



**DIVERGÊNCIA GENÉTICA, MORFOMÉTRICA
E POTENCIAL GERMINATIVO DE *Syagrus
romanzoffiana***

JOSINA APARECIDA DE CARVALHO LEITE

2001

SECRET - SECURITY INFORMATION

CONFIDENTIAL - SECURITY INFORMATION

CONFIDENTIAL - SECURITY INFORMATION

52396
MFAJ-37192

folha de rosto

JOSINA APARECIDA DE CARVALHO LEITE

**DIVERGÊNCIA GENÉTICA, MORFOMÉTRICA E
POTENCIAL GERMINATIVO DE *Syagrus romanzoffiana***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Florestas de Produção, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Antonio Claudio Davide



LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

2001

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

Leite, Josina Aparecida de Carvalho

**Diversidade genética, morfológica e potencial germinativo de *Syagrus
romanzoffiana* / Josina Aparecida de Carvalho Leite. -- Lavras : UFLA, 2001.
86 p. : il.**

Orientador: Antonio Claudio Davide.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

**1. Palmeira. 2. Divergência genética. 3. Divergência morfométrica. 4.
Germinação. 5. Marcador molecular. 6. RAPD. I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.**

CDD-634.9745

Folha de ~~200~~ aprovação

JOSINA APARECIDA DE CARVALHO LEITE

**DIVERSIDADE GENÉTICA, MORFOMÉTRICA E
POTENCIAL GERMINATIVO DE *Syagrus*
*romanzoffiana***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do
Curso de Mestrado em Engenharia
Florestal, área de concentração em
Florestas de Produção, para
obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 03 de agosto de 2001.

Profª. Dulcinéia de Carvalho

UFLA/DCF

Prof. Antônio Carlos da Silva Zanzini

UFLA/DCF

Prof. Antonio Claudio Davide

UFLA

(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos e permitir a realização dos meus planos;

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciências Florestais pela oportunidade de realizar o curso de mestrado;

Ao professor Antonio Claudio Davide pela orientação, incentivo e, acima de tudo, pela amizade e pelos conselhos. Valeu “paizão”!

À professora Dulcinéia de Carvalho pela orientação, amizade e pela disponibilidade em todos os momentos. Dú, você é muito especial pra mim. Conte sempre comigo!

Ao professor Antônio Carlos da Silva Zanzini pelo interesse, ajuda e sugestões para melhoria deste trabalho. Tudo de bom para você, Zanzini!

Aos professores José Roberto Soares Scolforo e Soraya Alvarenga Botelho, partes essenciais em minha formação acadêmica. Muito Obrigada!

Ao meu marido José de Arimatéia Leite, que muitas vezes abriu mão de momentos de convívio e que agora divide comigo mais um final feliz. Obrigada!

Às minhas irmãs Jane e Joelma pela amizade, incentivo e ajuda. Muitíssimo obrigada, eu adoro vocês!

À Júlia pela alegria contagiante. Muitos beijinhos para você!

Ao Rodolfo pela ajuda e amizade. Valeu muito!

Às duas maiores provas de amizade sincera: Anderson Marcos de Souza e Rejane Tavares Botrel, que além da inestimável ajuda e incentivo, foram meus “orelhões” particulares... Estejam certos de estarem guardados no lado esquerdo do meu peito.

A todos os professores, funcionários e alunos do Departamento de Ciências Florestais, pelo convívio e momentos de descontração. Em especial a Terezinha, Lilian, Gláucia, Virginia, Chica, Eliane, Claudinha e Claret.

A Olívia pela amizade, ajuda, simpatia e dedicação de sempre. Valeu!

Aos funcionários do Viveiro Florestal: José Arimatéia, Jorge e Roberto, e principalmente ao José Carlos e José Pedro e ao estagiário Rodrigo, pela ajuda essencial no trabalho de campo. Obrigada pelo bom humor de sempre!

A todos os amigos dos Laboratórios de Sementes Florestais e Melhoramento Florestal pela ajuda e horas agradáveis: Luciana Magda, Cíbele, Leticia, Rúbia, Rinã, Anderson, Marcelinho, Robério, Nelson, Joema, Afrânio, Márcia, Floriana, Nilza, Batman, Adelson, Sheila, Vássia, Maria Carolina e Nayara.

A todos os amigos da pós-graduação, em especial a Thaís, Sérgio, Elisana, Edmilson, Karem, Luciene, Josébio, Milena, Lígia, Jorge, Carla, Josival, Andréia, Alvinho, Yule e Warley. Obrigada por tudo!

Ao Tio Bento, Vó Maria, Márcio, Tia Irondina e familiares, Eleni, Edo, Lucas, Maurício, Dezinho e familiares, Aurilene, Vanessa Borges, Vera, Degiane, e Walkíria pela amizade, momentos de alegria e bons finais de semana.

Ao Sr. José, Clara, Airton, Simone, Elaine, Léo, Lara, Denílson, Mirele, Eline, Ana Maria e Renato, que sempre estiveram presentes. Obrigada!

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Enfim, a todos que de alguma forma e em algum momento participaram desta etapa de minha vida.

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii

CAPÍTULO 1

1 Introdução geral	1
2 Referencial teórico	3
2.1 Descrição da espécie.....	3
2.2 Escolha de matrizes para a coleta de sementes	5
2.3 Diversidade genética.....	6
2.3.1 Morfologia	7
2.3.2 Marcadores Moleculares de DNA	9
2.4 Germinação de Sementes	12
2.4.1 Embebição.....	14
2.4.2 Dessecação de sementes.....	16
3 Referências bibliográficas.....	19

CAPÍTULO 2

Divergência morfométrica entre matrizes de <i>syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman		26
1 Resumo		26
2 Abstract.....		27
3 Introdução		28
4 Material e métodos		30
4.1 Caracterização das localidades de coleta dos frutos e condução dos experimentos		30
4.2 Coleta dos frutos.....		31
4.3 Morfometria dos frutos e diásporos.....		31
4.4 Análises estatísticas		32
5 Resultados e discussão.....		33
6 Conclusões		37
7 Referências bibliográficas.....		38

CAPÍTULO 3

Divergência genética entre matrizes de <i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman, por marcador molecular RAPD.....	39
1 Resumo	39
2 Abstract.....	40
3 Introdução	41
4 Material e métodos	43
4.1 Caracterização das localidades das matrizes e coleta das folhas.....	43
4.2 Preparo das amostras para extração de DNA	44
4.3 Extração de DNA	44
4.4 Quantificação de DNA.....	45
4.5 Amplificação do DNA.....	46
4.6 Eletroforese	48
4.7 Análise dos dados moleculares.....	48
4.7.1 Obtenção das distâncias genéticas e agrupamento	48
5 Resultados e discussão.....	50
6 Conclusões	57
7 Referências bibliográficas.....	58

CAPÍTULO 4

Estudo do processo germinativo e do armazenamento de diásporos de jerivá (<i>syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman)	59
1 Resumo	59
2 Abstract.....	60
3 Introdução	61
4 Material e métodos	64
4.1 Colheita e beneficiamento dos frutos (lote 1999).....	64
4.1.1 Determinação do teor de água	65
4.1.2 Avaliação de viabilidade em condições de viveiro.....	66
4.2 Colheita e beneficiamento dos frutos (lote 2000).....	67
4.2.1 Determinação do teor de água	67
4.2.2 Curva de dessecação	67
4.2.3 Teste de embebição.....	68

4.2.4 Armazenamento.....	69
5 Resultados e discussão.....	70
5.1 Lote - 1999.....	70
5.1.1 Teor de água dos diásporos.....	70
5.1.2 Germinação em condições de viveiro.....	71
5.2 Lote - 2000.....	72
5.2.1 Curva de embebição.....	72
5.2.2 Curva de dessecação.....	75
5.2.3 Armazenamento.....	78
6 Conclusões.....	81
7 Referências bibliográficas.....	82
Anexos.....	85

RESUMO

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. **Divergência genética, morfométrica e potencial germinativo de *Syagrus romanzoffiana***. Lavras: UFLA, 2001. 86 p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)*

Os objetivos do presente estudo foram analisar a diversidade morfométrica de frutos e diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, analisar a diversidade genética entre matrizes dessa espécie através de marcadores RAPD e estudar o processo germinativo das sementes desta espécie. As matrizes selecionadas para este estudo foram da região Sul de Minas Gerais. Para o estudo da diversidade morfométrica, os cachos de frutos foram coletados no mesmo estágio visual de maturação, em junho de 1999, e submetidos às seguintes análises morfométricas: comprimento dos frutos (CF), comprimento dos diásporos (CD), diâmetro dos frutos (DF), diâmetro dos diásporos (DD), peso médio dos frutos da amostra (PF), peso médio dos diásporos da amostra (PD), peso total do cacho com os frutos (PC), peso total dos frutos do cacho (PFc), espessura da polpa (EP), número de frutos no cacho (NF/c), número de frutos por quilograma (NF/Kg) e número de diásporos por quilograma (ND/Kg). Realizou-se uma análise de agrupamento, pelo método UPGMA, para identificar matrizes semelhantes entre si; para isso utilizou-se o programa MVSP 3.1. Para averiguar a diversidade genética, através de marcador molecular RAPD, foi realizada a extração do DNA de folíolos coletados das matrizes. Os produtos de amplificação foram separados em géis de agarose (1%), os quais, posteriormente, foram corados, visualizados e fotografados. Isso possibilitou a avaliação dos géis e a formação de uma matriz de zero e um, que foi usada para estimativa de similaridade entre os genótipos através do programa NTSYS 1.8. A partir da distância de 1 menos a medida de similaridade, foi construída uma matriz de dissimilaridade. Em seguida, obteve-se um dendrograma pelo método UPGMA, através do programa Estatística 5.0. Para o estudo do processo germinativo, foram utilizados diásporos de jerivá das matrizes referidas anteriormente. Avaliou-se a viabilidade em condições de viveiro (sementeira), utilizando quatro repetições de 100 diásporos para cada matriz. Também foi construída uma curva de embebição para os diásporos, utilizando o incremento médio de peso. Com os resultados da germinação no viveiro, foram selecionadas as matrizes de melhor desempenho, nas quais se realizou uma nova coleta de cachos no ano de 2000, para estudo do comportamento fisiológico dos diásporos quando submetidos à dessecação e

*Comitê Orientador: Antonio Claudio Davide-UFLA (Orientador), Dulcinéia de Carvalho-UFLA (Co-orientadora).

para verificar o efeito do armazenamento na viabilidade dos mesmos. Os resultados obtidos permitiram a formação de sete grupos de matrizes semelhantes entre si. A diversidade morfométrica foi alta, mas não possibilitou o agrupamento por origem. A matriz 24 foi mais divergente. Já a utilização de marcador molecular RAPD foi eficiente na discriminação das matrizes, separando-as em quatro grupos. A distância média entre as matrizes foi de 29% e a matriz 12 foi a mais divergente. A respeito do estudo do processo germinativo verificou-se que os diásporos apresentaram comportamento significativamente diferenciado de acordo com a matriz em condições de viveiro. O endocarpo não impede a absorção de água no processo de embebição. Quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento, o comportamento foi característico de sementes ortodoxas, apresentando variações na capacidade de germinação.

ABSTRACT

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. **Genetic and morphometric divergence, and germinative potential of *Syagrus romanzoffiana***. Lavras: UFLA, 2001. 86 p. (Dissertation – Masters Degree in Forest Engineering)*

The present study aimed the analysis of the morphometric diversity of fruits and seeds of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, genetic diversity among seed trees through RAPD markers, and the process of seed germination. The seed trees selected for this study were from the South region of the state of Minas Gerais. To study the morphometric diversity, the bunches of fruits were collected in the same visual apprenticeship of maturation in June of 1999 and submitted to the following morphometric analysis: fruits length (CF), seed length (CD), fruits diameter (DF), seed diameter (DD), average weigh of the fruit sample (PF), average weigh of the seed sample (PD), total weigh of the bunch with fruits (PC), total weigh of fruits on the bunch (PFC), pulp thickness (EP), number of fruits in the bunch (NF/c), number of fruits per kg (NF/Kg), number of seeds per kg (ND/Kg). A grouping analysis was accomplished using the UPGMA method in order to identify similar groups among each other, using the MVSP 3.1 software. To check the genetic diversity through RAPD markers, DNA was extracted from leaflets collected from selected seed trees. The amplification products were separated by electrophoresis in agarose gel, dried, visualized and photographed. This procedure facilitated the evaluation of the gels and formation of a matrix of zero and one that was used for similarity estimation among the genotypes using the NTSYS 1.8 software. A dissimilarity matrix was built starting from the distance of 1 minus the similarity measurement. A dendrogram was then obtained by the UPGMA method through the Statística 5.0 software. Seed viability was evaluated in nursery conditions (seedbed), using four repetitions of 100 seeds for each selected seed tree. A imbibition curve was built for seed imbibition, using the average increment of weight. With the results of the germination in the nursery, the best seed trees were then selected, from which a new collection of bunches was harvested in the year of 2000 in order to study the physiological behavior and longevity of the seeds during storage after desiccation. The results allowed the formation of seven groups of similar seed trees. The morphometric diversity was high, but it did not facilitate the grouping for origin. The head office 24 was the most different. The use of RAPD markers was efficient in the discrimination of the seed trees, allowing their separation in four groups. The average distance among the head offices was 29% and the head office 12 was the most different.

* Supervising Committee: Antonio Claudio Davide – UFLA (Main supervisor),
Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Co-supervisor)

Regarding the study of the process of seed germination, it was verified that the seeds presented significantly different behavior in agreement with the head office in nursery conditions. The endocarp did not block the absorption of water in the imbibition process. With regard to desiccation tolerance and longevity, the behavior was characteristic of orthodox seeds.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A família *Arecaceae* apresenta, aproximadamente, 2600 espécies distribuídas pelo mundo, mas somente uma pequena proporção delas tem sido objeto de pesquisas (Davies e Pritchard, 1998). As florestas brasileiras apresentam grande diversidade de espécies da família *Arecaceae*, que são de grande importância para o paisagismo, para a indústria de palmito e também para os trabalhos de recomposição dos ecossistemas florestais.

O Brasil é o maior produtor e exportador de palmito em conserva do mundo (Bovi, 1993a). Apesar da flora brasileira de palmeiras ser muito rica, devido à exploração predatória de palmito e outros produtos, algumas espécies vêm sendo gradativamente prejudicadas e correndo risco de extinção, como é o exemplo da *Euterpe edulis* (Mart.). Esse fato levou os produtores a tentar cultivar essas plantas para manter a produção permanente de palmito. Devido à falta e informações de cultivo das mesmas, surgiu o interesse de pesquisadores pelas peculiaridades que a família *Arecaceae* apresenta. Muitas pesquisas foram desenvolvidas, sendo o Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) o pioneiro e líder no estudo de palmeiras produtoras de palmito (Bovi, 1993b).

Como não é possível cultivar uma mesma espécie de interesse econômico em todos os ecossistemas brasileiros, cresce a necessidade de se valorizar as espécies de palmeiras nativas de ocorrência regional. O jerivá é uma palmeira muito abundante na região do Sul de Minas Gerais, podendo ser vista em diferentes ecossistemas, como em capoeiras, campo limpo, em fragmentos florestais e matas ciliares, mostrando grande plasticidade da espécie. Essa plasticidade chega a refletir em variações entre indivíduos, podendo ser notadas principalmente nos frutos e estipe.

Estudos de palmeiras nativas são de fundamental importância, pois muitas dessas espécies oferecem alta potencialidade de utilização. Assim como a pupunha, que ganhou espaço nos últimos anos nas pesquisas sobre palmeiras

produtoras de palmito, o jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) já está despertando a atenção dos produtores (Bovi, 1993b; Sawazaki et al., 1988).

Estudos sobre a diversidade genética intra e interpopulacional são importantes para a conservação da diversidade de espécies, contribuindo para programas de melhoramento e mapeamento de área de coleta de sementes. Além disso, é importante também conhecer o processo de germinação das sementes dessas espécies, visando obter subsídios para a produção de mudas.

Por estas razões, considera-se a escassez de informações relativas às características ecológicas, fisiológicas, silviculturais e genéticas dessas espécies, um fator limitante na utilização das mesmas. A grande diversidade que ocorre entre e dentro das populações das espécies nativas dificulta a produção de mudas, que exige procedimentos distintos, muitos dos quais não conhecidos, devendo ser investigados. A geração de informações básicas sobre a diversidade genética do material botânico é importante para auxiliar na escolha de ecótipos com maior potencial de gerar efeitos heteróticos (Sawazaki et al., 1988).

O presente trabalho teve como objetivos estudar o processo germinativo de sementes e analisar a variação genética entre matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição da espécie

Syagrus romanzoffiana (Cham.) Glassman pertence à divisão Angiospermae, classe Monocotyledonea, família Arecaceae, subfamília Coccoideae e gênero *Syagrus* (APG, 1998). O gênero *Syagrus* passou por várias mudanças de classificação, com sinonímias com os gêneros *Cocos*, *Glaziova* e *Arescastrum*. A palmeira *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman é vulgarmente conhecida como coqueiro, coco-babão, coqueiro jerivá, baba de boi, coco-de-catarro, coco-de-cachorro, pindó, palmito amargoso ou jerivá (Lorenzi, 1992, Lorenzi, 1996). Jerivá é um nome indígena, “yarivá”= “yārib”(espádices) + “uá” (fruto), que significa frutos que dão em espádices ou, segundo outros, “yarivá”= “yary”(gomoso) + “ya”(fruto), que significa fruta gomosa (Reitz, 1974, citado por Negrão, 1999).

Esta palmeira ocorre nos estados do Sul do Brasil, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Espírito Santo, Bahia, Rio de Janeiro, Minas Gerais, além da Argentina, Uruguai e Paraguai (Alves e Demattê, 1987; Lorenzi, 1992, Lorenzi, 1996). Ocorre em várias formações vegetais, tais como campos secos e savanas, matas ciliares do planalto brasileiro e regiões serranas dos sertões (Alves e Demattê, 1987). Lorenzi (1992); Reitz (1974), citado por Negrão (1999), citam que o jerivá ocorre em agrupamentos vegetais primários em locais de solos úmidos, brejosos ou parcialmente inundáveis. É muito comum, também, encontrar o jerivá em capoeiras, áreas recém-abandonadas e áreas que sofreram queimadas e derrubadas, onde se observa intensa regeneração, sendo resistente ao fogo rasteiro (Reitz, 1974, Coimbra-Filho, 1976, citados por Negrão, 1999; Lorenzi, 1992).

