average germination time had no difference among treatments and among storage times. Seedling development was normal.

---

\* Guidance Committee: Dr. Amauri Alves de Alvarenga – UFLA (Adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

*Eugenia pyriformis* Camb. é uma espécie de Myrtaceae, conhecida popularmente como uvaia, ubaia, uvalha. Seus frutos saborosos têm coloração amarela ou alaranjada e podem ser consumidos *in natura* ou utilizados para fazer sucos, sorvetes, geléias e doces. A espécie ocorre nos remanescentes de Mata Atlântica desde São Paulo ao Rio Grande do Sul, sendo indicada para reflorestamento e como atrativo de fauna. Além do potencial alimentício, há relatos de uso medicinal da espécie (Andrade & Ferreira, 2000; Bertani et al., 2001; Franzon et al., 2004; Nascimento et al., 2001; Lorenzi, 2002; Rondon Neto et al., 2002; Schmeda-Hirschmann et al., 1987; Theodoluz et al., 1988).

Várias espécies do gênero *Eugenia* têm sementes sensíveis à dessecação e de curta longevidade (Andrade et al., 2003; Anjos & Ferraz, 1999; Bulow et al., 1994; Delgado, 2006; Kohama et al., 2006; Maluf et al., 2003). Tais sementes são denominadas “recalcitrantes”, pois não toleram as condições de armazenamento recomendadas para as sementes ortodoxas, ou seja, baixa umidade e baixa temperatura (Barbedo & Bilia, 1998; Neves, 1994; Roberts, 1973).

Diferentes métodos de armazenamento têm sido estudados, no entanto, parece não ser suficiente apenas manter a umidade inicial das sementes durante o armazenamento (Farrant et al., 1986). A técnica de criopreservação tem sido aplicada a embriões zigóticos com variável sucesso para diferentes espécies, tais como *Hevea brasiliensis* (Willd.) Muell. Arg. (Euphorbiaceae), *Euphorbia longan* (Stend) (Euphorbiaceae), *Cocos nucifera* L. (Arecaceae), *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) e *Camellia japonica* L. (Theaceae) (Assy-Bah & Engelmann, 1992; Chandel et al., 1995; Fu et al., 1990; Janeiro et al., 1996; Normah et al., 1986).

Berjak et al. (2000) compararam diferentes protocolos de criopreservação, tendo observado que a recuperação de eixos embrionários de *Quercus robur* L. (Fagaceae) após descongelamento era mais bem sucedida quando realizada em soluções contendo cálcio e magnésio. Resultados similares foram observados durante a reidratação de eixos embrionários dessecados de *Trichilia dregeana* Sond. (Meliaceae) (Berjak & Mycock, 2004).

O cálcio é um íon que participa de inúmeros processos na planta, estando envolvido em quase todos os aspectos do desenvolvimento vegetal. Ele desempenha um papel fundamental para a rigidez da parede celular e para a permeabilidade da membrana plasmática (Hepler, 2005). Foi demonstrado que uma baixa concentração de cálcio resulta em lixiviação de íons e metabólitos. Uma concentração exógena entre 0,1 e 1,0 mM é necessária para manter a integridade e a seletividade da membrana plasmática (Epstein, 1961; Hanson, 1960; Van Steveninck, 1965). Uma baixa concentração intracelular de cálcio foi observada em sementes sensíveis à dessecação (Farnsworth, 2000).

Entre outros efeitos, o cálcio aumenta a formação de brotos, flores e raízes em cultivos *in vitro* na ausência de fitorreguladores (Capitani & Altamura, 2004), reverte parcialmente os efeitos do estresse salino provocado pelo cloreto de sódio (NaCl) em raízes (Katsumura & Kawasaki, 1996), retarda a senescência foliar (Poovaiah & Leopold, 1973) e tem efeito protetor em condições de anoxia (Dantas et al., 2001; Dantas, 2002). A concentração de cálcio intracelular é estritamente regulada e pode ser inferior a 1,0  $\mu\text{M}$ . Sua elevação pode ter diferentes efeitos, como, por exemplo, o fechamento estomático e a ativação de diversas quinases (Hepler, 2005). O complexo cálcio-calmodulina regula vários processos metabólicos por indução hormonal ou ambiental (Aurisano et al., 1995; Sousa & Sodek, 2002). Soluções de cloreto de cálcio têm sido usadas para o tratamento de sementes ortodoxas de baixo vigor (Dantas, 2002).

