



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS RELACIONADOS À QUEBRA DE DORMÊNCIA FÍSICA EM SEMENTES DE PARICÁ [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby]

ELIZABETH SANTOS CORDEIRO SHIMIZU

BELÉM

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS RELACIONADOS À QUEBRA DE DORMÊNCIA FÍSICA EM SEMENTES DE PARICÁ [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducken) Barneby]

ELIZABETH SANTOS CORDEIRO SHIMIZU

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de **Mestre**.

Orientador: Prof. Hugo Alves Pinheiro

Co-orientador: Prof. Benedito G. dos Santos Filho

BELÉM

2009

Shimizu, Elizabeth Santos Cordeiro

Aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à quebra de dormência física em sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckert) Barneby]/ Elizabeth Santos Cordeiro Shimizu – Belém, 2009.

46 f. il. ; 29,7 cm.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2009.

1. Escarificação; 2. Embebição; 3. Produção de Mudanças; 4. Síntese de amido; 5. Vigor; I. Título

CDD 631.521



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS RELACIONADOS À QUEBRA DE DORMÊNCIA FÍSICA EM SEMENTES DE PARICÁ [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducken) Barneby]

ELIZABETH SANTOS CORDEIRO SHIMIZU

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de **Mestre**.

Aprovada em 13 de março de 2009

BANCA EXAMINADORA

Eng. Agrônomo, DSc., Prof. Hugo Alves Pinheiro
Presidente/Orientador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Eng. Agrônomo, DSc., Prof. Marco Antônio Menezes Neto
1º Examinador
Universidade Federal do Pará

Biólogo, DSc., Roberto Cezar Lobo da Costa
2º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Eng. Agrônomo, DSc., Benedito Gomes dos Santos Filho
3º Examinador
Universidade Federal Rural da Amazônia

Aos meus pais, **Adelina e Arlindo;**

Aos meus irmãos, **Rosangela, Arlindo filho e Cleiton;**

Especialmente ao meu amor, amigo e companheiro

Mauricio todo meu respeito e carinho;

Ao nosso filho amado **Gabriel**, meu anjinho, que

no meio dessa jornada me trouxe só felicidade.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo que conquistei até hoje e por tudo que ainda hei de conquistar.

À UFRA que é uma instituição que merece todo meu respeito e deve ser valorizada.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de Mestrado que tornou possível o desenvolvimento e a realização dessa pesquisa.

Ao Prof. Benedito Gomes dos Santos Filho, pela confiança, apoio, pelos conselhos e pela amizade.

Ao Prof. Hugo Alves Pinheiro, pela orientação, atenção, paciência e pelos conselhos, no intuito de me fazer acertar hoje e durante toda vida profissional, e principalmente pela amizade conquistada.

Ao Prof. Roberto Cezar Lobo da Costa que, embora não deva lembrar, recebeu-me com toda atenção pela primeira vez em que pisei nesta Universidade. Ainda, agradeço pelas excelentes aulas e conhecimento transmitido com muita clareza.

A todo corpo docente da pós-graduação, que através dos seus valiosos ensinamentos contribuíram imensamente com minha formação profissional.

A todos os funcionários que tive oportunidade de conhecer e que sempre me ajudaram de alguma forma e que tiveram imenso carinho por mim, em especial o José Carlos (Seu Roxo) e Dona Custódia.

À Prof^a. Cristina Dib-Taxi coordenadora do Laboratório de Físico-química (CTA/ISAHR/UFRA), onde foram realizadas as análises deste trabalho.

À Prof^a. Rosa Santa Rosa e a Laboratorista Luciana, pela atenção e ensinamentos durante esta jornada.

Aos laboratoristas da UFRA Ivanildo de Melo Reis e Iridan (Bola), pela amizade e pelo apoio que sempre me deram.

Aos meus amigos Carla Pará, Patrícia Parise Maia, Joze Melisa, Cândido Neto, Roberto Rosa (Robertinho), Sávvia Polliana e Neilo Bergamin pela amizade e pelo apoio.

Às amigas Marcelle Auday Costa e Fabrícia Kelly Cabral, pela amizade incondicional e por ter estado ao meu lado em tantos momentos difíceis, pela ajuda e pelo carinho que me deram durante todo o período.

Aos estagiários, Bruno, Rafael, Felipe e Arles, pela amizade e ajuda ao longo do experimento.

À pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Noemi Vianna Martins Leão pela atenção, carinho e amizade.

Ao Prof. João Ubiratan (Bira), coordenador do Programa de pós-graduação em Botânica do Museu Emílio Goeldi, pela utilização do Laboratório de Anatomia vegetal.

Aos Pesquisadores do Museu Emílio Goeldi: Profa. Alba Lins pela atenção e carinho por todas as vezes que a procurei, Ely Simone pela atenção e, em especial, à sua estagiária Tarcymara, pela extrema atenção e paciência no auxílio nos cortes anatômicos e fotografias.

Ao Mauricio Kadooka Shimizu, pela força e incentivo em toda a minha vida profissional. E que nessa jornada, com muita paciência me deu apoio, carinho e atenção em todos os momentos.

A todos que de alguma forma contribuíram com este trabalho: OBRIGADA!

SUMÁRIO

	p.
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	13
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Material vegetal e escarificação das sementes.....	16
2.2. Teste do tetrazólio.....	17
2.3. Curva de embebição	17
2.4. Teste de germinação, índice de velocidade de germinação e depleção do endosperma.....	18
2.5. Teores cotiledonares de sacarose, carboidratos solúveis totais e amido.....	18
2.6. Identificação e distribuição microscópica de grãos de amido em cotilédones....	20
2.7. Indicadores de uniformidade de emergência e estabelecimento de plântulas.....	20
2.8. Análise estatística.....	22
3. RESULTADOS	
3.1. Teste do tetrazólio.....	23
3.2. Curva de embebição.....	24
3.3. Germinação.....	25
3.4. Depleção do endosperma.....	26
3.5. Teores cotiledonares de carboidratos e visualização do amido.....	27
3.6. Indicadores de uniformidade de emergência e estabelecimento de plântulas.....	31
4. DISCUSSÃO	33
5. CONCLUSÕES	38
6. REFERÊNCIAS	39