Seu estipe é alto e anelado, variando entre 10 e 20 m de altura e entre 15 e 30 cm de diâmetro. As folhas são pinadas, levemente arqueadas, variam entre

2,5 e 4 m de comprimento. Os folíolos são estreitos e lanceolados, irregularmente distribuídos em vários planos ao longo da ráquis. Quanto à coloração dos folíolos, a face superior é verde escura e a inferior mais pálida. É uma planta monóica, apresenta flores de ambos os sexos no mesmo cacho, com inflorescência interfoliar protegida por uma espata lenhosa, acanoadada e com cerca de 1,5 m de comprimento. As flores são pequenas e amarelas. Os frutos nascem em grandes quantidades e apresentam aspectos que variam de globosos a elipsóides, de cor amarela-pardacenta a amarela-alaranjada quando maduros. São parcialmente carnudos, lisos, de polpa fibrosa, muito mucilaginosa, suculenta e adocicada; são comestíveis e de sabor agradável. Funcionam como atrativos à fauna, principalmente às aves das espécies *Ramphastos dicolorus* e *R. vittellinus* (tucanos) e às da família Psitacidae (maritacas, papagaios e periquitos), *Turdus rufiventris* (sabiá-laranjeira), que geralmente removem a polpa e regurgitam o diásporo (Guix e Ruiz, 1995). O esquilo caxinguelê (*Sciurus ingrami*) é um dispersor e predador dos frutos; o jerivá é responsável por cerca de 40% de sua dieta. O jerivá representa um vegetal de grande importância também para o mico-leão-preto (*Leontopicheus chrysopygus*), que come o exocarpo dos frutos de jerivá, chegando a compreender mais de 79% da parte vegetal de sua alimentação, contribuindo, então, para a sobrevivência desta espécie (Mamede-Costa e Godoi, 1998).

Outras espécies se alimentam dos frutos do jerivá e por isso são consideradas importantes para sua dispersão, dentre estas se destacam: *Cebus apella*, *Alouatta fusca*, *Pterodorus granulosus*; *Cerdocyon thous*, *Tapirus terrestris*, *Procyon cancrivorus* e *Amazona brasiliensis* (Virtualherbarium, 2000).

A floração ocorre de maneira abundante quase o ano todo, com predominância na primavera e verão, sendo que a maturação dos frutos ocorre principalmente no final do inverno. Há cerca de 150 frutos por quilo (Lorenzi,

1992), e quando despolidos, contêm, em média, 280 diásporos por quilo (Davide e Faria, 1995).

Diferentes usos são dados a esta planta. Entre eles, pode-se citar a ornamentação, sendo a palmeira nativa mais comumente utilizada para esse fim no Sul do Brasil e em outros países, onde é conhecida como “queen palm”. Outros usos que podem ser citados são a extração de óleo das sementes e de palmito, ambos destinados à alimentação humana em algumas regiões do país (Bovi, 1993a). Além disso, essa espécie fornece fibras e materiais para construções rústicas, sendo seu estipe de grande durabilidade e usado no preparo de estivados sobre solos brejosos (Bondar, 1964; Lorenzi, 1992; Lorenzi, 1996 e Corrêa, 1978). Complementando a lista de usos dados à espécie, Colares et al. (1997) atribuíram valor medicinal à mesma.

2.2 Escolha de matrizes para a coleta de sementes

A escolha de matrizes assume uma importância imensurável nos programas de produção de sementes. Segundo Kageyama e Gandara (1999), o plantio de uma população a partir de uma ou poucas árvores mostra claramente o efeito da redução do tamanho do efetivo da população pela atividade humana. Isso implica na capacidade de manter as características genéticas de uma população ao longo de muitas gerações. Vencovsky (1987) afirma que para evitar a perda de alelos importantes, este tamanho efetivo deve ser relativamente grande, principalmente quando se trata de programas de melhoramento a longo prazo. Kageyama e Gandara (1999) consideram que o tamanho efetivo de uma população para produção de sementes depende da representatividade genética que um indivíduo tem, em função de seu sistema reprodutivo e de sua genealogia. É, então, o resultado da proporção de genótipos que participam efetivamente na fertilização e produção de sementes num dado ano (Palmberg e

Melchior, 1980, citados por Pires, 1984). Sendo assim, sementes colhidas de uma única matriz podem representar um tamanho efetivo desde um até próximo de quatro, dependendo se a espécie for autógama ou alógama, respectivamente. Considerando o tamanho efetivo adequado para a coleta de sementes como sendo de 50, é inadmissível que a coleta de sementes seja realizada de uma única matriz, de área plantada ou natural, ou de populações plantadas cuja origem e tamanho sejam desconhecidos.

É importante considerar, também, a natureza genética do material a ser utilizado, pois o uso de material genético não adequado pode levar qualquer programa ao insucesso. Como na maioria das vezes não se tem controle da qualidade genética das sementes utilizadas, uma alternativa é realizar a coleta de sementes em áreas conhecidas ou investir em estudos genéticos aliados aos estudos de produção e tecnologia de sementes, uma vez que estes têm auxiliado muito nas tomadas de decisão para a escolha de matrizes produtoras de sementes.

2.3 Diversidade genética

O conceito de diversidade genética se refere ao nível de heterogeneidade ou nível de variação genética de uma população ou de indivíduos de uma determinada espécie. A diversidade genética, assumida como a expressão da dissimilaridade entre indivíduos, é uma das principais responsáveis pelo sucesso de um programa de melhoramento. Além disso, a aquisição de informações sobre a diversidade genética é essencial para o manejo de uma espécie (Millar e Westfall, 1992; Savolainen e Kaerkkäinen, 1992, citados por Kanashiro et al., 1997) e para o entendimento das relações entre ecologia e genética de indivíduos e populações, possibilitando o estabelecimento de diretrizes para a conservação e utilização de recursos genéticos (Lee, 2000).

A avaliação da diversidade genética e relações entre plantas individuais ou populações pode ser feita por meio de análises genealógicas, análise das características morfológicas, marcadores citológicos, marcadores bioquímicos e, mais recentemente, por marcadores moleculares (Borém, 1997; Szücs et al., 2000).

Até a década de sessenta, a seleção de árvores para os programas de melhoramento florestal no Brasil baseou-se em características fenotípicas. Na década de oitenta, maior aceitabilidade se deu ao uso de marcadores bioquímicos e citológicos. De acordo com Dias (1994), os caracteres pouco influenciados pelo ambiente são os mais adequados para estimação de diversidade genética. Assim, os marcadores de DNA, os quais têm atuação direta no código genético, são instrumentos precisos na detecção de diversidade genética. É por isso que, a partir da década de noventa, o uso de marcadores moleculares vem revolucionando as pesquisas nesta área.

O uso destas técnicas nas espécies florestais também tem crescido muito, uma vez que estas apresentam grandes alterações na estrutura genética. Essas variações parecem estar relacionadas à heterogeneidade de condições de tempo e espaço, conseqüências das longas gerações e amplas áreas de distribuição das espécies florestais (Nanson, 1974; Guries e Ledig, 1982; Kageyama, 1983; citados por Pires, 1984).

2.3.1 Morfologia

A morfologia das plantas constitui uma ferramenta muito importante nos estudos científicos. Seu uso é evidenciado desde os tempos remotos, sendo que Gaertner foi considerado o pioneiro por fornecer bases para a morfologia de sementes de vários gêneros, por volta de 1791. Outro exemplo que pode ser citado é o de Charles Darwin, que utilizou a morfologia no período de 1809 a

1882, fornecendo conclusões importantes sobre a teoria da seleção natural, pela observação de caracteres morfológicos internos e externos dos vegetais, tais como tamanho, disposição, cor, forma e posição dos elementos estruturais da planta (Amorim, 1996).

Um importante ramo da morfologia, a morfometria, que é o estudo e análise da forma, vem sendo utilizado para caracterização de espécies ou para comparações dentro de uma mesma espécie, entre variedades, entre e dentro de populações e entre indivíduos. Um exemplo é o trabalho desenvolvido por Botezelli (1998), que através da descrição de aspectos morfométricos, caracterizou frutos de quatro procedências de baru (*Dipteryx alata* Vogel). Outros estudos relacionados com a morfologia de frutos e sementes têm sido desenvolvidos com o objetivo de descrição e caracterização (Chaves, 1993; Moraes, 1993; Amorim, 1996; Barroso, 1998; Ferreira, 1998; Groth, 1999; Abiko, 2000). Deve-se ressaltar que estes estudos são de relevante importância, uma vez que são usados para identificação taxonômica das espécies, arqueologia, paleontologia, ornitologia, além de auxiliarem muito nas análises laboratoriais de sementes (Martin, 1946; Martin e Barkley, 1961; Musil, 1963, citados por Groth, 1999 e Beltrati, 1992).

Para a detecção de diversidade entre indivíduos ou populações, as características morfológicas são utilizadas em diversas áreas, como na entomologia, fruticultura, ictiologia e micologia, porém, para as espécies florestais, existem poucos estudos. Na maioria dos casos, estes estudos se fundamentam na estatística biométrica e, ou descritiva, envolvendo estimativas do desvio padrão e do coeficiente de variação. Alguns trabalhos já foram desenvolvidos com palmeiras. Aqui cabe o exemplo das pesquisas desenvolvidas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC), as quais na década de setenta, alcançaram resultados satisfatórios na seleção de representantes entre e dentro de ecótipos de estipe único de *Euterpe edulis* e *Euterpe oleraceae*

(Moreira, 1998). Bovi et al. (1990) encontraram alta variabilidade entre e dentro de procedências e progênes de açazeiro (*Euterpe oleraceae*), considerando o caráter “número de perfilhos”. Mattos-Silva (1992), citado por Moreira (1998), relata que características qualitativas e quantitativas oferecem vantagens aos melhoristas, haja vista que permitem a seleção de indivíduos mais indicados para determinada produção.

A falta de padrões de variação morfométrica para frutos e sementes de espécies florestais e o fato de as medidas serem provenientes do fenótipo e, por isso, incluírem variação tanto condicionada pelo genótipo quanto pelo ambiente, fazem com que o uso somente de características morfométricas para detecção de diversidade não seja muito confiável (Daly, 1991, citado por Waldschmidt, 1999). Visando minimizar os efeitos ambientais e certamente refinar os resultados obtidos com a morfometria, uma alternativa é aliar o uso de técnicas baseadas em avaliação direta do DNA.

2.3.2 Marcadores Moleculares de DNA

Durante muito tempo, a análise de fenótipos foi a base do melhoramento genético. O advento do uso das endonucleases de restrição possibilitou a identificação de maior polimorfismo. Esses marcadores foram denominados polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição (“Restriction Fragment Length Polymorphism”- RFLP’s) (Ferreira e Grattapaglia, 1998). A técnica consiste na extração, purificação e digestão do DNA, e com enzimas de restrição (endonucleases) formam-se fragmentos de DNA de tamanhos variados, que são separados, de acordo com seu tamanho, por eletroforese em gel de agarose. Como é impossível realizar a observação diretamente no gel, os fragmentos são transferidos para um suporte sólido (“Southern blotting”), e através da hibridação dos fragmentos com sondas radioativas e da avaliação dos

RFLP's em auto-radiogramas, é feita a avaliação quanto ao estado polimórfico (Landry et al., 1987; Song et al., 1988 e Maluf, 1990, citados por Teixeira, 1996 e Borém, 1997). Os marcadores RFLP's possuem expressão co-dominante, ou seja, mais de um alelo pode ser detectado por loco, por isso são importantes para estudos de filogenia e diversidade, na construção de mapas genéticos e no mapeamento genético de características de interesse. No Brasil, esta técnica é pouco utilizada, uma vez que possui alguns inconvenientes requeridos, como a alta quantidade de DNA, o uso de sondas espécie-específicas, o uso de radioisótopos e a dificuldade operacional, sendo por isso uma técnica cara, demorada e complexa (Ferreira e Grattapaglia, 1998 e Borém, 1997).

Com o desenvolvimento de um procedimento para a amplificação do DNA, no ano de 1984, um novo impulso ocorreu nas pesquisas de melhoramento. A tecnologia da reação da polimerase em cadeia "PCR" (Polymerase Chain Reaction) se baseia na amplificação da seqüência alvo de DNA. Através de uma síntese enzimática, *in vitro*, de um segmento de DNA delimitado por um par de oligonucleotídeos ("primers") de fita simples, obtêm-se grandes quantidades de um fragmento específico de DNA. Por repetidos ciclos de desnaturação, anelamento do oligonucleotídeo e extensão pela DNA polimerase, é produzido um aumento exponencial de fragmentos. A análise baseada no PCR requer informação prévia da seqüência de ligação, complementar a um par de "primers", no DNA molde. O tempo e o custo para obter essa informação limitam sua aplicação em larga escala em mapeamento genético (Williams et al., 1990).

Devido às vantagens da técnica PCR, foi muito rápido o seu aperfeiçoamento, através do uso de "primers" mais curtos e de seqüência arbitrária, eliminando a necessidade do conhecimento prévio da seqüência do DNA. Esse aperfeiçoamento se deu, concomitantemente, por dois grupos de pesquisa: Williams et al. (1990), que denominaram essa técnica de "Random

Amplified Polymorphic DNA – RAPD”, e Welsh e McClelland (1990), que a denominaram “Arbitrarily Primed Polymerase Chain Reaction – AP-PCR”. A técnica RAPD é a forma mais utilizada, diferindo da técnica de PCR por utilizar um único “primer” de dez nucleotídeos de seqüência arbitrária. A detecção do produto de amplificação é feita em gel de agarose. Este gel é tratado com brometo de etídio, visualizado e fotografado sob luz ultravioleta. O polimorfismo é detectado na forma de presença ou ausência de bandas discretas de DNA nos géis, sendo de expressão dominante. A diferenciação de indivíduos se dá pelos distintos padrões de fragmentos amplificados (Borém, 1997).

Nos últimos anos muitas e muitas técnicas de marcadores moleculares têm sido elaboradas, mas os métodos RFLP e RAPD são ainda largamente usados por serem eficientes na detecção de polimorfismo de DNA (Szücs et al., 2000).

O método RAPD é extremamente simplificado e aplicável a qualquer tipo de organismo, o que tem feito com que seja largamente utilizado para a avaliação de diversidade genética e para estudos de produção e de estratégias de conservação para espécies (Ferreira e Grattapaglia, 1998; Kanashiro et al., 1997). Além disso, este método é de alta confiabilidade, sendo dessa forma, a escolha preferida para caracterização de germoplasma (Rajagopal et al., 2000).

Nesse sentido, o uso de marcadores moleculares RAPD para detecção da diversidade genética em espécies florestais tem crescido muito, complementando as informações tradicionais e gerando novas perspectivas para o melhoramento e conservação das mesmas.

Alguns trabalhos buscaram elucidar a genética de populações de espécies florestais, porém muitos destes estudos utilizaram isoenzimas (marcador bioquímico). Muitas espécies estudadas, tais como *Acronomia aculeata* (Lopes et al., 1992); *Astrocaryum mexicanum* (Eguiarte, Perez-Nasser e Piñero, 1992); *Euterpe edulis* (Reis, 1996); *Syagrus romanzoffiana* (Negrão,

1999) e *Copaifera langsdorffi* (Oliveira, 2000), apresentaram alto grau de divergência genética, o que é comum para as espécies arbóreas (Gitzendanner e Soltis, 2000).

Utilizando o método RAPD, Barbosa (1997) verificou grande eficiência para acessar a variabilidade genética entre progênies de pupunha (*Bactris gasipaes*). Também para outras espécies nativas o método RAPD foi eficiente, como, por exemplo, num estudo com procedências de castanheira (*Bertholletia excelsa*) desenvolvido por Kanashiro et al. (1997), que determinaram baixa variação genética, apesar da grande área de abrangência da espécie. Vilela (1998), através do estudo das variações genéticas em quatro populações naturais de pequi (*Caryocar brasiliensis*) usando RAPD, verificou o grau de similaridade genética entre seus indivíduos.

2.4 Germinação de Sementes

A germinação de sementes, em geral, é um processo complexo, caracterizado por uma série de etapas que vão desde a embebição até o início do alongamento do eixo embrionário (Bewley e Black, 1985).

Vários fatores, intrínsecos e extrínsecos, influenciam o processo de germinação. Dentre eles, ressalta-se como intrínsecos a viabilidade, o vigor, o grau de deterioração, a espessura e a composição química do tegumento e da semente, tais como a presença de hormônios e substâncias inibidoras não hormonais, entre outras características genéticas. Já os fatores extrínsecos que influenciam no processo de germinação de sementes são a umidade, a temperatura, a luz, o oxigênio e o substrato, cujas necessidades variam entre e dentre as espécies (Popinigis, 1977; Carvalho e Nakagawa, 1988).

Geralmente, a propagação de palmeiras é realizada por meio de germinação das sementes, perfilhamento ou cultura de tecidos (Pinheiro, 1986; Lam, 1998).

A posição do embrião pode variar em sementes de palmeiras. Quando situado próximo à micrópila, é considerado basal, e se situado do lado contrário, é apical, podendo também ser lateral. Por isso, as palmeiras apresentam diferentes formas de germinação em função dessas particularidades na morfologia das sementes.

A germinação normalmente é hipógea e apresenta somente um cotilédone. A folha cotiledonar não emerge do solo, ficando parcial ou totalmente contida nele durante a germinação (Lam, 1998). O cotilédone permanece preso no endosperma, através do ápice, e tem a função de suprir a plântula com os nutrientes de reserva da semente. Em palmeiras do grupo Coccoideae e algumas Borrassoide, o cotilédone pode assumir formas e ocupar espaços e preencher a cavidade central do endosperma (Tomlinson, 1960; citado por Lam, 1998).

As sementes de palmeiras, em geral, não suportam o ressecamento, o que debilita ou leva à falência total da germinação. A maioria das sementes de palmeiras apresenta lentidão e desuniformidade na germinação, que pode ocorrer desde o 35^o dia até mais de 100 dias (Pinheiro, 1986). *Syagrus oleraceae* (guariroba) inicia a germinação aos 60 dias, com término aos 120 dias, sendo o índice de germinação de 50-60% (Silva et al., 1992 e Diniz e Sá 1995; citados por Melo, 2000). Para *Bactris gasipaes* (pupunha), o período de germinação é de 60 a 120 dias, atingindo uma porcentagem de 70-80% (Bovi, 1993b). Segundo Lorenzi (1992), o período de germinação de sementes das espécies do gênero *Syagrus* oscila de dois a seis meses, podendo levar a até quase um ano para *Syagrus coronata*; além disso, a porcentagem de germinação é baixa, atingindo 50-60%.