O cálcio é reconhecido como mensageiro secundário na sinalização intracelular. O magnésio, por outro lado, é ativador de enzimas envolvidas na respiração, na fotossíntese e na síntese de DNA e RNA, além de fazer parte da estrutura da clorofila. O magnésio é um íon mais móvel do que o cálcio, sendo translocado através do floema (Taiz & Zeiger, 1998). O magnésio também é divalente, mas não substitui o cálcio em várias de suas funções (Epstein, 1961; Hanson, 1960; Van Steveninck, 1965).

A secagem de sementes recalcitrantes afeta a integridade do DNA, a síntese de proteínas, a estrutura das membranas e organelas quando a umidade reduz-se abaixo de limiares críticos que variam entre as espécies (Farnsworth, 2000). Supondo que processos similares de dano ocorrem durante a dessecação, a criopreservação e o armazenamento de sementes e que os mesmos podem ser recuperados durante a reidratação em presença de cálcio e magnésio, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de soluções contendo cálcio e magnésio sobre a germinação de sementes envelhecidas de *E. pyriformis*.

#### **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Sementes de uvaia foram obtidas de três matrizes adjacentes localizadas na zona urbana de Lavras, MG (21°13'40"S e 44°57'50"W GRW). A identificação das plantas foi realizada por comparação com amostras depositadas no Herbário ESAL da Universidade Federal de Lavras, uma exsicata com depositada no referido herbário, sob número de registro 20468.

As sementes foram coletadas em três datas: 17, 24 e 31 de outubro de 2005. A polpa dos frutos foi removida sob água corrente e o excesso de água foi removido com papel toalha. Sementes visivelmente chochas foram eliminadas.



O conteúdo inicial de água das sementes foi determinado pelo método da estufa a  $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas, adaptado de Brasil (1992), utilizando-se 4 subamostras de 5 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem, base úmida.

Antes do armazenamento, as sementes foram tratadas com o fungicida Captan® em pó (250 mg por 100 g de semente). As sementes foram envolvidas em papel Germitest® limpo e seco, acondicionadas em embalagens plásticas de polietileno para alimentos e armazenadas em geladeira a  $10\pm 2^{\circ}\text{C}$  e 48% de umidade relativa (UR), durante 135 e 180 dias.

Ao final de cada tempo de armazenamento, foram tomadas subamostras para a determinação do teor de água, conforme descrito.

As sementes foram lavadas em água corrente para a remoção de resíduos de Captan e, a seguir, submetidas à assepsia, com a imersão em solução de hipoclorito de sódio comercial diluído com água destilada (1:1) por 3 minutos, sendo lavadas cinco vezes em água destilada e imersas em suspensão do fungicida Derosal® ( $1,0\text{ g.L}^{-1}$ ) durante 30 minutos, antes de serem distribuídas sobre papel Germitest®. O fungicida foi diluído nas soluções de tratamento, descritas a seguir.

Os testes de germinação foram conduzidos em rolo de papel a  $25^{\circ}\text{C}$ , com 20 sementes em cada rolo de papel e 3 repetições por tempo de armazenamento, sendo uma para cada data de coleta. Os rolos foram mantidos na posição vertical em béqueres com uma lâmina de água ou de solução no fundo, cobertos com saco plástico transparente preso com elástico e mantidos em câmara de germinação tipo Mangelsdorff (marca De Leo), a  $25^{\circ}\text{C}$ , no escuro.