LISTA DE FIGURAS

- p.**
- Figura 1.** Classificação das estruturas pós germinativas de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby] utilizadas para os testes de uniformidade de germinação e estabelecimento de mudas. PC, plântula completa (presença de folhas, epicótilo, hipocótilo, raízes, com ou sem cotilédone); PIC, plântula incompleta (presença de hipocótilo, cotilédone, raízes ou radícula); SG, semente germinada (presença de cotilédone e radícula); SM, semente morta (semente não germinada, com características de deterioração visíveis); e SNG (sementes vivas, mas não germinadas)..... 22
- Figura 2.** Teste do tetrazólio em sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby] antes (Sem esc.) e após escarificação em água 100°C e em lixa. As imagens são representativas de quatro repetições e as abreviações referem-se a tegumento (teg), endosperma (end), cotilédones (cot) e eixo embrionário (ee)..... 23
- Figura 3.** Curvas de embebição de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby] sem escarificação (Sem Esc.) e escarificadas em lixa (Esc. Lixa) e pela imersão em água destilada a 100°C/2 min (Esc H2O 100°C). Os dados representam a média de quatro repetições ± erro padrão..... 24
- Figura 4.** Germinação (A) e índice de velocidade de germinação (IVG; B) de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby] sem escarificação (Sem esc) e escarificadas em lixa (Esc. Lixa) e pela imersão em água destilada a 100°C/2 min (Esc H2O 100°C). Asteriscos indicam diferença significativa entre tratamentos de escarificação comparados no mesmo tempo ao tratamento sem escarificação (teste t – Student, $P < 0,05$). Os dados representam a média de quatro repetições + erro padrão..... 25
- Figura 5.** Alterações nas massas fresca (A) e seca (B) de endospermas de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby], após escarificação com lixa (símbolos pretos) e imersão em água destilada a 100°C (símbolos brancos), em função do tempo de germinação. Asteriscos indicam diferença significativa entre tratamentos comparados no mesmo tempo (teste t – Student, $P \leq 0,05$). Os dados representam a média de quatro repetições ± erro padrão..... 26
- p.**
- Figura 6.** Teores de sacarose (A), carboidratos solúveis totais (CST, B) e amido (C) em cotilédones de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby], após escarificação com lixa (símbolos pretos) e imersão em água destilada a 100°C (símbolos brancos), em função do tempo

de germinação. Asteriscos indicam diferença significativa entre tratamentos comparados no mesmo tempo (teste t – Student, $P \leq 0,05$). Os dados representam a média de quatro repetições \pm erro padrão..... 28

Figura 7. Microscopia ótica aplicada à identificação e distribuição de grãos de amido em cotilédones de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckers) Barneby] após doze dias da escarificação em água destilada a 100°C (A, C, E e G) e com lixa (B, D, F e H). As imagens são representativas de dez sementes por tratamento e as indicações pq, ep, fv e GA referem-se, respectivamente, às células de parênquima, da epiderme, feixe vascular e aos grãos de amido. Barras: 300 μ m (A, B), 100 μ m (C e D), 50 μ m (E e F) e 10 μ m (G e H)..... 29

Figura 8. Microscopia eletrônica de varredura aplicada à identificação e distribuição de grãos de amido em cotilédones de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckers) Barneby] após doze dias da escarificação em água destilada a 100°C (A) e com lixa (B). As imagens são representativas de dez sementes por tratamento e as indicações pq, ea e GA referem-se, respectivamente, às células de parênquima, da epiderme adaxial e grãos de amido..... 30

Figura 9. Aspecto das plântulas de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckers) Barneby] após 24 dias dos tratamentos de escarificação com em lixa e em água a 100°C. As figuras são representativas de quatro repetições (25 sementes cada)..... 31

LISTA DE TABELAS

	p.
Tabela 1. Qualidade física de sementes de paricá [<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> (Huber ex Duckering) Barneby] coletadas na reserva indígena de Parakanã, Tucuruí, Pará.....	16
Tabela 2. Indicadores de vigor e uniformidade no estabelecimento de plântulas de paricá [<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> (Huber ex Duckering) Barneby] germinadas sob condições ambientais naturais.....	32
Tabela 3. Biomassa acumulada em plântulas de paricá [<i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> (Huber ex Duckering) Barneby] germinadas sob condições ambientais naturais.....	32

RESUMO

A germinação de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber x Duckering) Barneby] depende da aplicação de métodos de escarificação para superar a dormência física imposta pelo tegumento. Uma grande variação entre métodos, com relação ao estímulo da germinação e produção de mudas uniformes, tem sido observada. Neste experimento, propõe-se que as diferenças na eficiência entre métodos de escarificação em promover uma alta germinação deva estar relacionada à (i) morte dos tecidos, (ii) embebição diferencial das sementes, (iii) rápida depleção do endosperma e, com isso, resultam em diferentes (iv) alterações nos teores de carboidratos nos cotilédones relacionadas à nutrição inicial da plântula e (v) na produção de mudas uniformes. Para isto, alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos relacionados à germinação foram avaliados após as sementes de paricá terem sido submetidas a três tratamentos: (i) controle; (ii) escarificação em água destilada a 100°C, por dois minutos; e (iii) escarificação em lixa, ambos seguidos de imersão em água destilada à temperatura ambiente por 24 h. O método de escarificação em lixa promoveu uma rápida germinação das sementes, iniciada a partir do quarto dia, e resultou em alta taxa de germinação (94%), estabilizada a partir do oitavo dia de experimento. Por outro lado, sementes escarificadas em água a 100°C apresentaram uma germinação mais tardia, iniciada apenas no sexto dia de experimento e, quando comparadas no décimo segundo dia, apresentou baixa taxa de germinação (20%), enquanto que o tratamento controle não houve germinação. Com o teste de tetrazólio foi possível observar a formação de uma coloração vermelha e uniformemente distribuída no endosperma e embriões das sementes de ambos os tratamentos indicando a viabilidade das sementes. Houve uma rápida embebição das sementes escarificadas em lixa, iniciada 12 h após a imersão das mesmas em água destilada e estabilizada ao final de 72 h. Isto resultou em rápida depleção das reservas do endosperma, cujos decréscimos foram expressivos após dois dias de experimento, levando a uma completa depleção do mesmo após o décimo dia. Para as sementes escarificadas em água a 100°C foi demonstrado que tanto a embebição quanto a depleção do endosperma foram muito lentas e não atingiram a estabilização, indicando que um tempo maior para a germinação dessas sementes seria necessário. A escarificação em lixa induziu forte síntese de amido nos cotilédones, garantindo a nutrição dos tecidos na fase de formação das plântulas, que se mostraram mais vigorosas e uniformes em relação àquelas obtidas após escarificação em água a 100°C.

Palavras chave: Escarificação, Embebição, Produção de mudas, Síntese de amido, Vigor.