Para se obter êxito com a germinação de sementes de palmeiras, Read (1962), citado por Pinheiro (1986) e Bovi, Godoy Júnior e Saés (1987), sugerem a observação de alguns procedimentos, tais como a utilização de sementes frescas, uma vez que quando armazenadas podem perder a viabilidade rapidamente; a limpeza e tratamento anti-fúngico; o plantio em substrato estéril e boa aeração e drenagem; manutenção do estrato quente e úmido, pois em temperaturas abaixo de 25°C a germinação pode ser comprometida; entre outros aspectos. Esta rápida perda do poder germinativo das sementes de palmeiras, por não suportarem a dessecação, faz com que, muitas vezes, a multiplicação por via sexuada seja preferida (Melo, 2000).

De acordo com Andrade (1994), sementes de *Euterpe edulis* podem ser dessecadas a 33% de umidade sem alterações na sua viabilidade. Abaixo de 33% de umidade há redução na viabilidade, sendo que sementes com 18% de umidade perdem totalmente a viabilidade.

2.4.1 Embebição

A absorção de água pela semente é um fator preponderante na indução da germinação, ainda que o seu modo de entrada e a seqüência de eventos iniciados no interior das células sejam de difícil precisão. A semente seca possui baixo metabolismo e com o início da embebição, ocorre o entumescimento da semente e o aumento da respiração. Muitas enzimas preexistentes são ativadas e há o estímulo para o desdobramento das reservas (tanto no eixo como nos tecidos de armazenamento) e síntese de novas enzimas. Com a degradação das reservas da semente, seus produtos são utilizados para formação de novas estruturas e fornecimento de energia para o embrião. Além disso, acontece a expansão celular, o que determina fisicamente o crescimento do embrião. A absorção de água pela semente pode ocorrer tanto pela micrópila quanto pelo

tegumento. Este fenômeno se dá de maneira diferenciada nos tecidos da semente e varia com a espécie, permeabilidade do tegumento, disponibilidade de água, forças intermoleculares, temperatura, pressão hidrostática, área de contato da semente com a água, composição química e condições fisiológicas das sementes (Popinigis, 1977).

Bewley e Black (1994) relatam que a absorção de água pela semente é um evento trifásico. A fase I é caracterizada por uma rápida entrada de água no interior da semente pela diferença de potencial osmótico entre a semente e o substrato. Esta fase independe da atividade metabólica da semente e nela se inicia o processo de degradação das substâncias de reserva, que irão promover o início do crescimento do embrião. Esta é uma fase muito rápida. A fase II é um período no qual ocorre uma menor velocidade de embebição, sendo o conteúdo de água relativamente constante (Welbaum et al., 1998). Nela ocorre grande parte dos eventos metabólicos preparatórios para a germinação, tais como ativação enzimática e digestões enzimáticas das reservas (Guimarães, 1991). A duração desta fase é variável, mas em relação à primeira, pode ser considerada como muito longa. A fase III é caracterizada pelo aumento da velocidade de embebição e nela ocorre o crescimento visível do eixo embrionário e, conseqüentemente, o aumento da intensidade respiratória (Carvalho e Nakagawa, 1988; Guimarães, 1991; Bewley e Black, 1994). Nesta fase, as substâncias desdobradas nas fases I e II são reorganizadas em substâncias complexas para formar citoplasma, protoplasma e paredes celulares, permitindo, assim, o crescimento do eixo embrionário. Na verdade, estas fases não são seqüenciais e podem ocorrer simultaneamente. Uma vez que há crescimento do embrião para que ocorra a emergência, é necessário que haja turgência e extensão da parede celular para que a germinação seja finalizada.

Em muitas espécies, os tecidos envoltórios dos embriões podem ser penetrados pela radícula; logo a semente é completamente embebida, sendo que,

já na fase II, ocorre o enfraquecimento destes tecidos envoltórios do embrião. Para outras espécies, o tegumento é rompido durante a embebição; neste caso, somente o início do crescimento radicular é requerido para completar a germinação. Por outro lado, em muitas espécies o embrião permanece fechado nos tecidos envoltórios (tegumento, endosperma ou perisperma), que são considerados barreiras para a emergência da radícula (Welbaum et al.,1998).

As sementes de palmeiras (amêndoas) geralmente ficam cobertas com envoltório lignificado, duro, espesso, denominado de endocarpo, possuindo somente um poro de poucos milímetros de diâmetro por onde ocorre a entrada d'água, trocas gasosas e a saída da radícula. Esse fator apresenta um sério obstáculo para germinação, sendo considerado como dormência devido à resistência mecânica presente nas estruturas que recobrem o embrião (Melo, 2000).

2.4.2 Dessecação de sementes

Durante o desenvolvimento da semente, podem ser caracterizados três estágios fisiológicos. O primeiro é caracterizado pela fertilização, divisão celular e histodiferenciação; no segundo, há deposição de reserva nas células e expansão celular, e no terceiro estágio, ocorre acúmulo final de matéria seca até que a maturidade fisiológica seja atingida e ocorra a redução do metabolismo com a dessecação (Jiang e Kermode, 1994). Em relação à secagem, pode-se considerar dois períodos: intolerante, ou seja, o que corresponde ao primeiro e parte do segundo estágio; e tolerante, que se refere a uma parte do segundo estágio e todo o terceiro. Pode se considerar que a tolerância à dessecação é uma adaptação estratégica para tornar a semente apta à sobrevivência durante o armazenamento (Barbedo e Marcos-Filho, 1998). No entanto, as sementes de diferentes espécies não têm o mesmo comportamento em relação à perda de água. Em muitos casos

ocorre a intolerância à dessecação. Com base nestas mudanças de comportamento, Hong e Ellis (1996) classificaram as sementes como ortodoxas, intermediárias ou recalcitrantes.

Nas sementes ortodoxas, verifica-se rápida redução no teor de água até valores próximos a 10%, o que torna o ambiente impróprio para a germinação pela falta de água disponível (quiescência). Em contrapartida, para as sementes recalcitrantes, o teor de água permanece elevado e admitindo-se que as sementes estejam completamente formadas, inicia-se o processo germinativo, podendo ocorrer, até mesmo, na planta mãe (viviparidade) (Barbedo e Marcos-Filho, 1998). Sementes recalcitrantes perdem a viabilidade muito rapidamente quando secas abaixo de um nível crítico de umidade, uma vez que seu metabolismo não é reduzido antes da germinação (Baskin e Baskin, 1998; Pammenter e Berjak, 1999). Já as classificadas como intermediárias toleram a dessecação a níveis de umidade entre 7 e 10% e não toleram temperaturas abaixo de 0° C por tempo prolongado (Hong e Ellis, 1996). Sementes intermediárias apresentam características ortodoxas, mas possuem longevidade muito curta (Pence, 1996; Vertucci et al., 1996; Farrant et al., 1997 e Sacande et al., 1997; citados por Barbedo e Marcos-Filho, 1998).

O enquadramento de espécies dentro de uma destas categorias é bastante dificultado, uma vez que a sensibilidade à dessecação é influenciada por inúmeros fatores, cada qual de suma importância no processo, como, por exemplo, o habitat natural da espécie, a longevidade das sementes em armazenamento sob condições hidratadas, o teor crítico de água, a sensibilidade ao resfriamento, a existência de dormência e a influência da temperatura durante a secagem, entre outros (Berjak e Pammenter, 1994; citados por Barbedo e Marcos-Filho, 1998). Além destes aspectos, existem outros fatores que possivelmente estão envolvidos na tolerância à dessecação de sementes. Dentre esses, inclui-se o controle de reguladores de crescimento, principalmente o

ABA; o acúmulo de proteínas ao final da maturação (LEA proteínas), que funcionam como protetoras; o balanço entre açúcares solúveis (principalmente a sacarose, a rafinose e a estaquiose); a presença de radicais livres, aliada à eficiência dos sistemas antioxidantes e às características da água na semente. É provável que o gradiente de tolerância à dessecação seja resultado da combinação destes fatores (Barbedo e Marcos-Filho, 1998; Pammenter e Berjak, 1999).

É fundamental que a dessecação seja controlada, uma vez que muitos danos estão relacionados a essa fase, e como já se sabe, a proteção é mais importante do que o reparo (Oliver e Bewley, 1997; citados por Pammenter e Berjak, 1999).

Recentemente, muitos estudos vêm sendo desenvolvidos, buscando o melhor conhecimento do comportamento das espécies quanto à dessecação e dos fatores inerentes a ela. Como exemplos, têm-se os estudos sobre a tolerância à dessecação em sementes de ipê-roxo (Gemaque, 1999), canela-batalha (Tonetti, 2000) e o estudo de Carvalho (2000), que possibilitou a classificação de 45 espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIKO, C.Y. Caracterização morfológica e germinação de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes* H. B. K.). Viçosa: UFV, 2000. 69p.
- ALVES, M.R.P.; DEMATTÊ, M.E.S.P. Palmeiras: Características botânicas e evolução. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 129p.
- AMORIM, I.L. de Morfologia de frutos, sementes, germinação, plântulas e mudas de espécies florestais da região de Lavras – MG. Lavras: UFLA, 1996. 127p. (Dissertação – Mestrado em Silvicultura).
- ANDRADE, A.C.S. de Efeito da secagem e do armazenamento sob a germinação, o vigor de plântulas e a integridade do sistema de membranas em sementes de palmito (*Euterpe edulis* Mart.) Itaguaí, Rio de Janeiro: UFRRJ, 1994. 89p. (Tese de Mestrado)
- APG (Angiosperm Phylogeny Group). An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, Saint Louis, v. 85, n. 4, p.531-553, May/June 1998.
- BARBEDO, J.C.; MARCOS-FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. *Acta botânica brasileira*, São Paulo, v.12, n.2, p.145-164, 1998
- BARBOSA, A.M.M. Análise da variabilidade genética em progênies de pupunha (*Bactris gasipaes* H B. K.) por caracteres agronômicos e RAPD. Jaboticabal: UNESP, 1997. 98p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- BARROSO, G.M. Caracterização de frutos e sementes de seis espécies em matas de galeria do Distrito Federal. *Revista Brasileira de sementes*, Brasília, v.20, n.1, p.112, 1998.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. *Seeds ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination*. Califórnia: Academic Press, 1998. 666p.
- BELTRATI, C.M. Morfologia e anatomia de sementes. Curso de Pós – Graduação em Ciências Biológicas: Área de Biologia Vegetal- Departamento de Botânica: Instituto de Biociências: UNESP. 1992 108p.

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

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds.** New York: Spriger-Verlag, 1985. Viability, dormancy and environmental control.

BONDAR, G. **Palmeiras do Brasil.** São Paulo: Instituto de Botânica, 1964. 159p.

BOREM, A. **Melhoramento de plantas.** Viçosa: UFV, 1997. 547p.

BOVI, M.L.A. **Híbridos do palmito** In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE PALMITO, 1993, Piracicaba. Anais... Piracicaba: CALQ/Departamento de Agricultura, 1993. p.39-48

BOVI, M.L.A. **Palmito pupunha: informações básicas para o cultivo.** In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE PALMITO, 1993, Piracicaba. Anais... Piracicaba: CALQ/Departamento de Agricultura, 1993b. p.12-23.

BOVI, M.L.A.; GODOY JÚNIOR, G.; SAÉS, L. A. **Pesquisas com os gêneros *Euterpe* e *Bactris* no Instituto Agronômico de Campinas.** O Agrônomo, Campinas, v.39, n.2, p.129-174, maio/ago. 1987.

BOTEZELLI, L. **Estudo do armazenamento de sementes de quatro procedências de baru, *Dipteryx alata* Vogel.** Lavras: UFLA, 1998. 115p.

CARVALHO, L.R. **de Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento.** Lavras: UFLA, 2000. 97p. (Dissertação – Mestrado em Produção Florestal).

CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

CHAVES, M.M.F. **Descrição morfológica de sementes, de plântulas e de mudas de 10 espécies arbóreas, pioneiras, na microrregião de Viçosa, MG.** Viçosa: UFV, 1993 (Dissertação – Mestrado em Ciência Florestal).

COLARES, M.N.; DELUCCHI, G.; NOVOA, M.C.; VIZCAINO, C.E. **Anatomy and ethnobotany of medicinal species of monocotyledons from pampean steppe: Alismataceae, Araceae and Arecaceae.** Acta Farmacêutica Bonaerense, v.16, n.3, p.137-143, July/Sept. 1997.

CORRÊA, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1978. v. IV.

DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R. Index seminum do laboratório de sementes florestais do departamento de ciências florestais. Lavras: UFLA/CEMIG/FAEPE, 1995. 20p.

DAVIES, R.I.; PRITCHARD, H.W. Seed storage and germination of the palms *Hyphaene thebaica*, *H. petersiana* and *Medemia argun*. Seed Science and Technology, Zurich, v.26, p.823-828, 1998.

DIAS, L.A.S. Divergência genética e análise multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de Cacau (*Theobroma cacao* L.). Piracicaba: ESALQ/USP, 1994. 94p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).


EGUIARTE, L.E.; PEREZ-NASSER, L.; PIÑERO, D. Genetic structure, outcrossing rate and heterosis in *Astrocaryum mexicanum* (tropical palm): implications for evaluation and conservation. Heredity, London, v.69, p.217-228, 1992.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.

GEMAQUE, R.C.R. Maturação, tolerância a dessecação e alteração na qualidade fisiológica em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) envelhecidas artificialmente. Lavras: UFLA, 1999. 93p. (Dissertação - Mestrado em Produção Florestal).

GITZENDANNER, M.A.; SOLTIS, P. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. American Journal of Botany, Lancaster, v.87, n.6, p.783-792, June 2000.

GROTH, D. Caracterização morfológica das unidades de dispersão de cinco espécies invasoras. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.21, n.2, p.260-264, 1999.

- 
- GUIMARÃES, R.M.** Efeito do condicionamento osmótico sobre a germinação e desempenho de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob condições ideais e de estresse térmico, hídrico e salino. Lavras: ESAL, 1991. 78p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- GUIX, J.C.; RUIZ, X.** Toucans e thrushers as potencial dispersers of seed predatory weevil larvae in southeastern Brazil. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v.73, n.4, p.745-748, Apr. 1995.
- HONG, T.D.; ELLIS, R.H.** A protocol to determine seed storage behaviour. Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI), 1996. 55p. (Technical Bulletin, 1).
- JIANG, L.; KERMODE, A.R.** Role of desiccation in the termination of expression of genes for storage proteins. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, p.149-173, 1994.
- KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B.** Restauração, Conservação genética e Produção de Sementes. In: SIMPÓSIO "MATA CILIAR: ciência e tecnologia", 1999, Lavras. Anais... Belo Horizonte: UFLA/CEMIG, 1999. p.59-68.
- KANASHIRO, M.; HARRIS, ; SIMONS, A.** RAPD Diversity in Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* Humb. And Bonpl., Lecythidaceae). **Silvae Genética**, Frankfurt, v.46, n.4, p.219-224, 1997.
- LAM, V.** Relações de similaridade genética entre espécies de palmeiras com base no estudo de seus cariótipos. Jaboticabal: UNESP, 1998. 95p. (Dissertação de Mestrado).
- LEE, S.L.** Genetic Diversity of a Tropical Tree Species, *Shorea leprosula* Miq. (Dipterocarpaceae), in Malaysia: Implications for Conservation of Genetic Resources and Tree Improvement. **Biotropica**, St. Louis, v.32, n.2, p.213-224, June 2000.
- LOPES, C.R.; REIS, S.F.; FERREIRA, M.A.; MORETZSOHN, M.C.** Genetics of the genus *Acronomia* (Palmae). III Microgeographical genetic variability in isozyme frequencies. **Journal of Genetics and Breeding**, Rome, v.46, p.9-14, 1992.
- LORENZI, H.** Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1992.

- LORENZI, H. **Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas**. Nova Odessa, SP: . Plantarum, 1996. 320p.
- MAMEDE-COSTA, A. C.; GODOL, S. Consumption of *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) fruits, by black lion tamarins (*Leontopithecus chrysopygus*) in south-eastern Brazil. *Mammalia*, Paris, v.62, n.2, p.310-313, 1998.
- MELO, B. de Cultivo de embrião *in vitro* da Guarirobeira [*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.] Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Tese – Doutorado em Fitotecnia)
- MOREIRA, D. A. Caracterização morfológica, crescimento e produtividade de palmito de açazeiro (*Euterpe oleraceae* Mart.) na região nordeste paraense. Jaboticabal: UNESP, 1998. 97p. (Tese – Mestrado em Genética e Melhoramento de plantas).
- MORAES, P.L.R. de Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de espécies da família Lauraceae, no parque estadual de Carlos Botelho, São Paulo. Rio Claro, SP, 1993. 190p. (Dissertação – Mestrado em Biologia).
- NEGRÃO, M.O. Estrutura genética de populações naturais de *Syagrus romanzoffiana* (Arecaceae) do continente (Serra do Mar, S.P.) e da ilha dos Alcatrazes. Piracicaba: ESALQ/USP, 1999. 78p. (Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J.B. dos Genetic relationships among cultivars and lines of lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.120, n.2, p.300-336, Mar. 1995.
- OLIVEIRA, A. F. de Estrutura genética de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* (Desf) à partir de isoenzimas. Lavras: UFLA, 2000. 114p. (Tese – Mestrado em Manejo Ambiental)
- PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seeds Science Research*, Wallingford, v.9, n.1, p.13-37, Mar. 1999

- PINHEIRO, C.U.B. Germinação de sementes de palmeiras: revisão bibliográfica. Teresina: EMBRAPA, 1986. 102p.
- PIRES, I.E. Variabilidade genética em progênies de uma população de algaroba – *Prosopis juliflora* (S.W.) DC- da região de Soledade Paraíba. Piracicaba: ESALQ, 1984. 94p. (Dissertação – Mestrado em Engenharia de Alimentos).
- POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. Brasília, 1977. 289p.
- REIS, M.S. Distribuição e dinâmica da variabilidade genética em populações naturais de palmito (*Euterpe edulis* Martius). Piracicaba: ESALQ/USP, 1996. 144p. (Tese - Doutorado em Agronomia).
- RAJAGOPAL, J.; BASHYAM, L.; BHATIA, S. *et al.* Evaluation of Genetic diversity in the Himalayan Poplar Using RAPD Markers. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v.49, n.2, p.60-66, 2000
- SAWAZAKI, H.E.; BOVI, M.L.A.; SODEK, L. e COLOMBO, C.A. Divergência genética em palmeiras através de isoenzimas e RAPD. *Revista Brasileira de Biologia*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. v.58, n.4, p.681-691,1998.
- SZÜCS, P.; JUHÁSZ, I.K.; LÁNG, O.V. e BEDÔ, Z. Use of molecular markers for studying genetic diversity in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Journal of Genetics and Breeding*, Rome, v.54, p.25-33, 2000.
- TEIXEIRA, R. Diversidade em *Capsicum*: Análise Molecular, Morfoagronômica e Química. Viçosa: UFV, 1996. 81p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento).
- TONETTI, O.A.O. Tolerância à dessecação e Armazenamento de sementes de Canela-batalha (*Cryptocarya aschersoniana* – Mez.). Lavras: UFLA, 2000. 22p. (Monografia)
- VENCOVSKY, R. Tamanho efetivo populacional na coleta e preservação de germoplasma de espécies alógamas. IPEF, Piracicaba, v.35, p.79-84, 1987.
- VILELA, G.F. Variação em populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae): Fenológicas, Genéticas e de Valores nutricionais de frutos. Lavras: UFLA, 1998. 88p. (Dissertação – Mestrado em Produção Florestal).