No tratamento controle, o papel de germinação foi umedecido com água destilada, na razão de 2,5 vezes o seu peso seco. Para os demais tratamentos, prepararam-se soluções de sais de cálcio e magnésio em concentrações cujo efeito osmótico é insignificante (Sun, 2002). Tais concentrações foram

adaptadas do estudo de Berjak & Mycock (2004) com eixos embrionários isolados. As soluções foram as seguintes:

- a)  $\text{CaCl}_2$  na concentração de  $111 \text{ mg.L}^{-1}$  (1,0 mM);
- b)  $\text{MgCl}_2$  na concentração de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  (1,0 mM);
- c)  $\text{MgCl}_2 + \text{CaCl}_2$  respectivamente nas concentrações de  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  (1,0 mM) e de  $56 \text{ mg.L}^{-1}$  (0,5 mM);
- d)  $\text{CaSO}_4$  na concentração de  $17 \text{ mg.L}^{-1}$  (0,1 mM);

As sementes foram observadas a cada dois dias, até a protrusão de 2,0 mm de radícula e mantidas nos rolos para acompanhar a emergência do epicótilo e o desenvolvimento de plântulas normais (3,0 cm de raiz e 1,0 cm de parte aérea com primórdios foliares visíveis). Calcularam-se a porcentagem total de germinação aos 90 dias e o índice de velocidade de germinação (IVG) segundo Maguire (1962). Obtiveram-se, ainda, o tempo médio de germinação (Baptista de Carvalho et al., 2001) e a entropia informacional (Labouriau, 1983). Os mesmos cálculos foram realizados para plântulas normais aos 120 dias.

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, considerando uma data de coleta para cada bloco, constituindo um esquema fatorial com dois tempos de armazenamento e cinco tratamentos com diferentes soluções (2x5). A análise dos dados foi realizada pelo software Sisvar e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Ferreira, 2003).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conteúdo inicial de água das sementes antes do armazenamento variou entre 49% e 52,0% e não diferiu das sementes de outras safras obtidas a partir das mesmas matrizes em outras coletas (Capítulos 2 a 6). A massa média das sementes utilizadas neste experimento foi de  $1,21 \pm 0,11$  g.

Durante o armazenamento, o grau de umidade das sementes reduziu-se ligeiramente para o primeiro período considerado e diminuiu de modo mais acentuado para 180 dias de armazenamento (Tabela 1), mantendo-se acima do limite letal para a espécie (Capítulo 6), no entanto, o estudo para a determinação desse limite foi realizado com sementes recém-colhidas. Farrant et al. (1986) e Tompsett & Pritchard (1998) observam que ocorre aumento da sensibilidade à dessecação durante o armazenamento, devido a eventos relacionados com a germinação. Provavelmente, o nível de danos foi mais elevado para as sementes mais velhas.

TABELA 1. Teor de água (%) das sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. após diferentes períodos de armazenamento em geladeira, a 10°C, em embalagens plásticas. Coleta em outubro de 2005.

Data de coleta	Período de armazenamento (dias)	
	135	180
17	43,9	32,7
24	49,6	41,9
31	46,8	37,2

A porcentagem de germinação foi pouco afetada pelos tratamentos com soluções de sais para 135 dias de armazenamento. Houve diferença significativa

entre o controle e as soluções de cálcio e magnésio para 180 dias, mas não foi possível estabelecer qual a melhor solução para embeber sementes de baixo vigor de *E. pyriformis* (Figura 1A).

O valor do IVG não diferiu entre os tratamentos para 135 dias de armazenamento, mas observou-se diferença significativa entre o controle e as soluções de cálcio e magnésio para 180 dias (Figura 1B).

Não ocorreu diferença de entropia informacional para 135 dias de armazenamento. O valor dessa variável foi reduzido, para o controle, após 180 dias de armazenamento (Figura 1C).

Os valores de tempo médio de germinação variaram entre 26 e 36 dias, mas não diferiram entre tratamentos e entre tempos de armazenamento, devido às variações entre as datas de coleta (Figura 1D).