ABSTRACT

Germination of paricá seeds is dependent on scarification method to break down physical dormancy. Such methods differ greatly in terms of efficiency to promote high and uniform germination as well as to produce uniform seedlings. In this work is proposed that differences between methods are possibly related to its effects on (i) tissue viability, (ii) seeds imbibition, (iii) mobilization of endosperm reserves, and (iv) to the changes in the carbohydrates levels in the cotyledons during germination, favoring uniform and vigorous seedlings establishment. For this purpose, some physiological and biochemical aspects related to seed germination were evaluated after subject paricá seeds to contrasting methods to break down physical dormancy: (i) immersion of seeds in distilled water at 100°C, for 2 min (less efficient method – low germination rate); and (ii) scrubbing seeds on sandpaper (more efficient method – high germination rate). In such a case, seeds were imbibed after scarification using distilled water, at room temperature, for 24 h. As expected, germination of sandpaper-scarified seeds was faster and evident from the second experimental day. Higher germination rate (94%) was registered eight days later, and no significant increments were registered until experimental day twelve, pointing stabilization of germination. On the contrary, germination of hot water (100°C)-scarified seeds get started six days from the initial time and higher germination (20%) was registered only on day 12, pointing that longer time to complete germination should be required. Differences between methods were not explained by its influence on tissue availability, since no differences were observed after reacting seeds tissue to tetrazolium. Nevertheless, scarification on sandpaper resulted on faster seeds imbibition, started 12 h after its incubation in distilled water and stabilized 72 h later. Also, mobilization of seeds reserves (endosperm depletion) was evident from the second experimental day and it was completed eight days later (day 10). Both imbibition and endosperm depletion were slower after scarification of seeds in water at 100°C, with no apparent stabilization. An expressive synthesis of starch in the cotyledons was induced after sandpaper-scarification, granting tissue nutrition during seedling establishment. It explains, at least in parts, the uniform germination (and emergence) and production of more vigorous seedlings after scarification of seeds on sandpaper.

Keywords: Imbibition, Scarification, Seedling establishment, Starch synthesis, Vigor.

1. INTRODUÇÃO

O Paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckert) Barneby) é uma espécie florestal, pertencente à família Fabaceae (Leguminosae), subfamília Caesalpinoideae (BARNEBY, 1996), .popularmente conhecido como guapuruvu, bageiro, fava divina, dentre outros. Ocorre na Amazônia em floresta primária e secundária de terra-firme e várzea alta e está relativamente bem distribuída nos estados do Amazonas e Pará (MARQUES et al., 2004). Sua madeira é leve e de processamento fácil, comumente utilizada na fabricação de palitos de fósforo, saltos de calçados, brinquedos, maquetes, embalagens leves, canoas, forros, miolo de painéis e portas, formas de concreto, laminados, compensados, celulose e papel (FALESI; SANTOS, 1996; ROSA; PINHEIRO, 2001). Essa espécie tem sido indicada para plantios comerciais, tanto em sistemas agroflorestais quanto em consórcios, somando, só no estado do Pará, uma área estimada de, pelo menos, 30.000 ha.

Apesar de muitos protocolos de propagação de paricá por meio de cultura de tecidos e segmentos caulinares (estacas) terem sido desenvolvidos nos últimos anos (REIS et al., 2008; CORDEIRO et al., 2007; ROSA; PINHEIRO, 2001), a produção de mudas é geralmente realizada via seminífera, uma vez que os pequenos produtores nem sempre dispõem de tais tecnologias. Nesse caso, o semeio é realizado diretamente em sacolas ou bandejas e a produção das mudas segue os protocolos padrões de manejo comumente empregados em viveiros.

As sementes de paricá utilizadas na produção de mudas são coletadas a partir de indivíduos adultos que habitam áreas de florestas nativas e sua germinação é baixa, em torno de 28% (MARUYAMA; UGAMOTO, 1989). Segundo Cruz e Carvalho (2006), taxas de germinação acima de 90% podem ser obtidas em paricá; no entanto, um tempo prolongado (aproximadamente 2.310 dias) seria necessário para a obtenção de tal resultado. Esse tempo prolongado para a obtenção de alta taxa de germinação natural (sem aplicação de métodos de quebra de dormência) é uma forte evidência de que as sementes de paricá são acometidas por uma dormência física ou tegumentar capaz de limitar a rápida e uniforme germinação das sementes (BASKIN; BASKIN, 1998; CRUZ et al., 2001), figurando como um problema à obtenção de mudas uniformes e em quantidade para atender a demanda atual de mercado.

De acordo com Fowler e Bianchetti (2000), a dormência física em sementes pode ser quebrada pela utilização de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Em paricá, uma taxa de germinação de 92% foi obtida após a incubação das sementes em H_2SO_4 concentrado por 60 min (CRUZ et al., 2007). Alternativamente, a imersão em água quente pode também ser utilizada e, nesse caso, as temperaturas entre 60 e 100°C são comumente empregadas. Considerando-se o desenvolvimento de tecnologia que possa ser diretamente aplicada pelo produtor, a utilização de métodos de quebra de dormência utilizando-se água quente é preferencial, uma vez que seu custo é menor e não envolve riscos de acidentes pela ação do ácido. Portanto, a quebra de dormência física de sementes por meio de imersão em água quente tem sido testada para uma grande variedade de espécies. Como exemplo, a imersão em água a 80°C por alguns minutos seguindo-se da imersão em água à temperatura ambiente por 18 h foi um eficiente método para promover altas taxas de germinação em *Acacia longifolia* (MEDEIROS; ZANON, 1999) e *Mimosa bimucronata* (FOWLER; CARPANEZZI, 1998).

A imersão de sementes de *Schizolobium amazonicum* em água a 80°C e a 100°C, por dois minutos, seguidas de embebição em água por 24 h (temperatura ambiente) resultou em 19,5 e 39,5% de germinação, respectivamente, após 12 dias do semeio. Esses valores podem chegar a 91,5% após a escarificação em lixa e, embebidas em água à temperatura ambiente por 24 h (CRUZ; CARVALHO, 2006).

Do exposto, tanto a temperatura da água quanto o tempo de imersão são importantes no processo de quebra de dormência das sementes. Além disso, promover a embebição da semente após a aplicação de um protocolo de escarificação tem relevante papel na promoção da germinação.

Uma vez quebrada a dormência, a germinação inicia com a degradação das reservas contidas nas sementes, as quais podem ocorrer na forma de carboidratos, lipídios e/ou proteínas. Destas, as principais reservas são o amido, as frutanas e os polissacarídeos de parede celular; porém, apenas o amido e os polissacarídeos de parede são comumente encontrados em endospermas (BUCKERIDGE et al., 2000). Nas leguminosas, as galactomananas e xiloglicanas são os mais importantes polissacarídeos metabolizados durante a germinação (BUCKERIDGE, 2000). Considerando-se que durante a germinação essas reservas são consumidas para o desenvolvimento embrionário, muitas pesquisas tem sido conduzidas no sentido de averiguar a magnitude de tais alterações, principalmente com

relação à atividade de enzimas hidrolíticas e teores de carboidratos no endosperma e embrião (BUCKERIDGE et al., 2000; POTOMATI; BUCKERIDGE, 2002; LISBOA et al., 2006; GALLARDO et al., 2008), bem como elucidar aspectos moleculares relacionados à quebra de dormência (FINKELSTEIN et al., 2008).

No entanto, pouco enfoque tem sido dado às alterações sofridas pelos cotilédones durante a germinação, ainda que este haja como fonte primária de carbono para a respiração enquanto a plântula não alcança sua maturidade fotossintética. Dentre poucos exemplos encontrados em literatura, em *Caesalpinia peltophoroides* (Leguminosae), o teor de amido nos cotilédones aumentou até o décimo quinto dia do semeio, seguindo-se de sucessivos decréscimos com o desenvolvimento da plântula (CORTE et al., 2008). Essas informações não são conhecidas para *S. amazonicum* e é possível que o acúmulo de amido nos cotilédones durante a germinação exerça algum papel no estabelecimento das mudas.