VIRTUALHERBARIUM. Disponível em
<<http://www.virtualherbarium.com.br>>. Capturado em 07 de dezembro de
2000 [on line].

WALDSCHMIDT, A. M. Análise genética e morfométrica de populações de
Melipona quadrifasciata Lep. (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae).
Viçosa: UFV, 1999. 59p. (Tese - Doutorado em Genética e
Melhoramento).

WELBAUM, G.E.; BRADFORD, K.J.; YIM, K.O. et al. Biophysical,
physiological and biochemical processes regulating seed germination. *Seeds
Science Research*, Wallingford, v.8, n.2, p.161-172, June 1998.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with
arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v.18, n.24, p.7213-
7218, Dec. 1990.

WILLIAMS, J. K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. and
TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers as
genetic markers. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v.18, n.22, p.6531-
6535, Nov. 1990.

CAPÍTULO 2

1 RESUMO

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. **Divergência morfométrica entre matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman**. Lavras: UFLA, 2001. Cap.2, p.26-38 (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)*

O objetivo do presente estudo foi analisar a divergência morfométrica de frutos e diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman. As matrizes selecionadas para este estudo foram da região Sul de Minas Gerais. Para o estudo da divergência morfométrica, os cachos de frutos foram coletados no mesmo estágio visual de maturação, em junho de 1999, e submetidos às seguintes análises morfométricas: comprimento dos frutos (CF), comprimento dos diásporos (CD), diâmetro dos frutos (DF), diâmetro dos diásporos (DD), peso médio dos frutos da amostra (PF), peso médio dos diásporos da amostra (PD), peso total do cacho com os frutos (PC), peso total dos frutos do cacho (Pfc), espessura da polpa (EP), número de frutos no cacho (NF/c), número de frutos por quilograma (NF/Kg), número de diásporos por quilograma (ND/Kg). Com os dados padronizados de EP, CD, DD, PC e Pfc, realizou-se uma análise de agrupamento utilizando-se o programa MVSP 3.1 e construiu-se um dendrograma pelo método UPGMA. Verificou-se que as matrizes estudadas se agruparam por semelhança, sendo as matrizes 14 e 4 as mais similares, e a matriz 24, a mais divergente.

*Comitê Orientador: Antonio Claudio Davide-UFLA (Orientador), Dulcinéia de Carvalho-UFLA (Co-orientadora).

CHAPTER 2

2 ABSTRACT

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. **Morphometric divergence among seed trees of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman** . Lavras: UFLA, 2001. Chapter 2, p.26-38 (Dissertation – Masters Degree in Forest Engineering)*

The objective of the present study were to analyze the morphometric diversity of fruits and seeds of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman. The seed trees selected for this study were from the South region of the state of Minas Gerais. For the study of morphometric diversity, the bunches of fruits were collected in the same visual apprenticeship of maturation in June of 1999 and submitted to the following analyses morphometric: fruit length (CF), seed length (CD), fruit diameter (DF), seed diameter (DD), average weigh of the fruit sample (PF), average weigh of the seed sample (PD), total weigh of the bunch with fruits (PC), total weigh of the fruits from the bunch (PFc), pulp thickness (EP), number of fruits in the bunch (NF/c), number of fruits per kg (NF/Kg), seeds number per kg (ND/Kg). Grouping analysis was accomplished through the standardized data of EP, CD, DD, PC and PFc, using the MVSP 3.1 software and a dendrogram was constructed through UPGMA method. It was verified that the studied seed trees were grouped for similarity, using the seed trees 4 and 14 as the most similar to each other, and the seed tree 24 as the most different.

* Supervising Committee: Antonio Claudio Davide – UFLA (Main supervisor),
Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Co-supervisor)

3 INTRODUÇÃO

O gênero *Syagrus* é diversificado em número de espécies e de ecossistemas que ocupa. A espécie *Syagrus romanzoffiana* (Cham. Glassman), regionalmente conhecida como jerivá, tem se destacado bastante no paisagismo e em plantios para recomposição de áreas degradadas e matas ciliares, além disso, é também uma espécie muito promissora para extração de palmito (Bovi, 1993). Apesar de ser considerado amargo por grande parte das citações bibliográficas, Lam (1998) afirma que a espécie possui palmito doce. Certamente esta contradição advém da variação existente na espécie, já que o jerivá tem ampla área de ocorrência e uma significativa plasticidade quanto à fertilidade do solo, umidade e temperatura.

As variações quanto à forma e tamanho de frutos de palmeiras, foram relatadas por Bondar (1964), para o babaçu. Para o jerivá, não é diferente. Em função da área de ocorrência, verificam-se variações na forma dos frutos, unidades de dispersão (diásporos) e estipe (Lorenzi, 1996). Porém, pouco se sabe da influência dessas variações na espécie, mesmo porque o jerivá, como muitas das espécies nativas, é muito pouco estudado e ainda carece de informações. Para a caracterização e diferenciação de frutos, diásporos e sementes de espécies florestais, acredita-se que a morfometria seja uma técnica que pode apresentar bons resultados, uma vez que, para algumas espécies florestais, as características morfológicas de flores e, ou de frutos são tão marcantes que podem definir a diferenciação e separação de espécies muito próximas (Moraes, 1993). Um exemplo de utilização desta técnica é na entomologia, através da qual se tem alcançado sucesso e informações importantes sobre variação geográfica, herança e influências ambientais em populações de abelhas (Waldschmidt, 1999).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi agrupar matrizes mais similares de jerivá da região de Lavras, MG, utilizando-se a morfometria de frutos e diásporos e, com isso, fornecer informações para outras pesquisas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização dos localidades de coleta dos frutos e condução dos experimentos

Frutos de *Syagrus romanzoffiana* foram colhidos na região de Lavras, Itumirim, Ribeirão Vermelho, Cana Verde, Nazareno e Candeias - Minas Gerais. Os dados referentes à latitude, longitude, altitude, temperatura anual média, temperatura anual mínima, temperatura anual máxima e precipitação anual média, para cada localidade, encontram-se na Tabela 2.1.

TABELA 2.1. Caracterização das localidades de coleta de frutos de *Syagrus romanzoffiana*

Localidade	Latitude	Longitude	Alt. (m)	T _{máx} (°C)	T _{med.} (°C)	T _{mín.} (°C)	P _p (mm)
Lavras	21°14'30"S	45°00'10"W	996,2	26,4	18,5	11,6	996,2
Itumirim	21°19'02"S	44°52'14"W	1005,5	27,8	21,2	13,5	1423
Candeias	20°46'01"S	45°16'35"W	978,5	-	20,0	-	1475
Cana Verde	21°01'16"S	45°10'55"W	947,5	27,8	21,2	13,5	1830
Nazareno	21°08'00"S	44°16'00"W	1031	26,2	20,7	13,9	1700
Ribeirão Vermelho	21°11'00"S	45°02'54"W	847	27,8	21,2	13,5	1830

Fonte: (Brasil, 1992; Geominas, 2001)

Os estudos foram realizados no período de junho de 1999 a janeiro de 2000, no Laboratório de Sementes Florestais e no Viveiro Florestal do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras.

4.2 Coleta dos frutos

Foram coletados frutos de 24 palmeiras com bom estado de sanidade e com disponibilidade de cachos com frutos maduros, com coloração amarelo-alaranjada. Os cachos foram colhidos com o mesmo estágio visual de maturação.

Utilizaram-se, para esta operação, escada e podão. A identificação das matrizes foi feita com etiquetas de alumínio fixadas no estipe. Os cachos foram etiquetados e transportados em sacos de aniagem até o Galpão de Beneficiamento do Laboratório de Sementes Florestais da Universidade Federal de Lavras. A Tabela 2.2 apresenta a relação das matrizes e a respectiva localidade de coleta.

TABELA 2.2. Relação das matrizes e suas respectivas localidades de coleta

Matriz (es)	Origem
1, 2 e 24	Lavras
3	Nazareno
4, 5, 6 e 7	Itumirim
8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14	Candeias
21, 22 e 23	Cana Verde
15, 16, 17, 18, 19 e 20	Ribeirão Vermelho

4.3 Morfometria dos frutos e diásporos

A pesagem dos cachos inteiros e dos frutos, individualmente, foi realizada utilizando-se balança da marca Filizola, modelo L, com capacidade de até 15 kg. Uma amostra de quarenta frutos de cada matriz foi retirada, aleatoriamente, para a caracterização morfométrica. Em balança de precisão da marca Marte, modelo Al 200 e sensibilidade de 0,001g, estas amostras foram pesadas antes e depois da despolpação. Para a despolpação dos frutos, utilizou-se uma faca. A partir destes dados de peso, estimou-se o número de frutos por

cacho para cada matriz, o peso médio de fruto e de diásporo por amostra e o número de frutos e de diásporos (endocarpo mais semente) por quilograma.

Medições foram realizadas nos quarenta frutos e diásporos de cada amostra. Os caracteres avaliados foram: comprimento dos frutos (CF), comprimento dos diásporos (CD), diâmetro dos frutos (DF), diâmetro dos diásporos (DD), peso médio dos frutos da amostra (PF), peso médio dos diásporos da amostra (PD), peso total do cacho com os frutos (PC), peso total dos frutos do cacho (PFc), espessura da polpa (EP), número de frutos no cacho (NF/c), número de frutos por quilograma(NF/kg), número de diásporos por quilograma (ND/kg).

As determinações de comprimento (sentido do eixo do fruto e, ou diásporo) e diâmetro (maior largura perpendicular ao eixo do fruto e, ou diásporo). foram feitas por leitura direta, em cada unidade da amostra, com o auxílio de paquímetro, e as medidas tomadas em milímetros. A partir destes dados, obteve-se a relação altura/diâmetro e a espessura da polpa.

4.4 Análises estatísticas

A análise de agrupamento foi realizada pelo método hierárquico aglomerativo da média aritmética entre pares não ponderados, UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Average*). Para tanto, utilizaram-se os dados padronizados de EP, CD, DD, PC e PFc. A representação simplificada das distâncias euclidianas dos dados morfométricos foi feita na forma de dendrograma. O programa utilizado foi o Multivariate Statistical Package (MVSP 3.1).

Foram utilizados, também, parâmetros de estatística tais como média e desvio para as características morfométricas avaliadas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A formação de grupos de matrizes semelhantes, com base em dados morfométricos de frutos e diásporos de 24 matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) está apresentada pelo dendrograma, na Figura 1.

Pode-se verificar que houve formação de sete grupos distintos, adotando-se uma distância euclidiana de 2,5. Quatro grupos apresentaram somente uma matriz, enquanto os demais apresentaram de 4 a 10 matrizes em sua constituição. Na Tabela 2.3, tem-se a distribuição das matrizes nos grupos e suas respectivas origens.

TABELA 2.3. Constituição dos grupos formados pelo agrupamento de matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham) Glassman, pelo método UPGMA

Grupo	Matriz (es)	Origens
I	24	L
II	20	RV
III	22	CV
IV	21, 12, 18 e 7	CV, C, RV e I
V	9	C
VI	5, 11, 14, 4, 8 e 2	I, C, C, I, C e L
VII	23, 17, 15, 6, 3, 19, 16, 13, 10 e 1	CV, RV, RV, I, N, RV, RV, C, C e L

Em que: C=Candeias, CV=Cana Verde, I=Itumirim, L=Lavras, N=Nazareno e RV=Ribeirão Vermelho.

Observa-se que a matriz 24 (grupo I) encontra-se totalmente isolada, mostrando sua alta diferença em relação às demais. A matriz 20 (grupo II) também apresenta alta diferença, porém tende a se agrupar em distâncias euclidianas inferiores à da matriz 24. Já a matriz 22, apesar de estar isolada no grupo III, está muito próxima do grupo IV. Neste último grupo citado, cada

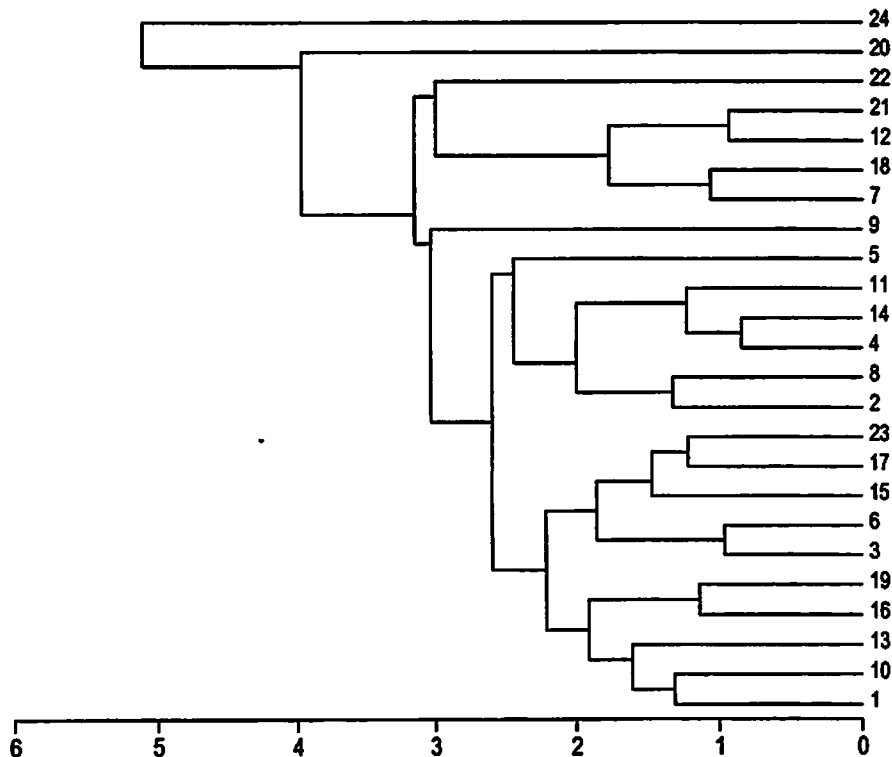


FIGURA 2.1. Gráfico de agrupamento das 24 matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), com base nos dados morfométricos, pelo método UPGMA.

integrante é de uma origem diferente. Isso mostra que mesmo sendo matrizes relativamente distantes geograficamente, apresentam similaridades. Ainda vale ressaltar a proximidade das matrizes 12 e 21, que estão entre os pares mais próximos do grupo. Na seqüência, tem-se o quinto grupo, formado pela matriz 9,

que, por sua vez, apresenta ligação com os grupos VI e VII. O grupo VI apresenta dois subgrupos principais, sendo um deles composto pela matriz 5 e o outro pelas matrizes 11, 14, 4, 8 e 2. É nesse segundo subgrupo que se encontram as duas matrizes mais similares de todo o conjunto, que são a matriz 14 e a 4. Verifica-se, mais uma vez, que matrizes distantes geograficamente se agrupam pela morfometria. Por último, tem-se o grupo VII, que também apresenta dois nítidos subgrupos: o primeiro deles, composto pelas matrizes 23, 17, 15, 6 e 3, essas duas últimas bastante similares; e o outro subgrupo é formado pelas matrizes 19, 16, 13, 10 e 1. Este grupo é constituído pelo maior número de matrizes, vindas de diferentes origens.

Como se pode observar, as matrizes não se agruparam por origem, ou seja, as condições ambientais exercem pouca influência na variação das características morfológicas, Groth (1997).

A variação existente entre as matrizes, pode ser melhor visualizada, quando se comparam os valores da Tabela 5.2 com os resultados da análise de agrupamento. Um exemplo é a variação encontrada para as matrizes 14 e 4, as mais similares desse estudo. Pode-se observar que seus valores são bastante similares, o que proporcionou tal proximidade.

Podemos verificar que algumas matrizes se destacam com valores máximos e mínimos obtidos (Tabela 2.4) para as características analisadas. As matrizes 20 e 8, 22 e 9 e 11 e 23 apresentaram os menores e maiores valores para “espessura de polpa”, “comprimento de diásporo” e “diâmetro de diásporo”, respectivamente. Já para as características “peso de cacho” e “peso total de frutos do cacho”, as matrizes 12 e 24 apresentaram os menores e maiores valores, respectivamente. As características “número de frutos por cacho”, “número de frutos por quilograma” e “número de diásporos por quilograma”, apresentaram altas amplitudes de variações. A matriz 7 se destacou com os maiores números de frutos e diásporos por quilograma. Já a matriz 24

apresentou o maior número de frutos por cacho, surpreendendo com valor superior a 6000.

TABELA 2.4 Dados morfométricos médios de frutos e diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman.