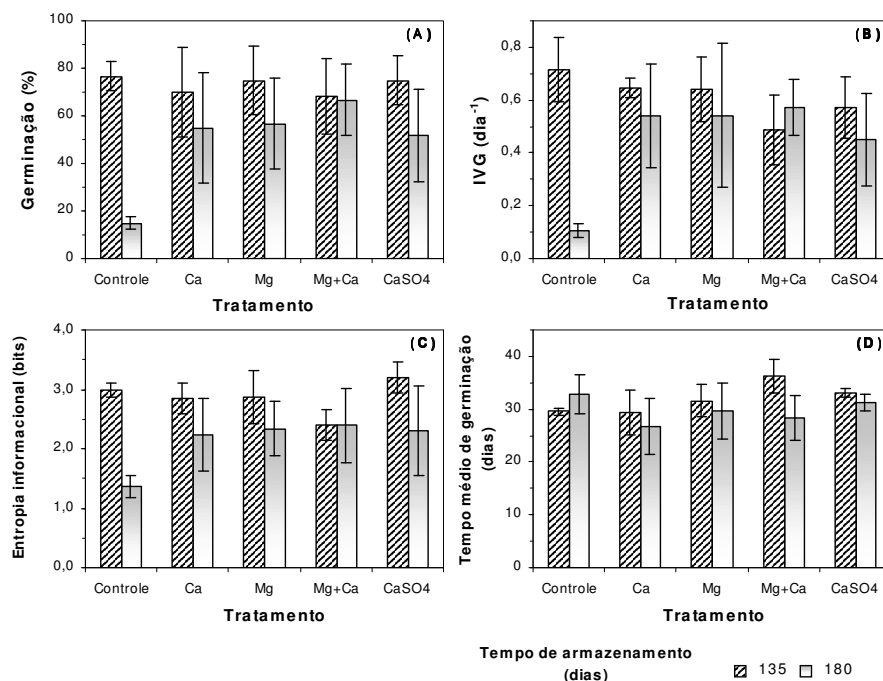


FIGURA 1. (A) Porcentagem de germinação aos 90 dias de embebição, (B) índice de velocidade de germinação (IVG), segundo Maguire (1962), (C) entropia informacional da germinação (bits) e (D) tempo médio de germinação (dias) para sementes de *E. pyriformis* Camb. em função do tempo de armazenamento a 10°C em embalagens plásticas e do tratamento com soluções de cálcio e magnésio. Cada coluna representa a média de três repetições com a respectiva barra de erro padrão.

O desenvolvimento de plântulas normais foi ligeiramente inferior à porcentagem de germinação, independentemente do tratamento, com a diferença média variando entre 3% e 18%. Observou-se uma relação linear entre a porcentagem de germinação e de plântulas normais para os dois tempos de armazenamento, independente do tratamento com as soluções de sais de cálcio e magnésio (Figura 2A).

O índice de velocidade de produção de plântulas (IVP) foi bem menor do que o IVG para todos os tratamentos (Figura 2B). Apesar do vigor ter sido menor para 180 dias como um todo, os valores do IVP foram muito reduzidos nos controles, na ausência dos sais de cálcio e magnésio (Figura 2B, seta).

Para 135 dias de armazenamento, a relação entre a entropia de germinação e de desenvolvimento de plântulas não resultou em um padrão definido. Por outro lado, para 180 dias de armazenamento, a entropia informacional do desenvolvimento de plântulas apresentou uma relação linear significativa com a entropia de germinação, com valores baixos para uma reduzida germinação e crescentes para porcentagens de germinação maiores (Figura 2C).

Os valores de tempo médio de germinação e do desenvolvimento de plântulas aparentemente não foram afetados pelos tratamentos com sais de cálcio e magnésio para as duas datas de avaliação. Além disso, a relação entre eles parece aleatória (Figura 2D).

A aplicação de cálcio e magnésio exógeno parece dispensável para as sementes após 135 dias de armazenamento, pois a viabilidade e o vigor ainda eram relativamente elevados. Por outro lado, para 180 dias de armazenamento, esses íons tiveram efeito benéfico para a germinação e o desenvolvimento inicial; possivelmente, a necessidade desses íons foi maior, devido ao fato das membranas celulares estarem mais danificadas nas sementes mais velhas.