Neste trabalho, foi proposto que as diferenças observadas na eficiência entre métodos de quebra de dormência física em paricá observadas por Cruz e Carvalho (2006) devam estar associadas à sua capacidade em promover a embebição das sementes (reidratação dos tecidos) e acelerar a degradação de reservas do endosperma, com efeitos nos níveis de carboidratos nos cotilédones e estabelecimento das plântulas. Tal hipótese é baseada no bem estabelecido papel fisiológico e bioquímico da água durante a germinação que, dentre outros, promove a ativação, ou até mesmo síntese *de novo*, de várias enzimas hidrolíticas (amilases, fosforilases, dentre outras). Essas enzimas, por seu turno, são responsáveis pela mobilização de reservas do endosperma, cujos produtos serão utilizados na respiração celular e produção do ATP necessário às funções metabólicas.

Para testar essa hipótese, o comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de paricá foi avaliado após a aplicação de dois métodos contrastantes de quebra de dormência: (i) escarificação em água destilada a 100°C, por dois minutos; e (ii) escarificação em lixa, ambos seguidos de imersão em água destilada à temperatura ambiente por 24 h; com os objetivos específicos de averiguar se a eficiência de tais métodos em promover a quebra de dormência e estimular a germinação está relacionada à (i) morte dos tecidos, (ii) à embebição diferencial das sementes, à (iii) depleção do endosperma e (iv) alterações nos teores de carboidratos nos cotilédones. Por fim, (v) foi avaliada, a eficiência dos métodos na uniformização da germinação e estabilização das mudas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material vegetal e escarificação das sementes

Sementes de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckers) Barneby) foram coletadas de matrizes selecionadas na Terra Indígena Parakanã, localizada entre os municípios de Novo Repartimento e Itupiranga (04°37' S, 50° O), sudeste do estado do Pará, Brasil, no mês de outubro de 2007. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em câmara úmida, a 15°C, no Laboratório de Análise de Sementes Florestais (Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA), até a instalação do experimento, conduzido no Laboratório de Físico-química (Centro de Tecnologia Agropecuária, ISARH/UFRA). Antes dos experimentos definitivos foi realizada uma triagem das sementes, visando o descarte daquelas imaturas e deterioradas e daquelas que apresentaram algum tipo de dano tegumentar. Posteriormente, o lote de sementes foi caracterizado por meio da determinação do seu grau de umidade, peso de 1.000 sementes, número de sementes por kg, largura e comprimento (Tabela 1) conforme as Regras de Análises de Sementes – RAS (BRASIL, 1992). O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, consistindo de três tratamentos: (i) sementes sem escarificação, (ii) imersão em água a 100°C, por dois minutos e (iii) fricção das sementes em lixa, na região oposta ao embrião. Após a aplicação dos tratamentos de escarificação, as sementes foram imersas em água destilada por 24 h, à temperatura ambiente, visando sua embebição e, em seguida sanitizadas pela imersão em hipoclorito de sódio a 2%, por 1 min. O excesso de hipoclorito foi removido lavando-se as sementes em água corrente e após secas as mesmas foram utilizadas nos diversos testes de interesse.

Tabela 1. Qualidade física de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckers) Barneby] coletadas na terra indígena Parakanã - Pará.

Variáveis	Valor/Unidade
Umidade*	8,8 %
Peso de mil sementes*	878 g
Número de sementes em 1 kg*	1.139 unidades
Largura	1,51 cm
Comprimento	2,30 cm

*RAS-(BRASIL,1992)

2.2. Teste do tetrazólio

Sementes sem escarificação e escarificadas (lixa e água a 100 °C) foram incubadas em água por 24 horas, à temperatura ambiente (25 °C). Decorrido este período os tegumentos foram cuidadosamente retirados, e os endospermas e embriões incubados em solução 0,075% de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio (pH 6,5), na ausência completa de luz, durante 3 horas a temperatura de 25 °C. Após o desenvolvimento da coloração os endospermas e embriões foram lavados em água destilada para a remoção do excesso da solução de tetrazólio e, deixadas em água até a hora da avaliação. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. (SHIMIZU et al., 2008). Os embriões foram cortados no sentido longitudinal abrangendo os cotilédones e eixo embrionário.

Foram consideradas vivas as sementes que apresentaram coloração vermelha uniformemente distribuída nas estruturas da semente, indicando atividade das enzimas desidrogenases relacionadas à respiração celular (DELOUCHE et al., 1976; BRASIL, 1992).

2.3. Curva de embebição

Sementes escarificadas, sanitizadas e previamente enxugadas foram imediatamente pesadas para a obtenção de seu peso inicial (P_i). Em seguida, as mesmas foram imersas em água destilada (quatro repetições de 25 sementes/400 mL de água cada) e mantidas em câmara de germinação a 25°C. A cada 12 h subseqüentes à imersão inicial das sementes (tempo zero) em água destilada, estas eram enxugadas e novamente pesadas, correspondendo ao peso final (P_f) em cada tempo de avaliação.

A embebição (E) foi calculada para cada tempo de avaliação, relacionando-se os pesos obtidos [$E = ((P_f - P_i)/P_i) \times 100$] e os resultados foram expressos em percentagem de embebição. O tempo total de avaliação foi estabelecido como o tempo necessário para a estabilização da embebição de um dos tratamentos de escarificação. Os resultados foram expressos em percentagem de embebição.

2.4. Teste de germinação, índice de velocidade de germinação e depleção do endosperma

Para o teste de germinação, sementes escarificadas e sanitizadas foram dispostas em papel “germitest” tipo toalha, umedecido com água destilada no volume de 3,0 vezes o peso do papel (RAMOS et al, 2006), os rolos foram acondicionados em sacos plásticos e mantidos em câmara de germinação (TE401, Tecnal, São Paulo, Brasil) regulada à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas.

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes e consideradas germinadas as sementes cuja radícula apresentaram pelo menos 1 cm de comprimento, e o teste de germinação foi conduzido pelo tempo necessário para a uniformização da germinação das sementes de um dos tratamentos. Os dados foram expressos em percentagem de germinação. Em paralelo a esse teste, foi também calculado o índice de velocidade de germinação (IVG) com contagens diárias das sementes germinadas conforme as RAS (BRASIL, 1992).

O consumo de reservas do endosperma (depleção do endosperma) foi determinado indiretamente, avaliando-se as alterações na sua massa fresca e seca durante o processo de germinação. Para este ensaio, sementes escarificadas, embebidas e sanitizadas de paricá foram incubadas em câmara de germinação conforme descrito para o teste de germinação e, a cada dois dias e por um período de doze dias, o endosperma remanescente foi coletado e sua massa fresca imediatamente determinada. Em seguida, essas amostras foram acondicionadas em sacos de papel e secas em estufa de ventilação forçada, a 65°C, até massa constante, para a determinação de sua seca. Os resultados foram expressos em grama de matéria fresca (depleção do endosperma).