Matriz	EP	CD	DD	CD/DD	PC	PFc	NF/c	NF/Kg	ND/Kg
1	2,05	24,55	12,95	1,90	10,42	9,00	1806,72	200,75	480,03
2	3,44	22,59	12,93	1,75	19,55	17,76	2943,44	165,73	540,39
3	2,85	25,40	12,80	1,98	19,34	14,66	2778,24	189,51	485,30
4	3,30	23,30	12,75	1,83	8,84	7,70	1460,48	189,67	559,59
5	2,72	19,60	11,61	1,69	15,30	13,50	3322,67	246,12	654,68
6	2,97	25,90	13,80	1,88	17,02	15,59	2370,02	152,02	401,13
7	2,61	21,18	11,22	1,89	3,32	2,19	585,71	267,45	684,29
8	3,81	22,50	12,29	1,83	14,00	12,90	2137,04	165,66	560,78
9	3,56	26,46	15,22	1,74	13,31	12,82	1439,52	112,29	333,08
10	2,13	23,70	12,44	1,91	16,70	14,20	2806,78	197,66	545,16
11	3,31	24,09	11,14	2,16	10,92	9,18	1837,20	200,13	614,91
12	2,33	21,08	12,73	1,66	2,54	1,90	309,74	163,02	504,57
13	1,90	22,30	14,01	1,59	11,90	10,84	1820,91	167,98	408,30
14	3,09	23,22	11,87	1,96	8,51	6,29	1239,37	197,04	576,25
15	3,26	22,34	14,50	1,54	22,60	19,10	2541,89	133,08	369,13
16	2,98	21,26	13,96	1,52	14,00	13,40	2185,70	163,11	469,83
17	2,61	23,73	13,90	1,71	18,80	17,20	2991,25	173,91	416,02
18	2,76	20,87	11,71	1,78	8,40	6,30	1387,44	220,23	665,46
19	2,80	22,74	13,43	1,69	11,20	9,50	1709,89	179,99	426,20
20	1,05	25,73	13,59	1,89	5,50	4,38	1084,37	247,57	399,04
21	2,50	20,66	13,75	1,50	3,04	1,90	379,34	199,65	447,23
22	3,63	18,79	14,50	1,30	9,60	6,80	1083,67	159,36	448,83
23	2,69	23,47	15,28	1,54	18,80	15,20	2021,96	133,02	329,52
24	3,14	20,08	12,07	1,66	35,80	31,30	6117,64	195,45	625,05
Média	2,81	22,73	13,10	1,75	13,31	11,40	2015,04	184,18	497,70
Desvio	0,26	2,04	1,18	0,19	7,35	6,62	1201,69	36,95	104,80

Em que (CD)= comprimento dos diásporos (mm), (DD)= diâmetro dos diásporos (mm), (PC)= peso total do cacho com os frutos (kg), (PFc)= peso total dos frutos do cacho (kg), (EP)= espessura da polpa (mm), (NF/c)= número de frutos no cacho, (NF/kg)= número de frutos por quilograma e (ND/kg)= número de diásporos por quilograma.

6 CONCLUSÕES

Foram encontradas diferenças morfométricas entre frutos e diásporos das 24 matrizes de jervá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) estudadas.

O uso da morfometria permitiu o agrupamento das matrizes mais similares, formando sete grupos distintos.

As matrizes não se agruparam conforme a origem de coleta dos frutos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONDAR, G. *Palmeiras do Brasil*. São Paulo: Instituto de Botânica, 1964. 159p.
- BOVI, M.L.A. Híbridos do palmito In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE PALMITO, 1993, Piracicaba. Anais... Piracicaba: CALQ/Departamento de Agricultura, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. Secretaria nacional de irrigação. Departamento nacional de meteorologia. Normais climatológicas – 1961-1990. Brasília, 1992. 84p.
- GEOMINAS. Cidades. Disponível em: <http://www.geominas.mg.gov.br>. [online] Acesso em 29 mai.2001.
- GROTH, D. Caracterização morfológica das unidades de dispersão de dez espécies invasoras da família Poaceae. Informativo ABRATES, Curitiba, v.7, n.1/2, p.196, Jul./ago. 1997.
- LAM, V. Relações de similaridade genética entre espécies de palmeiras com base no estudo de seus cariótipos. Jaboticabal: UNESP, 1998. 95p. (Dissertação de Mestrado).
- LORENZI, H. *Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas*. Nova Odessa, SP: Plantarum, 1996. 320p.
- MORAES, P.L.R. de Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de espécies da família Lauraceae, no Parque Estadual de Carlos Botelho, São Paulo. Rio Claro, SP. 1993. 190p. (Dissertação – Mestrado em Biologia).
- WALDSCHMIDT, A. M. Análise genética e morfométrica de populações de *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hymenoptera: Apidae, Meliponinae). Viçosa: UFV, 1999. 59p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento).

CAPÍTULO 3

1 RESUMO

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. *Divergência genética entre matrizes de Syagrus romanzoffiana (Cham.) Glassman, por marcador RAPD.* Lavras: UFLA, 2001. Cap. 3, p.39-58 (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal) *

O objetivo do presente estudo foi analisar a diversidade genética entre matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman por marcador molecular RAPD. As matrizes selecionadas para este estudo foram da região Sul de Minas Gerais. A extração do DNA foi realizada de folíolos coletados de 24 matrizes de jerivá e o procedimento utilizado foi o de Nienhuis et al. (1995), com adequações. A amplificação do DNA foi realizada com base no método descrito por Williams et al. (1990), usando primers de 10 bases de seqüência arbitrária, com modificações. Os produtos de amplificação foram separados em géis de agarose 1,0% e posteriormente corados com brometo de etídio, visualizados e fotografados com filme Polaroid 667. A análise dos géis possibilitou a formação de uma matriz de zero e um, que foi usada para estimativa de similaridade entre os genótipos utilizando o programa NTSYS 1. A partir da distância de 1 menos a medida de similaridade, foi construída uma matriz de dissimilaridade. Em seguida, obteve-se um dendrograma pelo método UPGMA utilizando o programa Statistica 5.0. Com os resultados obtidos, pode-se afirmar que a utilização de marcador molecular RAPD foi eficiente na discriminação das matrizes mais divergentes, separando-as em quatro grupos. A distância média entre as matrizes foi de 29%.

*Comitê Orientador: Antonio Claudio Davide-UFLA (Orientador), Dulcinéia de Carvalho-UFLA (Co-orientadora).

CHAPTER 3

2 ABSTRACT

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. Genetic divergence among seed trees of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman through RAPD markers. Lavras: UFLA, 2001. Chapter 3, p.39-58 (Dissertation – Masters Degree in Forest Engineering)*

The objective of the present study was to analyze the genetic divergence among seed trees of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman through RAPD markers. The seed trees selected for this study were from the South region of the state of Minas Gerais. DNA was extracted from leaflets collected from 24 seed trees using a modified procedure of Nienhuis et al. (1995). DNA amplification was based on a modified procedure of Williams et al. (1990), using primers of 10 bases of arbitrary sequence. The amplification products were separated in agarose gel, dried, visualized and photographed. The analysis of the gels facilitated the formation of a matrix of zero and one, that was used for similarity estimation among the genotypes using the NTSYS 1.8 software. A dissimilarity seed tree was built starting from the distance of 1 minus the similarity measurement. A dendrogram was then obtained using the UPGMA method and the Statística 5.0 software. The results show that use of RAPD markers was efficient in the discrimination of the seed trees that were most different, allowing their separation in four groups. The average distance among the seed trees was of 29%.

* Supervising Committee: Antonio Claudio Davide – UFLA (Main supervisor), Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Co-supervisor)

1 INTRODUÇÃO

As palmeiras têm sido utilizadas sob vários aspectos pelo homem, suprimindo diversas necessidades, como fonte energética na dieta alimentar e bebidas, auxiliando na construção de casas e utensílios caseiros, na arborização urbana, entre outros usos. A palmeira jervá apresenta relevante importância regional, porém ainda tem sido pouco estudada.

Por ser uma espécie usada para recomposição de paisagens, e principalmente nos programas de recuperação de áreas degradadas e matas ciliares em Minas Gerais, o estudo da diversidade em palmeiras é importante, uma vez que favorece o conhecimento da sua estrutura genética e aumenta a eficiência na seleção de palmeiras produtoras de sementes e também a probabilidade de conservação da diversidade das mesmas.

A caracterização das árvores produtoras de sementes, tanto fenotípica como genotipicamente, é importante para o conhecimento de sua estrutura genética e quantificação das características ligadas ao processo produtivo (Barbosa, 1997), além de ser importante na proteção da espécie.

Para tal propósito, é necessária a utilização de técnicas alternativas como complemento aos estudos fenotípicos. A avaliação fenotípica por si só pode gerar informações pouco seguras, já o uso de marcadores moleculares garante eficiência e maior segurança na detecção de polimorfismo.

O uso de marcadores moleculares de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA ou DNA polimórfico amplificado ao acaso), técnica baseada na reação da polimerase em cadeia (PCR), apresenta vantagens como a simplicidade, rapidez, baixo custo, confiabilidade, utilização de pouca quantidade de DNA e geração de grande polimorfismo. Certamente por isso esta técnica tem sido uma das mais aplicadas nos últimos anos para conhecer a diversidade genética em populações de espécies arbóreas.

Este trabalho teve como objetivo detectar a divergência genética entre matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), utilizando marcador molecular RAPD, a fim de fornecer suporte teórico para outras pesquisas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização das localidades das matrizes e coleta das folhas

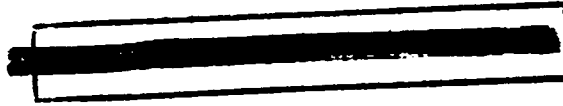
Para este estudo de divergência genética, foram avaliadas 22 matrizes de jerivá da região do Sul de Minas Gerais. Na Tabela 3.1, tem-se a relação das matrizes e suas respectivas localidades de coleta.

TABELA 3.1. Relação das matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) e suas respectivas origens.

Matriz (es)	Origem
1, 2 e 24	Lavras
3	Nazareno
4, 5, 6	Itumirim
8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14	Candeias
21, 22 e 23	Cana Verde
16, 17, 18, 19 e 20	Ribeirão Vermelho

Os dados referentes à latitude, longitude, altitude, temperatura anual média, temperatura anual mínima, temperatura anual máxima e precipitação anual média, para cada localidade, encontram-se na Tabela 2.1 do capítulo 2.

As folhas utilizadas para a extração do DNA foram coletadas escalando-se as árvores com o auxílio de bicicleta florestal e serrote de poda. Alguns folíolos foram retirados na parte central da folha, utilizando-se uma tesoura de poda, e colocados em sacos plásticos, os quais foram identificados com etiqueta de papel e mantidos em caixa de isopor com gelo. Em seguida, foi realizado o transporte dessas amostras até o Laboratório de Melhoramento Florestal (LMF), armazenando-as em freezer (-18 °C).



O experimento foi realizado no Laboratório de Melhoramento Florestal (LMF) do Departamento de Ciências Florestais (DCF) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

4.2 Preparo das amostras para extração do DNA

Os folíolos foram lavados em água destilada, secos com papel toalha e cortados em pedaços de aproximadamente 1 cm² para facilitar a maceração. Para cada matriz, pesaram-se 2,0 g de folíolo (balança Marte modelo L 200), que foram colocados em envelopes de papel alumínio, devidamente identificados e mantidas no gelo até a extração.

4.3 Extração de DNA

A extração de DNA foi feita de acordo com o procedimento descrito por Nienhuis et al. (1995), com adequações. A maceração foi feita utilizando material vegetal (2,0g) com areia lavada (1,0g) e PVPP- polivinilpirrolidona (0,01). A utilização do PVPP visa retardar a oxidação de metabólitos secundários. O material foi macerado e adicionaram-se 10 ml de tampão de extração [2% de CTAB; 100 mM de tris (pH = 8,0); 20 mM de EDTA (pH = 8,0) e 1,4 M de NaCl]. O macerado foi colocado em tubos de ensaio, os quais foram incubados em banho-maria a 65°C, por 60 minutos.

Após o resfriamento, realizou-se a primeira extração dos ácidos nucléicos com 10 ml da mistura de clorofórmio - álcool isoamílico (24:1). Os tubos foram homogeneizados por agitação, cerca de 50 vezes, para a obtenção de uma emulsão, e posteriormente foram centrifugadas a 10.000 rpm, a 4°C, em centrífuga Hitachi (modelo Himac CR 21), por 30 minutos. O sobrenadante foi

pipetado, colocado em novo tubo, ao qual foram adicionados 700 µl de solução 10% CTAB, 1,4 M NaCl. Novamente, os tubos foram agitados lentamente e acrescentaram-se 10 ml de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1). Em seguida, os tubos foram centrifugados por 10 minutos, a 10.000 rpm, a 4°C. A fase aquosa superior dos tubos foi transferida para novos tubos contendo 5 ml de propanol gelado. Estes tubos foram deixados no freezer por uma noite para precipitação dos DNA's.

Os DNA's precipitados foram recolhidos em "eppendorfs", os quais foram centrifugados (centrífuga Hermle Z 323k) novamente por 10 minutos a 7.000 rpm. Posteriormente, retirou-se o excesso de propanol, adicionaram-se 100µl de EtOH (70%) e os "eppendorfs" foram deixados em repouso, em temperatura ambiente, por 10 minutos. Após este período, realizou-se outra centrifugação por 10 minutos, a 7.000 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi retirado e o pellet foi seco em capela de fluxo laminar por aproximadamente 3 horas.

Após a secagem, foi adicionado TE (70µl) [1mM Tris e 0,1 mM EDTA]. para ressuspensão do DNA e, em seguida, realizou-se a quantificação.

4.4 Quantificação de DNA

A quantificação da concentração de DNA das amostras foi determinada através de um fluorímetro Hoefffer DQ 200. Foram utilizados, para cada amostra, 2µl de DNA e 2 ml de tampão TNE 10x [1,3% Tris base; 0,37% Na₂EDTA 2 H₂O; 11,68% NaCl - pH = 7,4]. Com base nessa quantificação, foram feitas diluições em tampão TE.

4.5 Amplificação do DNA

A amplificação foi baseada em método descrito por Williams et al. (1990) usando “primers” de 10 bases de sequência arbitrária, com algumas modificações, através do qual as reações foram otimizadas para a obtenção de produtos de amplificação de melhor qualidade (Levi, Rowland e Hartung, 1993 e Silva, 1996).

Em cada reação, utilizaram-se 3,0 μL de DNA de concentração 10 ng/ μL e mais 10,0 μL do tampão PCR (5,29 μL de água pura, 1,2 μL do tampão otimizado de reação – Pharmacia, 0,96 μL de dNTP, 2,4 μL de primer e 0,15 μL de Taq polimerase), obtendo-se 13 μL no final de reação. O tampão otimizado era composto de 500 μL da mistura (1ml de tampão de reação - Pharmacia, 160 μL de BSA, 5 μL de MgCl_2 (1mM) e 495 μL de água destilada. As amplificações foram realizadas em Termociclador GeneAmp PCR System 9600, programado para um primeiro ciclo a 94°C, por 2 minutos, 45 ciclos com temperatura de desnaturação a 94°C, por 15 segundos, temperatura de anelamento a 42°C por 30 segundos e temperatura de extensão a 72°C, por 2 minutos. Por último, foi acrescentado a estes ciclos um ciclo final de manutenção a 72°C, por 5 minutos. Para a geração de polimorfismo, foram utilizados 28 “primers”, adquiridos junto a “Operon Technologies”, Califórnia – Estados Unidos (Tabela 3.2).

TABELA 3.2. Oligonucleotídeos utilizados na amplificação de DNA de 22 matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* Cham. Glassman) e suas respectivas seqüências.

Oligonucleotídeo	Seqüência 5' → 3'
OPA-08	GTGACGTAGG
OPA-09	GGGTAACGCC
OPA-19	CAAACGTCGG
OPA-20	GTTGCGATCC
OPB-02	TGATCCCTGG
OPB-03	CATCCCCCTG
OPB-04	GGACTGGAGT
OPB-06	TGCTCTGCC
OPB-07	GGTGACGCAG
OPB-08	GTCCACACGG
OPB-14	TCCGCTCTGG
OPB-19	ACCCCCGAAG
OPB-20	GGACCCTTAC
OPJ-01	GGAGGGTGTT
OPJ-04	CTCAGTGTCC
OPJ-05	GTCCGGAGTG
OPJ-07	GGCGGATAAG
OPJ-16	CTGGACGTCA
OPJ-18	GACTGCCTCT
OPJ-19	GTGACCGAGT
OPJ-20	TCGCATCCCT
OPN-01	CACAGCGACA
OPN-02	TTCAGGGCAC
OPN-04	CAAAGCGCTC
OPN-05	ACTGAACGCC
OPN-06	GAGACGCACA
OPM-02	ACAACGCCTC
OPM-03	GGGGGATGAG

4.6 Eletroforese

Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese, em gel de agarose 1,0%, em tampão TBE (0,045 M Tris-Borato e 0,001M EDTA), com ajuste para corrida de 60V e 180 minutos. Posteriormente os géis foram corados com brometo de etídio (0,5 µl/ml) e visualizados em transiluminador de luz ultravioleta Bio-Rad; em seguida, os mesmos foram fotografados utilizando filme Polaroid 667.

4.7 Análise dos dados moleculares

4.7.1 Obtenção das distâncias genéticas e agrupamento

Na avaliação dos géis, cada banda foi considerada como um único caráter, em que a presença em um genótipo foi designada por um (1) e a ausência em outro genótipo por zero (0), o que possibilitou a construção de uma matriz de zero e um.

A estimativa de similaridade entre os genótipos foi feita através do programa NTSYS (Slice, Kim e Walker, 1994). A estimativa da similaridade genética (sg_{ij}) entre cada par de genótipos foi efetuada pelo coeficiente de Jaccard. As similaridades foram transformadas para medidas de distâncias genéticas (dg_{ij}) pela seguinte equação:

$$dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$$

A partir da distância de 1 menos a medida de similaridade foi construída uma matriz de dissimilaridade. Esta foi utilizada para construir um dendrograma, obtido pelo método hierárquico aglomerativo da média aritmética entre pares não ponderados (UPGMA - *Unweighted Pair-Group Method Average*),

desenvolvido por Sokal e Michener (1958), utilizando-se o programa STATISTICA, versão 5.0 (Slice, Kim e Walker, 1994).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As quantidades médias de DNA por matriz podem ser observadas através da Figura 3.1. A média geral obtida foi de 1683,814 ng/ml de DNA. Observa-se grande variação nas quantidades de DNA nas diferentes matrizes.

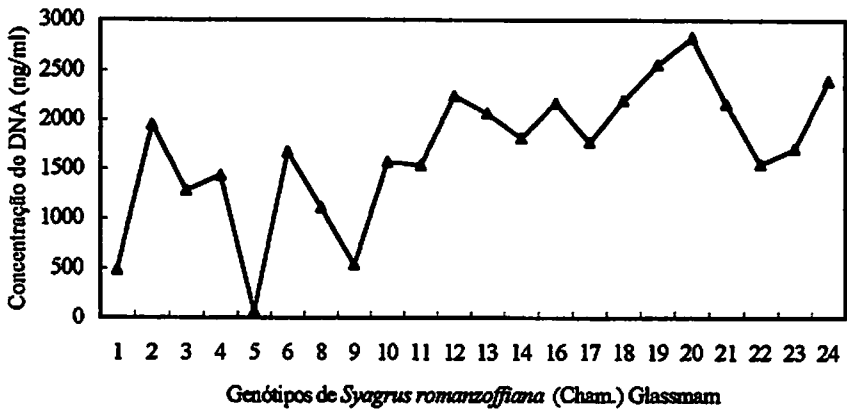


FIGURA 3.1. Quantificação do DNA extraído das amostras referentes aos 22 genótipos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman estudados.