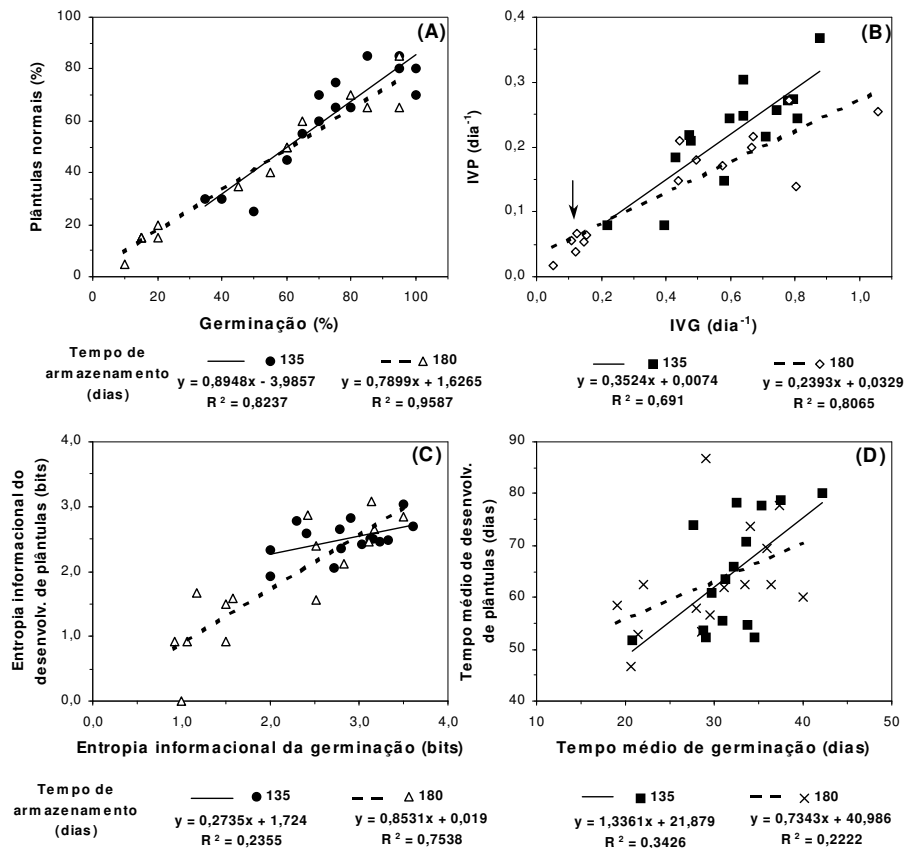


FIGURA 2. Relação entre as características da germinação de sementes e do desenvolvimento inicial de plântulas de *E. pyriformis* Camb. sob dois períodos diferentes de armazenamento e tratamento com sais de cálcio e magnésio. Cada ponto representa uma repetição.

As concentrações de sais utilizadas encontram-se no intervalo recomendado na literatura para a manutenção da estabilidade de membranas celulares (Hepler, 2005). O sulfato de cálcio ( $\text{CaSO}_4$ ) foi empregado em uma concentração de 0,1 mM devido à baixa solubilidade desse sal, o qual é recomendado para evitar a deterioração do ápice radicular (Janice Guedes de Carvalho, comunicação pessoal).

Em estudos de criopreservação, Berjak & Mycock (2004) sugerem que os íons cálcio e magnésio são necessários para a regulação da síntese de amido nas células da raiz após o descongelamento, pois esses autores observaram a formação de amiloplastos em pontas de raiz tratadas com soluções de cálcio e magnésio, mas não nos controles.

Berjak et al. (2000) observaram que os eixos embrionários de *Q. robur* dessecados e posteriormente reidratados em soluções contendo cálcio e magnésio apresentaram reorganização do citoesqueleto e do núcleoesqueleto, além da menor perda de íons por lixiviação.