2.5. Teores cotiledonares de sacarose, carboidratos solúveis totais e amido

Amostras de cotilédones foram coletadas a partir de sementes escarificadas, embebidas e sanitizadas durante o teste de germinação (item 2.4), a cada dois dias e por um período de doze dias. As amostras foram conservadas a -20°C até o momento das análises.

Os teores de sacarose foram determinados segundo Van Handel (1968), modificado. Amostras de 0,5 g de massa fresca (MF) foram homogeneizadas em 1,5 mL de MCW (metanol, clorofórmio e água; 12:5:3 v/v/v) e centrifugadas a 3.500 g, por 30 min, à 4°C. A extração foi repetida duas vezes para o resíduo, os sobrenadantes reunidos e seu volume final

determinado. A cada 2 mL deste sobrenadante foram adicionados 0,5 mL de clorofórmio e 0,75 mL de água destilada. Após vigorosa agitação e centrifugação da mistura (3.000 g, por 10 min, a 4°C), a fração aquosa metanólica (superior) foi coletada e incubada a 35°C, por 40 min, para a evaporação do clorofórmio residual. Do extrato resultante, uma alíquota de 0,1 mL foi utilizada nas análises, iniciadas pela adição de 0,1 mL de KOH 30% e incubação a 100°C, por 10 min. Após resfriamento, 3 mL de antrona 0,2% (em H₂SO₄ concentrado) foram adicionados e as amostras incubadas a 40°C, por 20 min. Após novo resfriamento, a absorbância das amostras foi obtida a 620 nm em um espectrofotômetro UV-Visível (GenesysTM10series, Thermo Electron Co., Wisconsin, USA) e a partir de uma curva padrão de sacarose os resultados foram calculados e expressos em mg de sacarose g⁻¹ de MF.

Para extração e quantificação de carboidratos solúveis totais (CST) e amido foi utilizada a metodologia de Dubois et al., (1956), com algumas modificações. Amostras de 0,5 g de MF foram homogeneizadas em 5 mL de etanol 80% (em ebulição) e incubadas a 90°C por 60 min. Após centrifugação a 3.500 g, por 10 min, à temperatura ambiente, o sobrenadante foi reservado e a extração repetida por duas vezes. Todos os sobrenadantes foram reunidos e, após determinar seu volume final, uma alíquota de 60 µL por amostra foi coletada e a ela adicionados 940 µL de água destilada e 5 mL de antrona 0,2% (em H₂SO₄ concentrado). A mistura foi agitada e incubada a 100°C, por 15 min e, após resfriamento, a absorbância foi obtida a 620 nm. Para os cálculos, uma curva padrão de glicose foi preparada e os resultados expressos mg de glicose g⁻¹ de MF.

O amido foi extraído dos resíduos da extração de CST, pela adição de 2 mL de água destilada e 3 mL de ácido perclórico (HClO₄) 52%. A mistura foi homogeneizada e incubada à temperatura ambiente por 30 min. Após centrifugação (3.500 g, por 5 min, à temperatura ambiente), o sobrenadante foi coletado e a extração repetida duas vezes. Os sobrenadantes foram reunidos, o volume final determinado e, destes, alíquotas de 30 µL do extrato foram coletadas para as análises, que foram iniciadas pela adição 970 µL de água destilada e 5 mL de antrona 0,2% (em H₂SO₄). Após agitação, incubação a 100°C (por 15 min) e resfriamento, a absorbância das amostras foi obtida a 620 nm. Uma curva padrão de glicose foi preparada e os resultados calculados foram expressos mg de glicose g⁻¹ de MF.

2.6. Identificação microscópica da distribuição de grãos de amido em cotilédones

Os cotilédones foram coletados 12 dias após iniciado o processo de germinação (item 2.4.) e conservados em álcool etílico 70% até as avaliações. Foram feitos cortes cotiledonares transversais realizados à mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear, sendo selecionados os mais delgados para coloração e visualização. As lâminas histológicas foram montadas em água e a identificação dos grãos de amido realizada pela adição de lugol (JOHANSEN, 1940). Um microscópio confocal (Axiolab A, Carl Zeiss Inc., Göttingen, Alemanha) foi utilizado para a visualização das lâminas e as imagens captadas em três diferentes aumentos (4x, 10x e 100x) por meio de uma câmera fotográfica digital (PowerShot A640, Cannon, Tóquio, Japão) acoplada ao microscópio.

Para a microscopia eletrônica de varredura, amostras de cotilédones foram coletadas 12 dias após o início da germinação, desidratadas pela série etanólica crescente (JOHANSEN, 1940) e processadas em secador de ponto crítico de CO₂. Após montadas em suportes metálicos metalizados com ouro, de aproximadamente 20 nm de espessura (150 s, em corrente de 25 mA; SILVEIRA, 1989), as eletromicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura modelo LEO 1450VP, e as escalas micrométricas foram projetadas nas mesmas condições ópticas.

As análises microscópicas foram realizadas no Laboratório Institucional de Microscopia Eletrônica de Varredura do Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém-PA.

2.7. Indicadores de uniformidade de emergência e estabelecimento de plântulas

A uniformidade da emergência e formação das plântulas (mudas) foi averiguada pela determinação da frequência de estruturas pós germinativas, pelo índice de velocidade de emergência (IVE) e pela alocação de biomassa às estruturas pós germinativas. Para isso, sementes escarificadas, embebidas e sanitizadas foram semeadas em bandejas de polietileno preenchidas com 3 kg de areia lavada e esterilizada em autoclave (120°C, 15 min), sob condições de casa de vegetação por um período de 24 dias. Durante este período, as médias de temperatura e umidade relativa diurnas do ar foram aproximadamente de 30°C e 85%, respectivamente, enquanto a média diária de radiação incidente ao meio dia foi em torno de 700 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A umidade do substrato foi mantida pela adição diária de 200 mL de água

destilada em cada bandeja. Para esses ensaios foram utilizadas quatro repetições por tratamento, constituídas de 25 sementes cada. O IVE calculado conforme Maguire (1962):

$$\text{IVE} = (E1/N1) + (E2/N2) + \dots + (En/Nn), \text{ onde:}$$

IVE - Índice de velocidade de emergência de plântula.

E1, E2,..., En - números de plântulas emersas na primeira, segunda... e última contagens.

N1, N2,..., Nn - número de dias da semeadura à primeira, à segunda... e à última contagens.