Trinta oligonucleotídeos foram utilizados para analisar os padrões de amplificação. Estes geraram pelo menos uma banda polimórfica entre os genótipos analisados. Obteve-se um total de 122 produtos de amplificação ou bandas. Destas, 100 bandas foram polimórficas e 22 monomórficas. Em termos percentuais, tem-se que as bandas polimórficas corresponderam a 81,97 %, e as monomórficas, a 18,03 %. A média de bandas polimórficas por oligonucleotídeo foi de 3,13, sendo variável de acordo com o oligonucleotídeo. Para o OPN-02, obteve-se apenas uma banda polimórfica, enquanto o OPM-03 apresentou oito bandas. Um exemplo de polimorfismo entre as matrizes pode ser observado pela

amplificação utilizando o oligonucleotídeo OPA-08 (Figura 3.2). O polimorfismo pode estar relacionado com a característica reprodutiva da espécie (alogamia) e também por ser uma espécie adaptável a diversas condições ambientais. Esta alta variação genética é comumente observada para espécies de florestas tropicais (Lee, 2000).

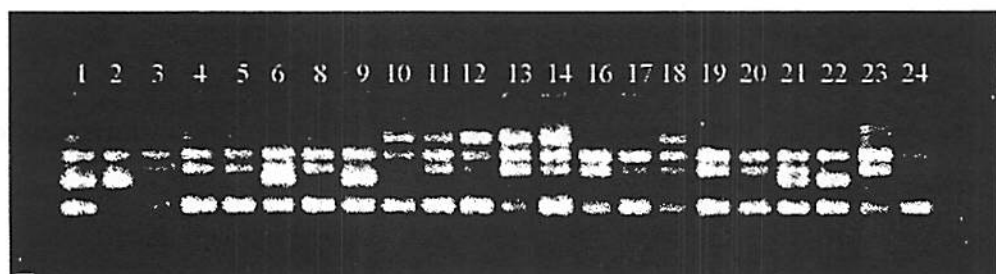


FIGURA 3.2. Eletroforese em gel de agarose de fragmentos de DNA de folhas de 22 matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* Cham. Glassman), obtida com o uso do oligonucleotídeo OPA-08.

Para as bandas monomórficas, a média foi de 0,73, variando de zero para os oligonucleotídeos OPN-5, OPB-6, OPB-2, OPB-3, OPJ-4, OPJ-5, OPB-14, OPB-15, OPB-19, OPB-20, OPJ-18, OPJ-1, OPJ-7, OPM-2, OPM-3 E OPX-20 até três para o OPN-6.

Para efeito de análise dos resultados, foram considerados 28 oligonucleotídeos, já que dois dos trinta não amplificaram algumas amostras de DNA, impossibilitando a obtenção de dados para a formação da matriz de zero e um. Com isso, as análises se basearam em 92 bandas polimórficas (Tabela 3.3). Os oligonucleotídeos mostrados nesta tabela apresentam um percentual médio de 82,9% de bandas polimórficas. Esse número expressa um alto polimorfismo, que é comum para as espécies ou populações pouco manipuladas, como é o caso do jerivá. A pupunha (*Bactris gasipaes*), em um estudo desenvolvido por Barbosa (1997), também apresentou alto polimorfismo. A autora caracteriza a

grande variabilidade em função de fatores como a ampla distribuição geográfica da espécie, a baixa densidade de populações naturais e o sistema reprodutivo, fatores esses que podem caracterizar também a diversidade do jerivá. Também para o gênero *Eucalyptus*, o qual tem sido geneticamente melhorado nos últimos anos, o polimorfismo vem sendo facilmente acessado, com a utilização de poucos oligonucleotídeos. Como exemplo tem-se o trabalho de Xavier (2001), que utilizou 28 oligonucleotídeos para amplificar 174 fragmentos de DNA, sendo 149 (85,6%) polimórficos. Ao contrário disso, têm-se as espécies anuais que são mais melhoradas geneticamente e, por isso, apresentam níveis mais baixos de polimorfismo.

TABELA 3.3 Número total de bandas e número de bandas polimórficas geradas pelos oligonucleotídeos em 22 genótipos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman.

Oligonucleotídeo	Nº de bandas amplificadas	Nº de bandas polimórficas
OPA.08	5	3
OPA.09	4	3
OPA.19	5	4
OPA.20	3	1
OPB.02	4	4
OPB.03	3	3
OPB.04	4	3
OPB.06	4	4
OPB.07	3	2
OPB.08	6	4
OPB.14	2	2
OPB.19	2	2
OPB.20	3	3
OPJ.01	4	4
OPJ.04	6	6
OPJ.05	5	5
OPJ.07	6	6
OPJ.16	3	2
OPJ.18	2	2
OPJ.19	3	2
OPJ.20	4	2
OPN.01	4	3
OPN.02	3	1
OPN.04	4	2

“continua”...

“Tabela 3.3, Cont.”

OPN.05	4	4
OPN.06	5	2
OPM.02	5	5
OPM.03	8	8

A partir das bandas polimórficas, construiu-se uma matriz de distâncias genéticas (Tabela 3.4). A distância média encontrada foi de 46%, com amplitude de 17 a 65 %. Para pupunha, foram detectados valores equivalentes a esses, sendo a amplitude de 4 a 60% (Barbosa, 1997).

A maior similaridade foi observada entre as matrizes 20 e 16 (83%) e a menor entre os genótipos 12 e 24 (35%). É interessante ressaltar que as matrizes 20 e 16, ou seja, as mais próximas geneticamente, são provenientes da mesma região (Ribeirão Vermelho), enquanto os mais divergentes, os genótipos 12 e 24 são genótipos mais distantes geograficamente, ficando um em Lavras (24) e outro em Candeias (12).

O agrupamento das matrizes, realizado pelo método UPGMA, está apresentado na Figura 3.3. Observa-se a separação das matrizes em quatro grupos distintos. A denominação e a respectiva composição dos grupos estão apresentadas na Tabela 3.5.

O grupo I foi formado por 14 matrizes, apresenta a formação de 3 subgrupos e nestes se pode observar a tendência de separação por local de coleta. O subgrupo IA incluiu 4 matrizes, todas de Ribeirão Vermelho e observa-se que este subgrupo apresentou as duas matrizes mais similares. O subgrupo IB incluiu 8 matrizes, sendo 5 de Candeias, 2 de Itumirim e 1 de Nazareno; e o subgrupo IC incluiu 2 matrizes, sendo as duas de Lavras.

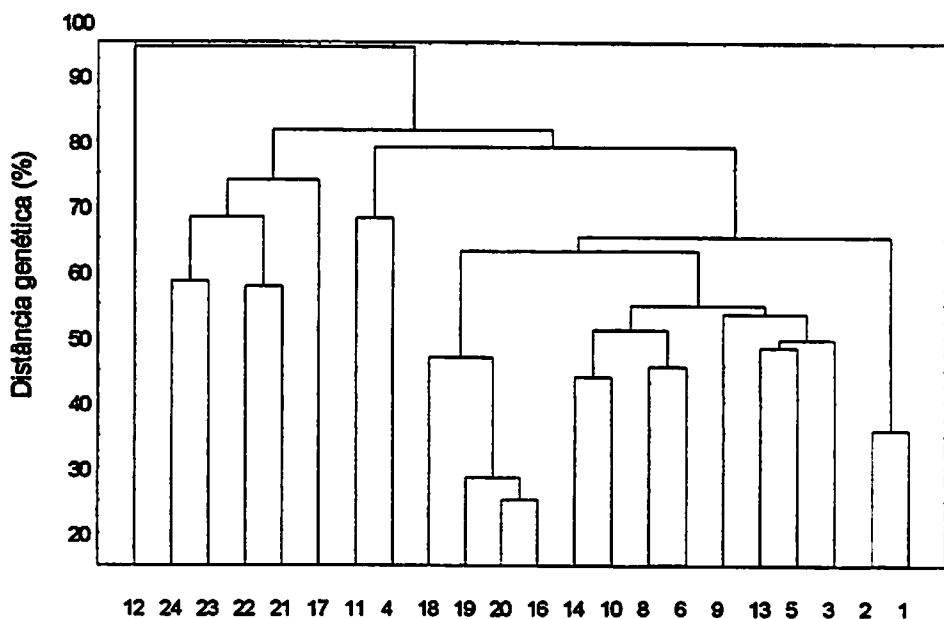


FIGURA 3.3. Gráfico de agrupamento das 22 matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman), com base nas distâncias genéticas obtidas com marcadores RAPD, pelo método UPGMA.

O grupo II foi composto por apenas 2 matrizes, sendo uma de Candeias e outra de Itumirim. Observa-se que há uma tendência de agrupamento de matrizes dessas duas localidades, tanto neste grupo como no subgrupo IB. Isso também foi observado pelos resultados do capítulo anterior, com base em dados morfométricos de frutos e diásporos.

O grupo III foi formado por 5 matrizes, sendo 3 de Cana Verde (21,22 e 23), 1 de Lavras (24) e 1 de Ribeirão Vermelho (17). Neste grupo, a matriz 17 foi a mais divergente, isolando-se das outras três.

O grupo IV, e último, apresentou somente a matriz 12, de Candeias, que ficou totalmente isolada das restantes.

TABELA 3.4. Grupos de matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, formados pela análise de agrupamento obtida pelo método UPGMA.

Grupo	Subgrupo	Matrizes
I	IA	18, 19, 20 e 16
	IB	14, 10, 8, 6, 9, 13, 5, e 3
	IC	1 e 2
II	-	11 e 4
III	-	24, 23, 22, 21 e 17
IV	-	12

Em geral, pode-se dizer que houve agrupamento por localização geográfica das matrizes. Este fenômeno não foi observado pela análise de agrupamento baseada nos dados morfométricos, apresentada no capítulo anterior. Porém em ambos os estudos, observou-se grande variação genética .

A discriminação dos grupos por marcadores RAPD foi bastante diferenciada, uma vez que o número de matrizes constituintes não foi o mesmo para todos os grupos.

Os dados acerca da variação genética entre indivíduos de jerivá são indispensáveis para estudos de conservação genética desta espécie. É necessário garantir a persistência da espécie a longo prazo, sabendo que a variação genética se refere a um processo dinâmico de contínua evolução.

As variações entre as matrizes analisadas pode ser utilizada para seleção das matrizes com maior potencial de gerar efeitos heteróticos, auxiliando no planejamento do trabalho de coleta de sementes. Para efeito de conservação da espécie é necessário considerar algumas matrizes de cada grupo e descartar algumas que estiverem em duplicata, atentando-se em compreender a variação

existente. Além disso, as informações a respeito das variações entre as matrizes estudadas poderão contribuir para o desenvolvimento de pesquisas mais específicas.

6 CONCLUSÕES

A avaliação da divergência genética entre matrizes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* Cham. Glassman) utilizando marcadores RAPD foi eficiente, detectando-se 81,7% de polimorfismo.

O uso de marcador RAPD permitiu o agrupamento da matrizes de acordo com a origem de coleta do material vegetal.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, A.M.M. **Análise da variabilidade genética em progênes de pupunha (*Bactris gasipaes* H B. K.) por caracteres agronômicos e RAPD.** Jaboticabal: UNESP, 1997. 98p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- LEE, S.L. **Genetic Diversity of a Tropical Tree Species, *Shorea leprosula* Miq.(Dipterocarpaceae), in Malaysia: Implications for Conservation of Genetic Resources and Tree Improvement.** *Biotropica*, St. Louis, v.32, n.2, p.213-224, June 2000.
- LEVI, A.; ROWLAND, L.J.; HARTUNG, J.S. **Production of reliable randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers from DNA of woody plants.** *Hortscience*. Beltsville, v.28, n.12, p.1188-1190, 1993.
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J.B. dos **Genetic relationships among cultivars and lines of lima beans (*Phaseolus lunatus* L.) as mensured by RAPD markers.** *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.120, n.2, p.300-336, Mar. 1995.
- SILVA, R. **Bandeamento fluorescente e marcador de RAPD em espécies próximas ao Pinus de Tecun Umán.** Lavras: UFLA, 1996. 55p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SLICE, D.E.; Kim, J.; WALKER, J. **Ntsys: numerical taxonomy and multivariate analyses system: versão 1.80.** [S.l.: s.n.], 1994. não paginado.
- SOKAL, R.R.; MICHENER, C.D. **A statistical methods for evaluating systematic relationships.** [University Science Bulletin], Kansas, v.38. p.1409-1438, 1958.
- WILLIAMS, J.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. **DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers as genetic markers.** *Nucleic Acids Research*, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, Nov. 1990.
- XAVIER, K.G. **Divergência genética em clones de *Eucalyptus* avaliados por marcadores RAPD, e variações nas propriedades da madeira.** Lavras: UFLA, 2001. 107p. (Dissertação – Mestrado em Produção Florestal).

CAPÍTULO 4

1 RESUMO

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. Estudo do processo germinativo e do armazenamento de diásporos de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman Lavras: UFLA, 2001. Cap.4, p.59-82 (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)*

O objetivo do presente estudo foi analisar o processo germinativo das sementes da espécie *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman. Para este fim, foram selecionadas matrizes da região Sul de Minas Gerais. Os cachos de frutos foram coletados no mesmo estágio visual de maturação, em junho de 1999, e suas sementes foram submetidas à avaliação de sua viabilidade em condições de viveiro (sementeira), utilizando quatro repetições de 100 diásporos para cada matriz. Com os resultados da germinação no viveiro, foram selecionadas algumas matrizes de melhor desempenho, nas quais se realizou uma nova coleta de cachos em setembro de 2000. De posse da nova safra coletada, realizou-se um estudo do comportamento fisiológico dos diásporos quando submetidos à dessecação e do efeito do armazenamento na viabilidade dos mesmos. Também foi construída uma curva de embebição para os diásporos, utilizando-se incremento médio de peso. Os resultados obtidos permitiram verificar que os diásporos apresentaram comportamento significativamente diferenciado de acordo com a matriz em condições de viveiro. Quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento, o comportamento foi característico de sementes ortodoxas, apresentando variações na capacidade de germinação. Acredita-se, também, que o endocarpo não impede a absorção de água no processo de embebição.

*Comitê Orientador: Antonio Claudio Davide-UFLA (Orientador), Dulcinéia de Carvalho-UFLA (Co-orientadora).

CHAPTER 4

2 ABSTRACT

LEITE, Josina Aparecida de Carvalho. **Germination and longevity of jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) seeds.** Lavras: UFLA, 2001. Chapter 4, p.59-84 (Dissertation – Masters Degree in Forest Engineering)*

The objective of the present study was to analyze the seed germination process of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman. Seed trees were selected from the South region of the state of Minas Gerais. The bunches of fruits were collected in the same visual apprenticeship of maturation in June of 1999 and their seeds were submitted to viability test in nursery conditions (seedbed), using four repetitions of 100 seeds for each seed tree. With the results of the germination in the nursery, the best seed trees were selected, from which a new collection of bunches was collected in September of 2000, and seed viability and longevity was tested after desiccation and during storage. A seed imbibition curve was built using the average increment of weight. The results showed that seeds presented a differentiated behavior in agreement with the seed trees in nursery conditions. With regard to desiccation tolerance and longevity during storage, the behavior was characteristic of orthodox seeds, with variations in the germination capacity. It is believed that the endocarp does not impede the absorption of water in the imbibition process.

* Supervising Committee: Antonio Claudio Davide – UFLA (Main supervisor),
Dulcinéia de Carvalho – UFLA (Co-supervisor)

3 INTRODUÇÃO

As palmeiras estão entre as espécies mais exploradas economicamente, tanto por sua distribuição extensiva pelos trópicos e sub-trópicos, como pelos seus inúmeros derivados obtidos. O jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) é uma espécie promissora para extração de palmito, principalmente nas regiões de ocorrência natural e onde as espécies usadas comumente para esse fim já se encontram em processo de extinção. Atualmente, é uma das principais palmeiras ornamentais, sendo utilizada com sucesso em vários países, devido à sua beleza natural e à facilidade de adaptação em uma ampla variação edafoclimática. Um outro aspecto a ser ressaltado é que seus frutos são responsáveis pela atração de muitas espécies de animais, e por essa razão o jerivá vem sendo utilizado em programas de recuperação de áreas degradadas e recomposição de matas ciliares. A espécie se destaca, também, como fornecedora de materiais para construções rústicas, tais como fibras, folhas para coberturas e madeira para estivados.

Esta espécie ainda é pouco estudada e carece de informações quanto à qualidade fisiológica, germinação e armazenamento. Devido ao fato de sua propagação ser por meio de sementes (diásporos), o estudo de fatores ligados ao processo germinativo do jerivá, a fim de avaliar o comportamento dessas unidades de dispersão é essencial. Por isso, as pesquisas nesta área, com espécies nativas, têm ganhado espaço na atualidade e se tornaram uma necessidade consensual e urgente diante dos resultados da exploração predatória.

A germinação de muitas espécies da família *Arecaceae* é considerada lenta e muitas vezes desuniforme. Para o jerivá não é diferente, pois a germinação pode demorar de 3 a 5 meses, atingindo taxas médias de 60% (Lorenzi, 1996). Os fatores que influenciam esta demora do processo têm sido estudados para algumas espécies, mas sem grandes conclusões. Este fato levou

muitos pesquisadores a optarem pela micro propagação de algumas espécies de palmeiras, como é o caso da guariroba (*Syagrus oleraceae* Mart. Becc.) (Melo, 2000). Um fator que muitos acreditam ser uma barreira para germinação é a presença do endocarpo, que por ser lignificado, pode impedir a absorção de água pela semente. Há, também, a presença de compostos fenólicos e de ácido abscísico que certamente atuam impedindo o processo germinativo do jerivá (José, Davide e Paiva, 2000 e José, 2000).