Estudos ultra-estruturais revelaram que uma baixa concentração de  $Ca^{2+}$  resulta em descontinuidades no envelope nuclear, na membrana plasmática e no tonoplasto, além da mitocôndria, indicando reduzida estabilidade de membranas (Marinos, 1962). A lixiviação de solutos é indicativa da desestruturação de membranas celulares em sementes recalcitrantes submetidas à dessecação (Becwar et al., 1982), tendo sido observada para diferentes espécies, dentre elas, *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Valio & Ferreira, 1992), *Hancornia speciosa* Gom. (Oliveira & Valio, 1992), *E. brasiliensis* Lam. (Kohama et al., 2006) e *E. pyriformis* (Andrade & Ferreira, 2000).

O cálcio, mas não o magnésio, está envolvido na despolimerização de microtúbulos (Weisenberg, 1972), interferindo diretamente na mitose. A deficiência de cálcio afeta primeiramente os meristemas, nos quais a divisão celular e a formação de paredes são mais rápidas (Taiz & Zeiger, 1998).

Tanto o cálcio quanto o magnésio são necessários para a regulação da síntese de amido (Macherel et al., 1986). Na reidratação em água destilada, as plântulas obtidas a partir de eixos embrionários dessecados de *T. dregeana* não apresentavam resposta gravitrópica, devido à ausência de estatólitos. Por outro lado, nas plântulas tratadas com soluções de cálcio e magnésio, a resposta era normal (Berjak & Mycock, 2004).



## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que o tratamento com soluções de cálcio e magnésio foi benéfico para a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de *E. pyriformis* a partir de sementes de baixo vigor (180 dias de armazenamento), mas não teve efeito positivo para sementes com maior vigor (135 dias).

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, A. C. S.; CUNHA, R.; SOUZA, A. F.; REIS, R. B.; ALMEIDA, K. J. Physiological and morphological aspects of seed viability of a neotropical savanna tree, *Eugenia dysenterica* DC. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 1, p. 125-137, 2003.

ANDRADE, R. N. B. de; FERREIRA, A. F. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

ANJOS, A. M. G.; FERRAZ, I. D. K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 29, n. 3, p. 337-348, set. 1999.

ASSY-BAH, B.; ENGELMANN, F. Cryopreservation of mature embryos of coconut (*Cocos nucifera* L.) and subsequent regeneration of plantlets. **Cryo-Letters**, Cambridge, v. 13, n. 2, p. 117-126, Mar./Apr. 1992.

AURISANO, N.; BERTANI, A.; REGGIANI, R. Involvement of calcium na calmodulin in protein and aminoacid metabolism in rice under anoxia. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 36, n. 8, p. 1525-1529, Dec. 1995.

BAPTISTA de CARVALHO, P. G.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature- dependent germination and endo- $\beta$ -mannanase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, ago. 2001.