As variáveis E e IVE indicam, respectivamente, o número de sementes que produzem plântulas (resultante do processo germinativo e emissão de estruturas através do tegumento - emergência) e o vigor com que essas plântulas emergiram. Entretanto, essas variáveis (E e IVE) não indicam se o processo de emergência ocorreu de forma uniforme. Para verificar a uniformidade da emergência o conteúdo de cada bandeja (repetição) foi separado nas seguintes classes: plântulas completas (PC; presença de raízes, hipocótilo, epicótilo, folhas jovens, com ou sem cotilédones), plântulas incompletas (PIC, presença apenas de radícula ou de raízes, hipocótilo, cotilédones, com ou sem tegumento), sementes germinadas (SG, presença de radícula aparente e demais partes da semente envoltas pelo tegumento), sementes mortas (SM; sementes não germinadas e com tecidos visivelmente deteriorados) e sementes não germinadas (SNG, sementes não germinadas e com tecidos vivos). Detalhes da classificação adotada são mostrados na Figura 1. Em seguida, a frequência relativa foi obtida para cada classe, por meio da contagem direta de indivíduos dentro de cada classe em relação ao total de sementes semeadas em cada bandeja (25 sementes). Os dados foram expressos em porcentagem.

Após a determinação da frequência relativa das estruturas pós germinativas, cada indivíduo foi separado em folhas, hipocótilo, epicótilo, cotilédone, raízes e radícula. As partes estruturais foram acondicionadas separadamente por repetição em sacos de papel e secas em

estufa de ventilação forçada de ar a 65°C, até massa constante, para a determinação de sua massa seca.

2.8. Análise estatística

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, consistindo de três tratamentos, com quatro repetições de 25 sementes. Para a curva de embebição os dados foram submetidos à análise de variância e aplicados à regressão linear, cujas significâncias das equações foram averiguadas pelo teste F ($P < 0,05$). Os dados de porcentagem de germinação, depleção do endosperma e teores foliares de carboidratos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas dentro de cada período de avaliação pelo teste t-Student ($P < 0,05$). Ressalta-se que apenas os dados de germinação e emergência foram transformados para arco seno $(x/100)^{0,5}$, embora os dados puros (em porcentagem) tenham sido apresentados. Os dados de emergência, índice de velocidade de emergência, frequência relativa de estruturas pós germinativas e alocação de biomassa foram submetidos à análise de variância e as médias entre tratamentos de escarificação comparadas pelo teste de Newman-Keuls ($P < 0,05$).



Figura 1. Classificação das estruturas pós germinativas de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducker) Barneby] utilizadas para os testes de uniformidade de germinação e estabelecimento de mudas. PC, plântula completa (presença de folhas, epicótilo, hipocótilo, raízes, com ou sem cotilédone); PIC, plântula incompleta (presença de hipocótilo, cotilédone, raízes ou radícula); SG, semente germinada (presença de cotilédone e radícula); SM, semente morta (semente não germinada, com características de deterioração visíveis); e SNG (sementes vivas, mas não germinadas).

3. RESULTADOS

3.1. Teste do tetrazólio

Nas sementes que foram apenas incubadas em água destilada (25°C) e não foram submetidas a nenhum tratamento de escarificação não foi observada formação de coloração vermelha em nenhuma das partes da semente, indicando que não houve reação positiva ao tetrazólio (Figura 2). Para as sementes escarificadas em água 100°C ou em lixa, uma coloração vermelha e uniformemente distribuída foi observada no endosperma e eixo embrionário (Figura 2), cujos tecidos apresentaram-se firmes e sem danos aparentes. Uma pequena diferença de coloração foi observada nos cotilédones, de forma que as sementes escarificadas em água 100°C apresentaram ausência de coloração vermelha em algumas regiões da borda cotiledonar. No entanto, pode-se inferir que mais de 75% das estruturas das sementes de ambos os tratamentos reagiram positivamente ao tetrazólio (Figura 2).

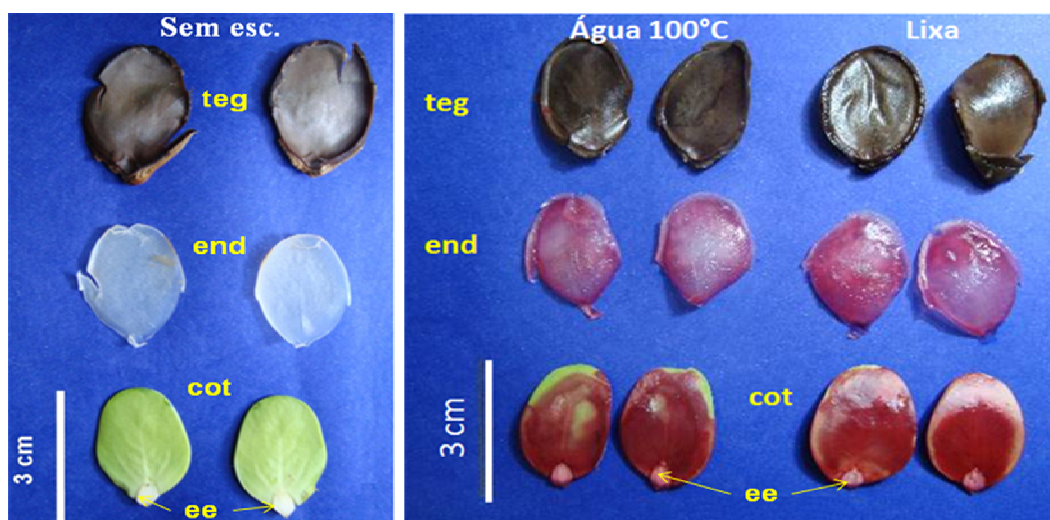


Figura 2. Teste do tetrazólio em sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducken) Barneby] antes (Sem esc.) e após escarificação em água 100°C e em lixa. As imagens são representativas de quatro repetições e as abreviações referem-se a tegumento (teg), endosperma (end), cotilédones (cot) e eixo embrionário (ee).

3.2. Curva de embebição

Para as sementes não escarificadas, os valores médios de embebição foram praticamente constantes ao longo do período de 72 h, com médias muito próximas de zero. Isto indica que, independente do tempo de embebição, as sementes não escarificadas não absorveram água (Figura 3). As curvas de embebição das sementes escarificadas em lixa ou em água 100°C apresentaram comportamento quadrático e foram altamente significativas ($P < 0,05$); no entanto, o padrão de resposta foi substancialmente diferente entre tratamentos (Figura 3). Para as sementes escarificadas em lixa a absorção de água foi iniciada 12 h após a imersão das sementes em água destilada, com incrementos rápidos e significativos a cada tempo de avaliação subsequente e estabilização aparente 72 h após o tempo inicial.

Nesse caso, as sementes absorveram um volume de água correspondente a aproximadamente 200% de seu peso inicial (Figura 3). A embebição das sementes escarificadas em água 100°C teve início 24 h após o tempo inicial de imersão; porém, a curva de embebição indicou que a absorção de água por essas sementes foi lenta e que, ao final do período experimental, não houve estabilização do processo (Figura 3).