Um dos problemas que ainda demanda muita informação diz respeito à conservação de sementes, pois muitas espécies florestais tropicais apresentam sementes com baixa longevidade, dificultando sua utilização por períodos de tempo mais prolongados. Certamente, o conhecimento de aspectos relacionados à tolerância ou não à dessecação em sementes é importante para a tomada de decisões desde a colheita até o possível armazenamento das mesmas. Geralmente, as sementes se encaixam em dois grupos: quanto ao comportamento fisiológico diante da redução no teor de água e à sua resposta ao armazenamento, geralmente em baixas temperaturas (Roberts, 1973). Num deles, a redução no teor de água na semente é muito rápida, ficando a mesma imprópria para germinação. Neste caso, não ocorre dano fisiológico na semente, podendo ser armazenada por longo período de tempo. Este é o comportamento das sementes de espécies ortodoxas. Outro tipo de comportamento é quando o teor de água permanece elevado, favorecendo a germinação das sementes, fato que pode ocorrer no fruto ainda na planta mãe (viviparidade). Sementes com este comportamento perdem a viabilidade em período de tempo relativamente curto. Este comportamento ocorre nas espécies recalcitrantes (Ellis, Hong e Roberts, 1990; Ellis, Hong e Roberts, 1991). Estes mesmos autores relatam, ainda, a existência de sementes que sofrem danos de secagem a graus de umidade de aproximadamente 10%, e quando secas, podem sofrer injúria,

podendo ser armazenadas por médios períodos de tempo, sendo consideradas intermediárias.

A maioria dos estudos com palmeiras dos trópicos úmidos conclui que estas são intolerantes à dessecação, mas sabe-se que algumas apresentam uma determinada tolerância, podendo ser classificadas como ortodoxas (Davies e Pritchard, 1998).

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram:

- Obter informações relativas ao processo germinativo de diásporos de jerivá em condições de viveiro e verificação das variações no processo germinativo entre as matrizes estudadas;
- Traçar a curva de embebição;
- Obter informações relativas ao comportamento fisiológico de diásporos de jerivá, quando submetidos à dessecação, e
- Verificar o efeito do armazenamento na viabilidade de diásporos de jerivá.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Colheita e beneficiamento dos frutos (lote 1999)

Frutos de *Syagrus romanzoffiana* foram colhidos na região de Lavras, Itumirim, Ribeirão Vermelho, Cana Verde, Nazareno e Candeias - Minas Gerais, no período de 07 a 19 de junho de 1999, totalizando 24 matrizes. Os dados referentes à latitude, longitude, altitude, temperatura anual média, temperatura anual mínima, temperatura anual máxima e precipitação anual média, para cada localidade, encontram-se na Tabela 2.1 (capítulo 2).

As coletas foram realizadas em palmeiras com bom estado de sanidade e com disponibilidade de cachos com frutos maduros, com coloração amarelo-alaranjada. Os cachos foram colhidos com o mesmo estágio visual de maturação. Escada e podão auxiliaram esta coleta; em seguida, os cachos foram devidamente identificados por matriz e local de origem com etiquetas de alumínio e transportados em sacos de aniagem até o Galpão de Beneficiamento do Laboratório de Sementes do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Lavras. Também as matrizes foram identificadas com etiquetas de alumínio fixadas no estipe. A Tabela 4.1 apresenta a relação das matrizes e suas respectivas localidades de coleta.

TABELA 4.1. Relação das matrizes e suas respectivas localidades de coleta

Matriz (es)	Origem
1, 2 e 24	Lavras
3	Nazareno
4, 5, 6 e 7	Itumirim
8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14	Candeias
21, 22 e 23	Cana Verde
15, 16, 17, 18, 19 e 20	Ribeirão Vermelho


A retirada dos frutos dos cachos foi realizada manualmente, separando-os por matriz, em recipientes plásticos de 20 litros, devidamente identificados. O processamento dos frutos foi realizado em uma betoneira de concretagem com água encobrindo os mesmos, visando facilitar a despolação. Após lavagem, o excesso de fibras (polpa) foi retirado utilizando uma faca. Em seguida a secagem dos frutos foi realizada em local ventilado, a meia-sombra.

4.1.1 Determinação do teor de água

Para determinação do teor de água dos diásporos, adotou-se o método gravimétrico (pela diferença de peso antes e após serem submetidas à estufa), à temperatura de $105 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas (Brasil, 1992).

Seis diásporos foram utilizados, divididos em duas repetições. Os diásporos foram quebrados a fim facilitar a saída de água. Os pedaços foram misturados e divididos entre as repetições, colocados em recipientes de papel alumínio com pesos pré-determinado, em seguida pesados e colocados em estufa. Após 24 horas, os recipientes foram fechados e colocados em um dessecador durante 20 minutos para resfriamento; em seguida, foram novamente pesados, obtendo-se o peso seco.

Os resultados foram expressos em base úmida, através da expressão:


$$U(\%) = \left(\frac{P_u - P_s}{P_u - T} \right) \times 100$$

onde: U = umidade; P_u = peso úmido; P_s = peso seco e, T = tara

4.1.2 Avaliação de viabilidade em condições de viveiro

Um ensaio foi montado no Viveiro Florestal da UFLA a fim de avaliar as matrizes individualmente quanto à capacidade germinativa de suas sementes. O teor de água inicial foi obtido para cada matriz. Para a condução deste teste, foram utilizados 400 diásporos de cada matriz, sendo que cada matriz correspondeu a um tratamento. A matriz 21 não foi utilizada neste ensaio devido ao número insuficiente de diásporos disponíveis. Foram utilizadas quatro repetições por tratamento e 100 diásporos por repetição. Não foi realizado nenhum tipo de tratamento pré-germinativo nos diásporos. A semeadura foi realizada manualmente em canteiros sob condições ambientais, contendo como substrato a mistura de terra, areia e esterco curtido, na proporção 3:1:1 e como cobertura casca de arroz. A irrigação dos canteiros foi realizada diariamente e as avaliações foram semanais, computando-se o número de plântulas normais (adotando-se cerca de 6 cm de parte aérea). A partir dos resultados deste ensaio, selecionaram-se as sete matrizes com maior porcentagem de germinação, para estudos futuros em laboratório.

Os dados foram transformados em arco seno $\sqrt{x}/100$ e a análise de variância foi realizada. As médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5%, utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2000).

4.2 Colheita e beneficiamento dos frutos (lote 2000)

No ano de 2000, realizou-se a segunda colheita, no período de 15 a 31 de agosto. Esta colheita foi realizada conforme descrito no item 4.1, sendo que, desta vez, foram colhidos frutos de sete matrizes, as de melhor desempenho germinativo nas condições de viveiro, dentro do grupo das vinte e quatro matrizes da primeira colheita.

4.2.1 Determinação do teor de água

O mesmo método descrito no item 4.1.1 foi utilizado para determinação do teor de água dos diásporos para o estudo desta safra, diferindo somente quanto ao número de diásporos e repetições utilizados. Em cada tempo de dessecação, foram utilizados dez diásporos, divididos em quatro repetições.

4.2.2 Curva de dessecação

Frutos recém colhidos e beneficiados das matrizes 4, 7, 9, 11, 12, 20 e 22 foram misturados para compor a amostra para estudo da dessecação. Em seguida, diásporos foram colocados em bandejas de polietileno em uma camada única, as quais foram mantidas em uma sala climatizada (20°C e 60% de umidade relativa do ar) durante 0, 12, 24, 72, 96, 108 e 132 horas. Em cada tempo de secagem, sub-amostras foram retiradas para avaliação do teor de água, conforme descrito no item 4.2.1, e foi feito o teste de germinação.

A viabilidade foi avaliada através de testes de germinação. Os diásporos foram desinfestados com solução de hipoclorito de sódio (2%) durante sessenta minutos, em agitador orbital da marca Fanem, modelo 255B. Em seguida, foram lavados em água corrente durante 2 minutos para retirada do excesso de

hipoclorito de sódio. Os diásporos foram colocados para germinar em bandejas plásticas de dimensões 40×25×8 cm, contendo como substrato areia de textura média, lavada e esterilizada em autoclave por 20 minutos, a 120°C e 1atm. O mesmo substrato foi utilizado para cobrir os diásporos, objetivando minimizar a contaminação por fungos. Os testes foram realizados em sala climatizada, com temperatura em torno de 25°C e com luz constante. Cada teste foi conduzido com 4 repetições de 25 diásporos. As avaliações foram feitas a cada dois dias, computando-se a emergência da radícula até a estabilização do processo germinativo.

Os testes foram montados conforme Delineamento Inteiramente Casualizado, com 7 tratamentos de secagem (0, 12, 24, 72, 96, 108 e 132 horas). Foram ajustadas equações de regressão para construção da curva de dessecação, para as variáveis analisadas. O ajuste foi efetuado utilizando-se o programa Statgraphics Plus, versão 2.1.

4.2.3 Teste de embebição

Para o teste de embebição, utilizaram-se amostras de cinco diásporos cada, previamente pesadas (peso seco) e colocadas em copos descartáveis com 50 ml de água. As amostras foram mantidas em germinador do tipo Mangelsdorf, com temperatura ajustada para 25°C. As avaliações foram feitas com 2, 6, 8, 20, 24, 28, 32, 36, 48, 60 e 72 horas. Para cada tempo de embebição, utilizaram-se cinco repetições. A curva de embebição foi construída através do incremento médio de peso dos diásporos.

4.2.4 Armazenamento

O lote de 2000 foi submetido ao armazenamento após o último ponto de dessecação, com 10,97% de umidade. Para tanto, foram colocados em sacos de polietileno de 0,055 mm e mantidos em câmara fria (5°C/60%UR).

A porcentagem de germinação e o teor de água dos diásporos foram os parâmetros avaliados inicialmente (0 dias) e após 45, 61, 90 e 124 dias.

A curva do comportamento germinativo durante o armazenamento foi construída através da equação selecionada pela análise de regressão, realizada utilizando o programa Statgraphics Plus, versão 2.1.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Lote - 1999

5.1.1 Teor de água dos diásporos

Observou-se que o teor de água dos diásporos, recém beneficiados e colocados para eliminar a água superficial, apresentou variação de acordo com a matriz (Tabela 4.2). Essa variação pode ser atribuída ao grau de maturação dos diásporos, além disso, as condições climáticas do momento da colheita e, ou as condições ambientais do local de colheita podem, também, influenciar no teor de água dos mesmos. Os valores de umidade das sementes variam entre e dentro das espécies. Geralmente, as sementes de espécies ortodoxas apresentam valores de umidade mais baixos, pois a ocorrência de uma secagem natural é comum no final do desenvolvimento dessas sementes, reduzindo o grau de umidade para uma faixa de 15 a 20% (Bewley e Black, 1994). No estudo de classificação fisiológica de sementes desenvolvido por Carvalho (2000), as sementes recém-beneficiadas das espécies enquadradas no grupo das ortodoxas apresentaram umidade inicial média de 23,6%, enquanto, para as intermediárias e recalcitrantes, os valores médios foram de 44,3 e 45, 5%, respectivamente.

A média de umidade entre as matrizes do presente estudo foi de 24,6%, sendo a matriz 7 a que apresentou o valor mais baixo de teor de água (21,53%), e a matriz 9, a que apresentou o valor mais alto (32,71%).

TABELA 4.2. Teores de água para as 23 matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, avaliadas quanto ao potencial germinativo em condições de viveiro.

Matriz	Teor de água (%)	Matriz	Teor de água (%)
1	25,80	13	26,58
2	24,72	14	25,40
3	27,10	15	22,53
4	22,58	16	24,37
5	24,66	17	21,63
6	28,04	18	21,98
7	21,53	19	22,18
8	24,17	20	23,60
9	32,71	22	22,00
10	25,48	23	23,55
11	27,43	24	22,44
12	24,18	-	-

5.1.2 Germinação em condições de viveiro

O resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes para avaliar a germinação sob condições de viveiro encontra-se na Tabela 1A (Anexo).

Os resultados demonstraram que os diásporos de jerivá tiveram um comportamento bastante diferenciado, de acordo com a matriz, quanto ao potencial de germinação. O início da germinação se deu no início do quarto mês após a semeadura (aproximadamente aos 130 dias). Oito meses após a semeadura ocorreu o pico de germinação, quando a temperatura estava mais alta (fevereiro).

A média de germinação entre as matrizes foi de 22,01%. Muitas matrizes apresentaram porcentagem inferior a 10%, conforme demonstra a Figura 4.1. A matriz 20 foi a que apresentou melhor desempenho no processo germinativo, seguida pela matriz de número 7, com 60,75% e 56,00%,

respectivamente. Já as que apresentaram os menores percentuais foram as matrizes 14, 1 e 13, com 0,25; 2,25 e 2,5%, respectivamente.

Estes valores expressam os diferentes graus de dormência apresentados pelos diásporos dessa espécie. Apesar de não apresentarem impedimento tegumentar à embebição, sabe-se que alguns inibidores atuam no processo germinativo da espécie (José, 2000). Outro fator é que as condições ambientais durante o desenvolvimento das sementes podem afetar fortemente a germinação (Benowicz et al., 2000).

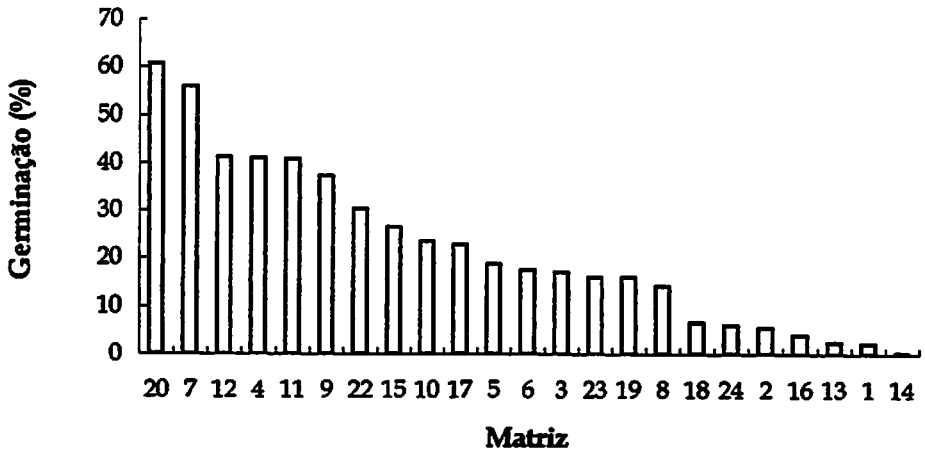


FIGURA 4.1. Porcentagem de germinação de diásporos 23 matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, sob condições de viveiro.

5.2 Lote - 2000

5.2.1 Curva de embebição

Pode-se observar, pela Figura 4.2, que o comportamento dos diásporos de jerivá não atingiu o padrão trifásico de absorção de água proposto por Bewley e Black (1994). A fase III não foi atingida neste ensaio porque não houve tempo

para o início do processo germinativo, que ocorre, normalmente, no início desta fase.

Durante a fase I, houve um rápido aumento de peso, tendo um ganho de 6,98% nas primeiras duas horas de embebição. Espera-se que no início do processo de embebição a velocidade de absorção seja mesmo mais alta devido à diferença de potencial hídrico entre o meio e os diásporos. Algumas sementes, de diferentes espécies, têm a fase I considerada como de curta duração. Como exemplos, têm-se o amendoim, com duração de 1 a 2 horas (Carvalho e Spina, 1981; citados por Carvalho e Nakagawa, 1988), o algodão herbáceo (Ferreira e Rebouças, 1992) e o feijão (Siqueira, 1995) com duração de 6 horas, e o jerivá, cuja duração foi de 2 horas. Pode-se afirmar que o endocarpo do jerivá não influenciou no impedimento da absorção nesta primeira fase. Certamente, a entrada de água é facilitada pela presença do poro germinativo, situado em uma das extremidades do endocarpo. No café (*Coffea arábica* L.), o endocarpo também não impede a entrada de água nesta fase (Camargo, 1998).

No restante da curva, o ganho de peso foi de aproximadamente 6,17%, sendo inferior a 1 ponto percentual, em média, entre dois tempos de embebição. Esta redução na velocidade de absorção caracteriza a fase II da embebição. Nesta fase, verifica-se pequeno aumento de peso à medida que o tempo passa, ou seja, ocorre uma determinada estabilização na absorção de água pela semente. Geralmente, a duração desta fase é maior do que a da fase anterior, uma vez que os potenciais hídricos da semente e do meio são semelhantes. Além disso, as sementes permanecem tolerantes à desidratação nesta fase. Os dados foram obtidos até 72 horas, quando o processo de absorção de água estava praticamente estável.

A fase III do processo de embebição é caracterizada pelo aumento da atividade respiratória e um súbito aumento na velocidade de absorção, associados ao início do crescimento do eixo embrionário (Guimarães, 2000).

Esta fase não foi atingida neste estudo, possivelmente devido à composição das membranas das sementes desta espécie e, ou à presença de algum inibidor no diásporo, como descreve José, Davide e Paiva (2000). Esses fatores podem impedir a reorganização das substâncias simples em complexas, atrasando a formação do citoplasma, protoplasma e das paredes celulares, processos que antecedem o crescimento do eixo embrionário. Isso faz com que o início da fase III, que coincide com a germinação, seja tardio. Além disso, para haver germinação, é necessário que seja atingido um grau mínimo de umidade (Bewley e Black, 1994). Esse grau mínimo varia de espécie para espécie, como, por exemplo, 55% para café (Camargo, 1998), 30% para milho e 29% para mamona (Guimarães, 2000). O tempo necessário para atingir esta fase também varia entre espécies e até entre variedades da mesma espécie, como para o algodão herbáceo, que pode ocorrer a partir de oito horas de embebição (Ferreira e Rebouças, 1992), e para o algodão comum, que ocorre a partir de 23 horas de embebição (Menezes, 1996).