- BARBEDO, C. J.; BILIA, D. A. C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, p. 121-125, 1998. Especial.
- BECWAR, M. R.; STANWOOD, P. C.; ROOS, E. E. Dehydration effects on imbibitional leakage from desiccation sensitive seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, n. 5, p. 1132-1135, May 1982.
- BERJAK, P.; MYCOCK, D. Calcium, with magnesium, is essential for normal seedling development from partially dehydrated recalcitrant axes: a study on *Trichilia dregeana* Sond. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 217-231, June 2004.
- BERJAK, P.; WALKER, M.; MYCOCK, D. J.; WESLEY-SMITH, J.; WATT, P.; PAMMENTER, N. W. Cryopreservation of recalcitrant zygotic embryos. In: ENGELMANN, F.; H. TAKAGI, H. (Ed.) **Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute; Tsukuba: Jircas, 2000. Disponível em: <<http://www.ipgri.cgiar.org/publications/jircas/Session2.pdf>>. Acesso em: 02 maio 2005. p. 140-155.
- BERTANI, D. F.; RODRIGUES, R. R.; BATISTA, J. L. F.; SHEPHERD, G. J. Análise temporal da heterogeneidade florística e estrutural em uma floresta ribeirinha. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 11-23, mar. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.
- BULOW, J. F. W. von; CARMONA, R.; PARENTE, T. V. Armazenamento e tratamento de sementes de pitanga-vermelha-do-cerrado (*Eugenia calycina*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 961-970, jun. 1994.
- CAPITANI, F.; ALTAMURA, M. M. Exogenous calcium enhances the formation of vegetative buds, flowers and roots in tobacco pith explants cultured in the absence of exogenous hormones. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 1-10, Apr. 2004.
- CHANDEL, K. P. S.; CHAUDHURY, R.; RADHAMANI, J; MALIK, S. K. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seeds of tea, cocoa and jackfruit. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 5, p. 443-450, Apr. 1995.
- DANTAS, B. F. **Atividade amilolítica e qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) submetidas ao alagamento**. 2002. 67 p. Tese (Doutorado em Agricultura). Faculdade de Ciências Agronômicas. Unesp, Botucatu. Disponível em: <[http://www.biblioteca.unesp.br/bibliotecadigital/document/get.php/1501/dantas\\_bf\\_dr\\_bot-fca.pdf](http://www.biblioteca.unesp.br/bibliotecadigital/document/get.php/1501/dantas_bf_dr_bot-fca.pdf)>. Acesso em: 27 set. 2006.

DANTAS, B. F.; ARAGÃO, C. A.; ALVES, J. D. Cálcio e o desenvolvimento de aerênquimas e atividade de celulase em plântulas de milho submetidas a hipoxia. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 251-257, abr./jun. 2001.

DELGADO, L. F. **Tolerância à dessecação em sementes de espécies brasileiras de *Eugenia***. 2006. 96 p. (Dissertação de Mestrado) - Instituto de Botânica, São Paulo. Disponível em: <<http://www.ibot.sp.gov.br/teses/liliana2006.pdf>>. Acesso em: 10 ago. 2006.

EPSTEIN, E. The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells. **Plant Physiology**, Rockville, v. 36, n. 4, p. 437-444, 1961.

FARNSWORTH, E. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Palo Alto, v. 31, p. 107-138, 2000.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with storage time. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 67, n. 2, p. 291-298, June 1986.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: Sistema de análise de variância para dados balanceados. Versão 4. 6. Lavras: UFLA, 2003.

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JÚNIOR, A. Fenologia da floração e maturação dos frutos da uvalheira (*Eugenia pyriformis* Camb.), em Pelotas, RS. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1., 2004, Pelotas. **Resumos...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p. 397-402. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 123). Disponível em: <[www.cpact.embrapa.br](http://www.cpact.embrapa.br)>. Acesso em: 10 dez. 2005.

FU, J. R.; ZHANG, B. Z.; WANG, X. P.; QIAO, Y. Z.; HUANG, X. L. Physiological studies on desiccation, wet storage and cryopreservation of recalcitrant seeds of three fruit species and their excised embryonic axes. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 3, p. 743-754, 1990.

HANSON, J. B. Impairment of respiration, ion accumulation, and ion retention in root tissue treated with ribonuclease and ethylenediamine tetraacetic acid. **Plant Physiology**, Rockville, v. 35, n. 3, p. 372-379, 1960.

HEPLER, P. K. Calcium: A central regulator of plant growth and development. Historical perspective essay. **The Plant Cell**, Rockville, v. 17, n. 8, p. 2142-2155, Aug. 2005.

JANEIRO, L. V.; VIEITEZ, A. M.; BALLESTER, A. Cryopreservation of somatic embryos and embryonic axes of *Camellia japonica* L. **Plant Cell Reports**, New York, v. 15, n. 9, p. 699-703, May 1996.