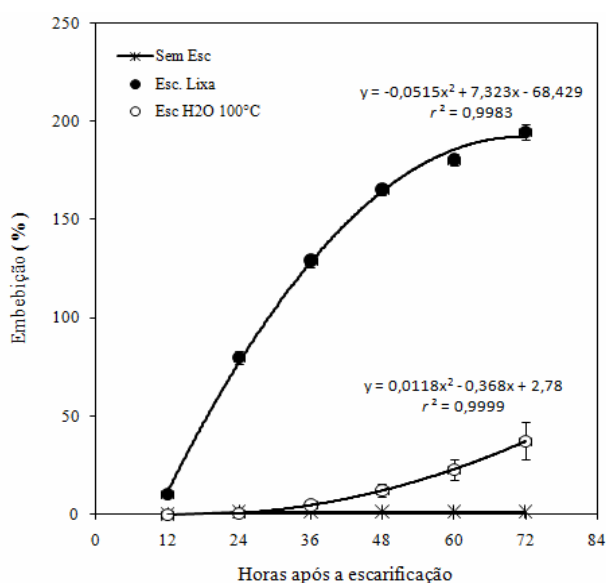


Figura 3. Curvas de embebição de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckers) Barneby] sem escarificação (Sem Esc.) e escarificadas em lixa (Esc. Lixa) e pela imersão em água destilada a 100°C/2 min (Esc. H2O 100°C). Os dados representam a média de quatro repetições \pm erro padrão.

3.3. Germinação

As sementes não escarificadas não germinaram no período de 12 dias e, por essa razão, o IVG foi também nulo (Figura 4A e 4B). A percentagem de germinação variou significativamente ($P < 0,05$) entre os tratamentos de escarificação e em função do tempo de germinação (Figura 4A). Nas sementes tratadas com lixa o processo de germinação foi observado a partir do 4º dia após o início do teste, e o pico máximo de germinação foi alcançado ao 8º dia, a partir do qual nenhuma diferença significativa foi observada. Isto indica a estabilização do processo germinativo o qual resultou em uma germinação de 94% (Figura 4A). Por outro lado, sementes escarificadas em água a 100°C apresentaram embebição lenta, iniciada ao 8º dia do início do teste e com germinação máxima de apenas 20%, obtida ao 12º dia de ensaio (Figura 4A). As diferenças entre taxas de germinação podem ser facilmente percebidas ao se analisar os gráficos obtidos para o IVG (Figura 4B) de cada tratamento, os quais demonstram claramente que o processo de germinação das sementes tratadas em água 100°C foi mais lento ($IVG = 0,49 \pm 0,23$) que em sementes escarificadas em lixa ($IVG = 4,0 \pm 0,77$). Esse resultado também foi esperado, uma vez que para a germinação das sementes escarificadas em lixa ocorreu em um tempo relativamente menor.

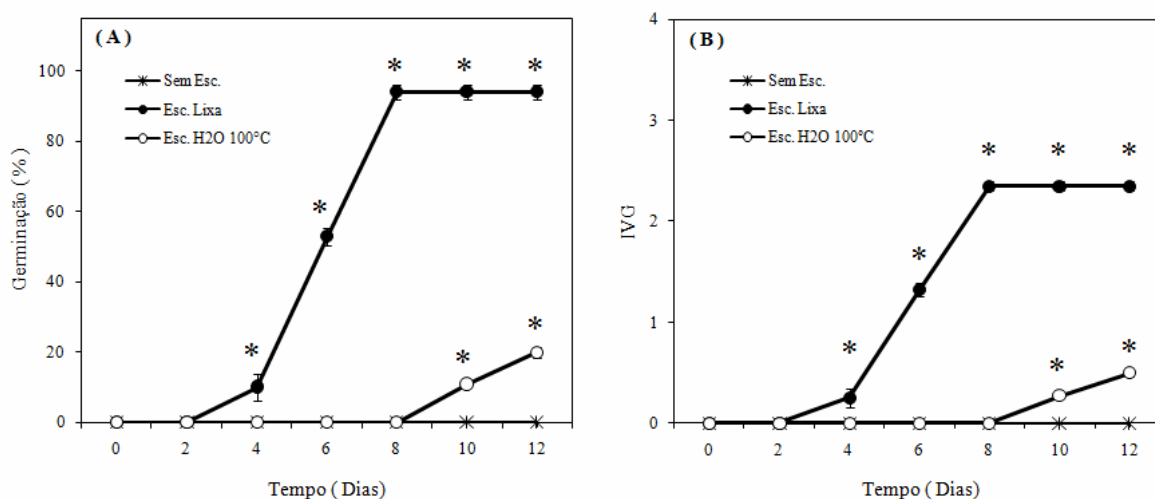


Figura 4. Germinação (A) e índice de velocidade de germinação (IVG; B) de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducker) Barneby] sem escarificação (Sem esc) e escarificadas em lixa (Esc. Lixa) e pela imersão em água destilada a 100°C/2 min (Esc H2O 100°C). Asteriscos indicam diferença significativa entre tratamentos de escarificação comparados no mesmo tempo ao tratamento sem escarificação (teste t – Student, $P < 0,05$). Os dados representam a média de quatro repetições + erro padrão.

3.4. Depleção do endosperma

As variações nas massas frescas e secas apresentaram padrão diferente de acordo com a escarificação utilizada e tais diferenças foram visíveis a partir do segundo dia de avaliação (Figura 5). Para sementes escarificadas em água 100°C, a massa fresca variou de 3,48 g (Dia 0) para 2,72 g (Dia 12) e a massa seca de 1,42 (Dia 0) para 1,06 g (Dia 12), representando uma depleção de endosperma de aproximadamente 22 e 27%, respectivamente (Figura 5A e 5B). Por outro lado, não foram encontrados traços teciduais de endosperma nas sementes escarificadas em lixa, indicando que este foi completamente (100%) exaurido durante a germinação.

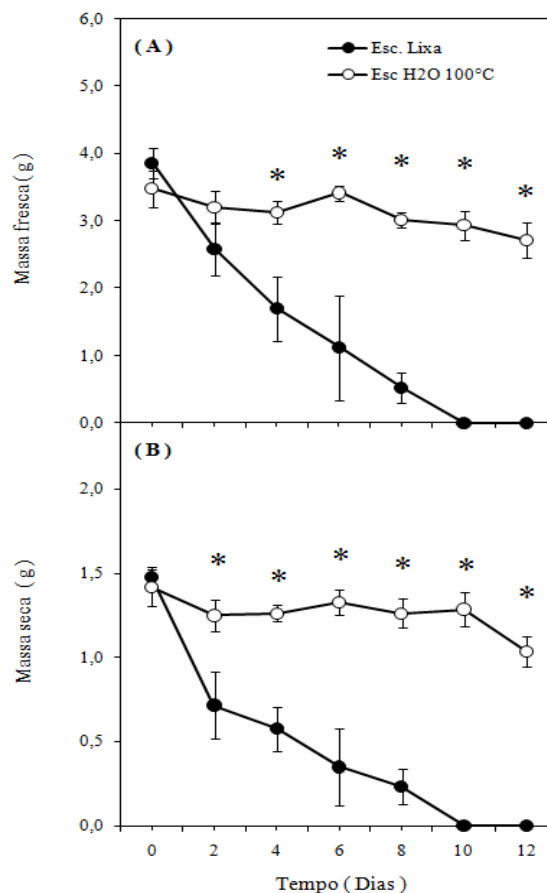


Figura 5. Alterações nas massas fresca (A) e seca (B) de endospermas de sementes de paricá [Schizolobium parahyba var. amazonicum (Huber ex Ducker) Barneby], após escarificação com lixa (símbolos pretos) e imersão em água destilada a 100°C (símbolos brancos), em função do tempo de germinação. Asteriscos indicam diferença significativa entre tratamentos comparados no mesmo tempo (teste t – Student, $P \leq 0,05$). Os dados representam a média de quatro repetições \pm erro padrão.