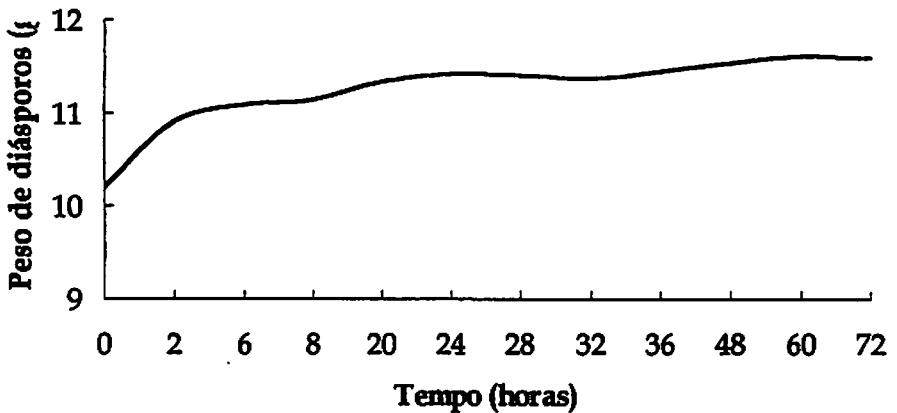


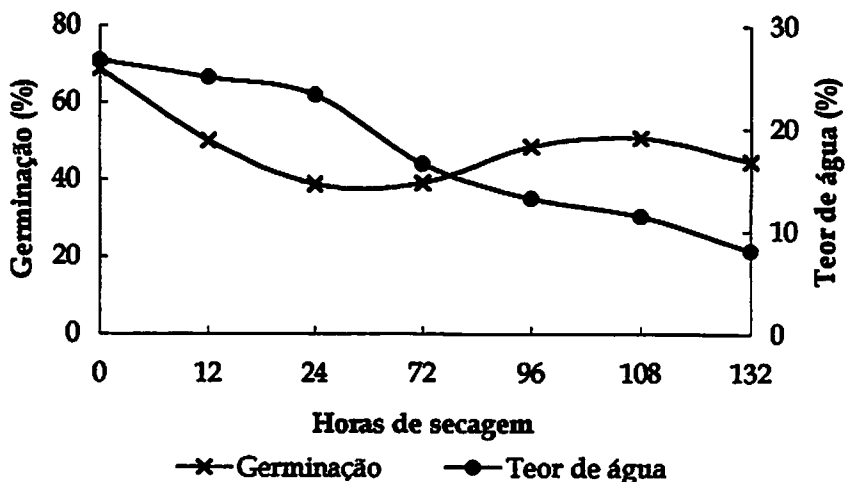
FIGURA 4.2. Curva de embebição para diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman.

5.2.2 Curva de dessecação

A redução do teor de água dos diásporos foi realizada até os mesmos atingirem equilíbrio higroscópico com o ambiente da sala de dessecação (20°C/60%UR). A perda de água pelas sementes seguiu uma tendência linear, conforme mostra a Figura 4.3. Ainda nessa figura, verifica-se um comportamento bastante irregular na germinação, nos diferentes tempos analisados. No tempo zero, quando os diásporos apresentaram o mais alto teor de água (28,6%), constatou-se o melhor desempenho na germinação (64%). Com a redução do teor de água dos diásporos, o processo de germinação também sofreu redução até 12,51% de umidade, voltando a apresentar um acréscimo posteriormente. O comportamento foi mais afetado nos tempos de 24, 72 e 132 horas, com teores de água de 12,51%; 10,97% e 23,93%, respectivamente.

Esse comportamento indica que ocorre um processo de entrada e saída do estado de dormência, demonstrado pelo alto percentual de sementes germinadas (48%) ao final do teste. Isso mostra que as sementes desta espécie apresentam certa habilidade de passar por estresses e, ainda assim, atingirem níveis médios de germinação. Esta é uma característica de sementes ortodoxas, que garante a perpetuação da espécie.

Em um estudo recente, desenvolvido por Carvalho (2000), obtiveram-se resultados de germinação semelhantes ao do jerivá, podendo citar como exemplos o angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina*); a peroba-poca (*Aspidosperma cylindrocarpon*); a peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron*); a sapucaia (*Lecythis pisonis*); o óleo-bálsamo (*Myroxylon peruiferum*); a congonha-de-bagre (*Rudgea viburnoides*); o ipê-tabaco (*Tabebuia crysotricha*); o ipê-roxo (*T. impetiginosa*) e o ipê-amarelo (*T. serratifolia*).



$$Y_x = 68,6654 - 1,87974 * X + 0,0294672 * X^2 - 0,000125742 * X^3 \quad (R^2 = 0,36)$$

$$Y_w = 26,6097 - 0,140082 * X \quad (R^2 = 0,86)$$

FIGURA 4.3. Teor de água e porcentagem de germinação de diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, em diferentes tempos de dessecação em sala climatizada (20°C/60%UR)

O comportamento quanto à tolerância à dessecação pode apresentar diferenças dentro de um mesmo gênero (Tompsett, 1984) ou espécie (Ellis, Hong e Roberts, 1991). Esta diferença na sensibilidade à dessecação varia em função do habitat de origem e da diversidade genética (Farrant, Pammenter e Berjak, 1988). Este é um fator importante, já que a literatura relata a deterioração de sementes e a redução da germinação devido à desidratação para várias espécies de palmeiras. Estas sementes são consideradas recalcitrantes e o processo de deterioração é irreversível (Bovi e Cardoso, 1978; Bovi, Godoy Júnior e Saés, 1987; Figliolia et al., 1987; Andrade, 1994 e Martins et al., 1999). Para a pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.), para o palmito (*Euterpe edulis* Mart.) e para o açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) as sementes apresentaram acentuada redução do percentual de germinação quando atingiram 30,3; 33,0 e 35,3% de

teor de água, respectivamente, e a perda total da germinação aconteceu em teores de água em torno de 18, 17 e 18,15%, respectivamente (Ferreira e Santos, 1992; Andrade, 1994 e Martins et al., 1999). O que difere a palmeira jervá das citadas nos exemplos anteriores é que ela é encontrada geralmente em ecossistemas mais secos, enquanto as outras são de florestas úmidas.

É importante ressaltar que houve infestação de fungos nos diásporos e que, no final do teste de germinação, eles já se encontravam em estado avançado de deterioração (Tabela 4.3), com amêndoas apodrecidas e rançosas. Este fato possivelmente é devido ao alto teor de lipídeo presente na amêndoa, o que acelera o processo de deterioração. As alterações na camada de lipídeo das membranas podem promover o aumento do fluxo de aminoácidos e isto pode estimular o crescimento de microrganismos na superfície das sementes, fato relatado por Bewley (1986).

TABELA 4.3. Valores percentuais médios de germinação, sementes mortas e firmes e teor de água obtidos após diferentes tempos de dessecação de diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman.

Tratamento (hora)	Germinação (%)	Sementes Mortas (%)	Sementes Firmes (%)	Teor de água (%)
0	64	17	19	28,16
12	52	23	25	24,99
24	47	30	23	23,93
72	24	27	49	12,51
96	56	13	31	11,72
108	57	14	29	11,80
132	41	26	33	10,97

5.2.3 Armazenamento

O comportamento de diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, durante o armazenamento em câmara fria (5°C/60%UR), pode ser observado pela Figura 4.3. O melhor desempenho de germinação foi aos 45 dias de armazenamento, com aproximadamente 50%. Aos 61 e 90 dias de armazenamento dos diásporos, o desempenho sofreu grande redução, e logo depois, aos 124 dias, houve uma melhora na capacidade de germinação dos diásporos, atingindo um percentual de 43%.

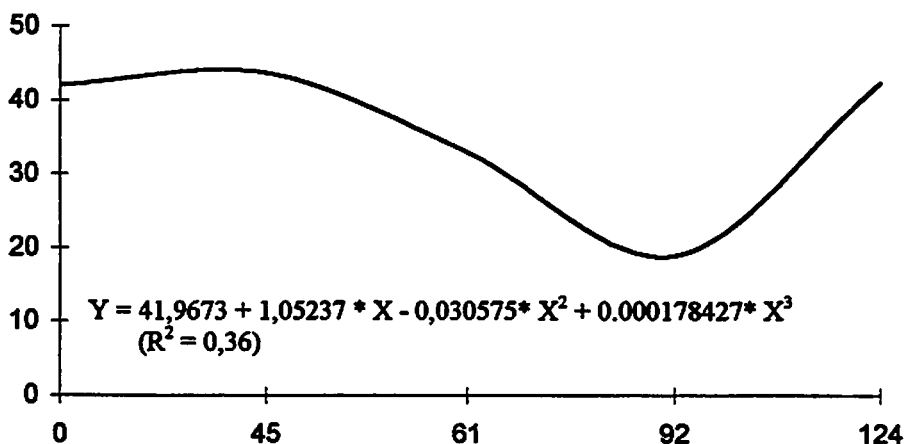


FIGURA 4.3. Porcentagem de germinação de diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman em diferentes tempos de armazenamento em câmara fria (5°C/60%UR).

Tanto aqui como na curva de dessecação, observou-se este comportamento irregular do processo germinativo. Um fator que deve ser ressaltado é que aqui o teor de água praticamente não alterou, ficando em torno de 11%. Isso vem confirmar a presença de inibidores da

germinação, que neste caso estão atuando em determinados momentos do armazenamento. Ocorreu superação de dormência em determinados momentos. Assim como observado nos testes de germinação no estudo de tolerância à dessecação, aqui também ocorreu a infestação por fungos na superfície dos diásporos, durante o teste de germinação, e o apodrecimento de muitas amêndoas no final do teste (Tabela 4.4).

TABELA 4.4. Valores percentuais médios de germinação, sementes mortas, sementes firmes e teor de água, obtidos após diferentes tempos de armazenamento de diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman.

Tratamento (dia)	Germinação (%)	Sementes Mortas (%)	Sementes Firmes (%)	Teor de água (%)
0	41	26	33	10,97
45	55	36	9	11,11
61	17	54	29	10,93
92	26	28	46	10,76
124	41	34	25	10,69

Observando os dados da Tabela 4.4, juntamente com a Figura 4.3, podemos afirmar a ocorrência de entrada e saída do estado de dormência. A partir de 45 dias de armazenamento, ocorreu um drástico aumento no número de sementes firmes, sendo que, quando armazenadas por 91 dias, as mesmas contribuíram com 46% do total no final do teste, tendo germinado somente 26%. Este grande número de sementes firmes caracteriza entrada no estado de dormência.

Ao contrário disso, quando armazenadas por 124 dias, as sementes firmes representaram apenas 25% do total, tendo germinado 41% dos diásporos. Essa reversão nos números indica saída do estado de dormência.

Quanto à longevidade de sementes de espécies de palmeiras, sabe-se que, quando armazenadas em temperaturas sub-ambiente, perdem sua longevidade após períodos que variam entre duas semanas a três meses e, por essa razão, são consideradas de curta longevidade. Já a palmeira jerivá manteve a longevidade até quatro meses de armazenamento.

Em um estudo realizado com a espécie, foi verificado que suas sementes mantiveram a viabilidade em embalagens de polietileno até nove meses de armazenamento, sob temperatura de 23°C, mas após este período perderam completamente sua viabilidade (Broschat e Donselman, 1988).

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados deste estudo, podemos concluir que:

- o processo de germinação dos diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman se iniciou após quatro meses de semeadura. Houve comportamento diferenciado de acordo com a matriz, devido às variações no grau de dormência de suas sementes;
- o endocarpo não afetou negativamente a absorção de água no processo de embebição;
- o comportamento quanto à tolerância à dessecação foi característico de sementes ortodoxas;
- os diásporos de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman não perderam a viabilidade até quatro meses de armazenamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, A.C.S. de Efeito da secagem e do armazenamento sob a germinação, o vigor de plântulas e a integridade do sistema de membranas em sementes de palmito (*Euterpe edulis* Mart.) Itaguaí, Rio de Janeiro: 1994. 89p. (Dissertação – Mestrado em Biologia).
- BENOWICZ, A.; KASSABY, Y.A.; GUY, R.D.; YING, CH. C. Sitka Alder (*Alnus sinuate* Rydb.) Genetic Diversity in Germination, Frost Hardiness and Growth Attributes. *Silvae Genetica*, Frankfurt, v.49, n.4/5, p.206-212, 2000.
- BEWLEY, J.D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbation resulting from deterioration in storage. In: McDONALD, M.B.; NELSON, C.J. *Physiology of seed deterioration*. Madison: Crop Science of America, 1986. p.27-46
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- BOVI, M.L.A.; CARDOSO, M. Conservação de sementes de palmito (*Euterpe edulis* Mart.). *Bragantia*, Campinas, v.37, p.65-71, 1978.
- BOVI, M.L.A.; GODOY JÚNIOR, G.; SAÉS, L. A. Pesquisas com os gêneros *Euterpe* e *Bactris* no Instituto Agronômico de Campinas. *O Agrônomo*, Campinas, v.39, n.2, p.129-174, maio/ago. 1987.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília: DNDV/CLV, 1992. 365 p.
- BROSCHAT, T.K.; DONSELMAN, H. Palm seed storage and germination studies. *Principes*, v.32, n.1, p.3-12, 1988.
- CAMARGO, R. *Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (Coffea arábica L.)*. Lavras: UFLA, 1998. 108p. (Dissertação de Mestrado em Fitotecnia).
- CARVALHO, L.R de *Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento*. Lavras: UFLA, 2000. 97 p. (Dissertação – Mestrado em Produção Florestal).

- CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 429p.
- DAVIES, R.I.; PRITCHARD, H.W. Seed storage and germination of the palms *Hyphaene thebaica*, *H. petersiana* and *Medemia argun*. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.26, p.823-828, 1998.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour? I coffee. *Journal of Experimental Botany*, London, v.41, n.230, p.1167-1174, Sept. 1990.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. *Seed Science Research*, Wallingford, v.1, p.69-72, 1991.
- FARRANT, J.M.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. Recalcitrance – a current assessment. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.16, n.1, p.155-166, 1998.
- FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do Sisvar para Windows, versão 4.0. In: 45ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCAR, São Carlos, S.P., Julho, 2000.p.255-258.
- FERREIRA, L.G.R.; REBOUÇAS, M.A.A. Influência da hidratação/desidratação de sementes de algodão na superação dos efeitos da salinidade na germinação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, n.4, p.609-615, abr. 1992.
- FERREIRA, S.A.N.; SANTOS, L.A. Viabilidade de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.). *Acta Amazônica*, Manaus, v.22, n.3, p.303-307, 1992.
- FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A.; YAMAZOE, G.; SIQUEIRA, A.C.M.F. Conservação de sementes de *Euterpe edulis* Mart. em diferentes embalagens e ambientes de armazenamento. *Boletim Técnico do Instituto Florestal*, São Paulo, v.41, p.355-368, 1987.
- GUIMARÃES, R.M. Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arábica* L.). Lavras: UFLA, 2000. 180p. (Tese de Doutorado)

- JOSÉ, A.C.** Detecção de compostos inibidores da germinação em sementes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman). Lavras: UFLA, 2000. 34p. (Monografia)
- JOSÉ, A.C.; DAVIDE, A.C.; PAIVA, L.V.** Detecção de compostos fenólicos em sementes de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman) In: CONGRESSO E EXPOSIÇÃO INTERNACIONAL SOBRE FLORESTAS, 11., 2000, Porto Seguro. Anais... Porto Seguro – Bahia: 2000. p.96.
- LORENZI, H.** Palmeiras no Brasil: exóticas e nativas. Nova Odessa: Plantarum, 1996. 320p.
- MELO, B.** de Cultivo de embrião *in vitro* da Guarirubeira [*Syagrus oleraceae* (Mart.) Becc.] Lavras: UFLA, 2000. 117p. (Tese – Doutorado em Fitotecnia)
- MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J.; BOVI, M.L.A.; STANGUERLIM, H.** Teores de água crítico e letal para sementes de açaí (*Euterpe edulis* Mart. – Palmae). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.21, n.1, p.125-132, 1999.
- MENEZES, D.** Determinação da curva de embebição e avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras: UFLA, 1996. 57p. (Dissertação – Mestrado Fitotecnia).
- ROBERTS, E.H.** Predicting the storage life of seeds. Seed Science and Technology, Zurich, v.1, n.3, p.499-514, 1973.
- SIQUEIRA, E.C.** Embebição, germinação e emergência de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) à baixa temperatura. Lavras: UFLA, 1995. 46p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- TOMPSETT, P.B.** Desiccation studies in relation to the storage of Araucária seed. Annals of Applied Biology, New York, v.105, n.3, p.581-586, 1984.

ANEXOS

TABELA 1A. Resumo da análise de variância obtida para porcentagem de germinação dos diásporos de 23 matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, sob condições de viveiro (lote - 1999).

FV	GL	QM
Matriz	22	1198,5563**
Repetição	3	74,1848
Resíduo	66	51,4878
Total	91	

*= significativo ao nível de 5%
 Coeficiente de variação = 32,60
 Média geral = 22,02

TABELA 2A. Médias de porcentagem de germinação dos diásporos de 23 matrizes de *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman, sob condições de viveiro (lote - 1999).

Matriz	Médias (%)	
20	60,75	a
7	56,00	ab
12	41,25	bc
4	41,00	bc
11	40,75	bc
9	37,25	bc
22	30,25	cd
15	26,50	ode
10	23,50	odef
17	22,75	cdefg
5	18,75	defgh
6	17,50	efgh
3	17,00	efgh
19	16,00	efgh
23	16,00	efgh
8	14,00	efgh
18	6,50	fgh
24	6,00	fgh
2	5,50	fgh
16	4,00	gh
13	2,50	h
1	2,25	h
14	0,25	h

As médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 3A. Matriz de distâncias genéticas (%) entre 22 matrizes de jerivá (*Syngnatus romanzoffiana* (Cham.))

Glassman	1	2	3	4	5	6	8	9	10	11	12	13	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1	0																						
2	25	0																					
3	46	46	0																				
4	44	42	45	0																			
5	43	43	34	46	0																		
6	44	46	40	45	35	0																	
8	49	43	38	41	33	34	0																
9	38	44	38	43	36	37	35	0															
1	42	37	44	42	43	33	36	40	0														
11	53	55	51	48	42	47	50	41	51	0													
12	58	54	58	54	56	53	54	59	46	63	0												
13	43	43	37	47	34	38	40	40	39	44	5	0											
14	40	38	38	46	35	36	39	39	30	50	54	42	0										
16	37	41	39	54	32	42	38	26	43	46	60	41	38	0									
17	49	45	52	60	57	54	51	46	52	62	55	56	46	46	0								
18	36	42	47	54	40	39	46	43	45	48	52	42	41	33	51	0							
19	41	45	41	55	34	40	40	38	44	49	59	39	38	22	49	33	0						
20	39	45	44	57	34	40	40	33	46	51	54	41	42	17	49	25	19	0					
21	41	43	46	57	38	50	49	44	46	59	57	45	44	41	47	44	43	34	0				
22	44	44	54	59	54	51	54	51	47	63	46	53	48	52	51	59	55	49	36	0			
23	44	52	49	56	47	57	55	47	53	58	53	56	42	49	59	51	5	48	48	47	0		
24	43	51	46	57	49	56	55	44	54	55	65	55	44	45	52	59	49	47	45	48	43	0	