- KATSUMURA, M.; KAWASAKI, T. Salt stress induced nuclear and DNA degradation in meristematic cells of barley roots. **Plant Cell Physiology**, Kyoto, v. 37, n. 2, p. 169-173, Mar. 1996.
- KOHAMA, S.; MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 72-78, 2006.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Organização dos Estados Americanos. Programa Regional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 1983. 174 p. (Série Biologia, Monografia 24).
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 1, 368 p.
- MACHEREL, D.; VIALE, A.; AKAZAWA, T. Protein phosphorylation in amiloplasts isolated from suspension-cultured cells of sycamore (*Acer pseudoplatanus* L.). **Plant Physiology**, Rockville, v. 80, n. 4, p. 1041-1044, Apr. 1986.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination- aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.
- MALUF, A. M.; BILIA, D. A. C.; BARBEDO, C. J. Drying and storage of *Eugenia involucrata* DC. seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 471-475, maio/jun. 2003.
- MARINOS, N. G. Studies on submicroscopic aspects of mineral deficiencies. 1. Calcium deficiency in shoot apex of barley. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 49, p. 834-841, 1962.
- NASCIMENTO, A. R. T.; LONGHI, S. J.; BRENA, D. A. Estrutura e padrões de distribuição especial de espécies arbóreas em uma amostra de floresta ombrófila mista em Nova Prata-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 11, n. 1, p. 105-119, jun. 2001.
- NEVES, C. S. V. J. Sementes recalcitrantes. Revisão de literatura. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 9, p. 459-467, set. 1994.
- NORMAH, N. M.; CHIN, H. F.; HOR, Y. L. Desiccation and cryopreservation of embryonic axes of *Hevea brasiliensis*. Muell. -Arg. **Pertanika**, Selangor, v. 9, p. 299-303, 1986.
- OLIVEIRA, L. M.; VALIO, I. F. M. Effects of moisture content on germination of seeds of *Hancornia speciosa* Gom. (Apocynaceae). **Annals of Botany**, London, v. 69, n. 1, p. 1-5, Jan. 1992.

- POOVAIAH, B. W.; LEOPOLD, A. C. Deferral of leaf senescence with calcium. **Plant Physiology**, Rockville, v. 52, n. 3, p. 236-239, 1973.
- ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 499-514, 1973.
- RONDON NETO, R. M.; WATZLAWICK, L. F.; CALDEIRA, M. V. W.; SCHOENINGER, E. R. Análise florística e estrutural de um fragmento de floresta ombrófila mista Montana, situado em Criúva-RS. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 1, p. 29-37, jun. 2002.
- SCHMEDA-HIRCHMANN, G.; THEODOLUZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; ARIAS, A. R. Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora*: xantina oxidase inhibitory activity. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 21, p. 183-186, 1987.
- SOUSA, C. A. F. de; SODEK, L. The metabolic response of plants to oxygen deficiency. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 83-94, May/Aug. 2002.
- SUN, W. Q. Methods for study of water relations under desiccation stress. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and surviving in plants: drying without dying**. Wallingford, UK: CAB Publishing, 2002. p. 47-91.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2. ed. Sunderland: Sinauer, 1998. 792 p.
- THEODOLUZ, C.; FRANCO, L.; FERRO, E.; SCHMEDA-HIRCHMANN, G. Xanthine oxidase inhibitory activity of Paraguayan Myrtaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 24, n. 2/3, p. 179-183, Dec. 1988.
- TOMPSETT, P. B.; PRITCHARD, H. W. Effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastaneum* L. seed. **Annals of Botany**, London, v. 82, n. 2, p. 249-261, Aug. 1998.
- VALIO, I. F. M.; FERREIRA, Z. de L. Germination of seeds of *Myrciaria cauliflora* (Mart.) Berg. (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 4, n. 2, p. 95-98, dez. 1992.
- VAN STEVENINCK, R. F. M. The significance of calcium on the apparent permeability of cell membranes and the effects of substitution with other divalent cations. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 18, n. 1, p. 54-69, 1965.
- WEISENBERG, R. C. Microtubule formation in vitro in solutions containing low calcium concentration. **Science**, Washington, v. 177, n. 4054, p. 1104-1105, 1972.