3.5. Teores de carboidratos cotiledonares e visualização do amido

Em sementes escarificadas em lixa, os teores de sacarose não variaram até o sexto dia da germinação e decréscimos de 55% foram observados a partir do oitavo dia (Figura 6A). A escarificação em água/100°C resultou em constantes teores de sacarose até o segundo dia de germinação, aumentando em 31% nos demais dias tempos de avaliação (Figura 6A).

Comparando-se os dois tratamentos, foi observado que os teores de CST foram diminuídos durante a germinação; no entanto, as reduções foram sempre mais expressivas em sementes escarificadas em lixa que em água a 100°C (Figura 6B). Assim, durante o período destinado à germinação (12 dias), os CST variaram de 47,3 para 35,8 mg g⁻¹ de MF para sementes escarificadas em água 100°C e de 48,1 para 12,4 mg g⁻¹ de MF para sementes escarificadas em lixa. Os resultados obtidos mostraram também que as sementes analisadas imediatamente após a escarificação, embebição e sanitização (Dia 0 nos gráficos), apresentaram teores de amido muito baixos, com valores próximos de zero para ambos os tratamentos de escarificação. Porém, com a evolução do tempo destinado à germinação, um incremento muito expressivo no teor de amido cotiledonar foi observado para as sementes escarificadas em lixa, cujos valores aumentaram de 0,58 mg g⁻¹ de MF (Dia 0) para 52,9 mg g⁻¹ de MF (Dia 4) e 139 mg g⁻¹ de MF (Dia 6), a partir do qual nenhuma alteração significativa foi observada (Figura 6C). Para as mesmas épocas de avaliação, os teores de amido em sementes escarificadas em água 100°C variaram de 1,97 mg g⁻¹ de MF (Dia 0) para 8,6 mg g⁻¹ de MF (Dia 4) e 10,8 mg g⁻¹ de MF (Dia 6) (Figura 6C).

Uma vez que a síntese de amido diferiu substancialmente entre tratamentos, e que as magnitudes nas concentrações de amido encontradas em sementes escarificadas em lixa também foram muito substanciais, os testes de identificação e visualização microscópica do amido foram realizados com o objetivo de comprovar as análises espectrofotométricas. Foram então coletadas amostras cotiledonares de ambos os tratamentos apenas ao final de 12 dias, onde nos teores de amido entre os tratamentos foram mais expressivos, e os resultados mostraram claramente que o amido foi fortemente sintetizado quando as sementes foram escarificadas em lixa (Figura 7 e 8) e que estes foram distribuídos uniformemente ao longo do tecido parenquimático, ocorrendo inclusive nas células próximas à epiderme abaxial (Figura 7B e 8B). Todavia, grãos de amido não foram encontrados nas células que circundavam os feixes vasculares tampouco naquelas próximas à epiderme adaxial (Figura 7B, 7D e 8B). Foi

possível observar ainda que mais de um grão de amido se formava por célula parenquimática, potencializando a capacidade de armazenamento de carboidratos nos cotilédones (Figura 7F, 7H e 8B). Do contrário, grãos de amido em sementes escarificadas em água a 100°C só foram visíveis a um aumento microscópico de 100x, o mesmo ocorrendo em pouca quantidade, mas também distribuído no tecido parenquimático (Figura 7G e 8A).

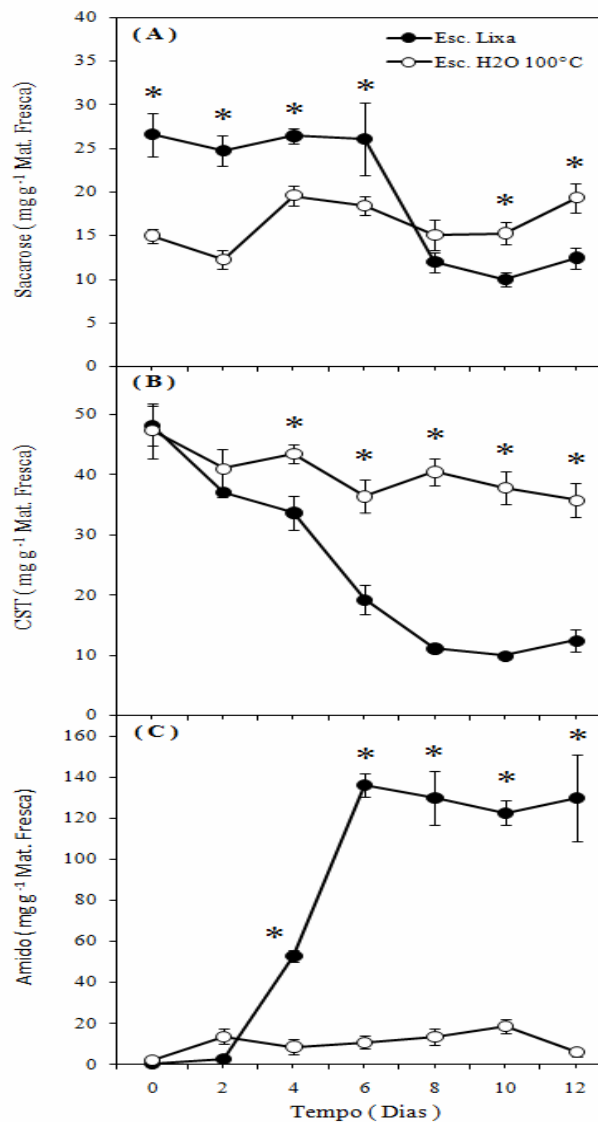


Figura 6. Teores de sacarose (A), carboidratos solúveis totais (CST, B) e amido (C) em cotilédones de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducker) Barneby], após escarificação com lixa (símbolos pretos) e imersão em água destilada a 100°C (símbolos brancos), em função do tempo de germinação. Asteriscos indicam diferença significativa entre tratamentos comparados no mesmo tempo (teste t – Student, $P \leq 0,05$). Os dados representam a média de quatro repetições \pm erro padrão.

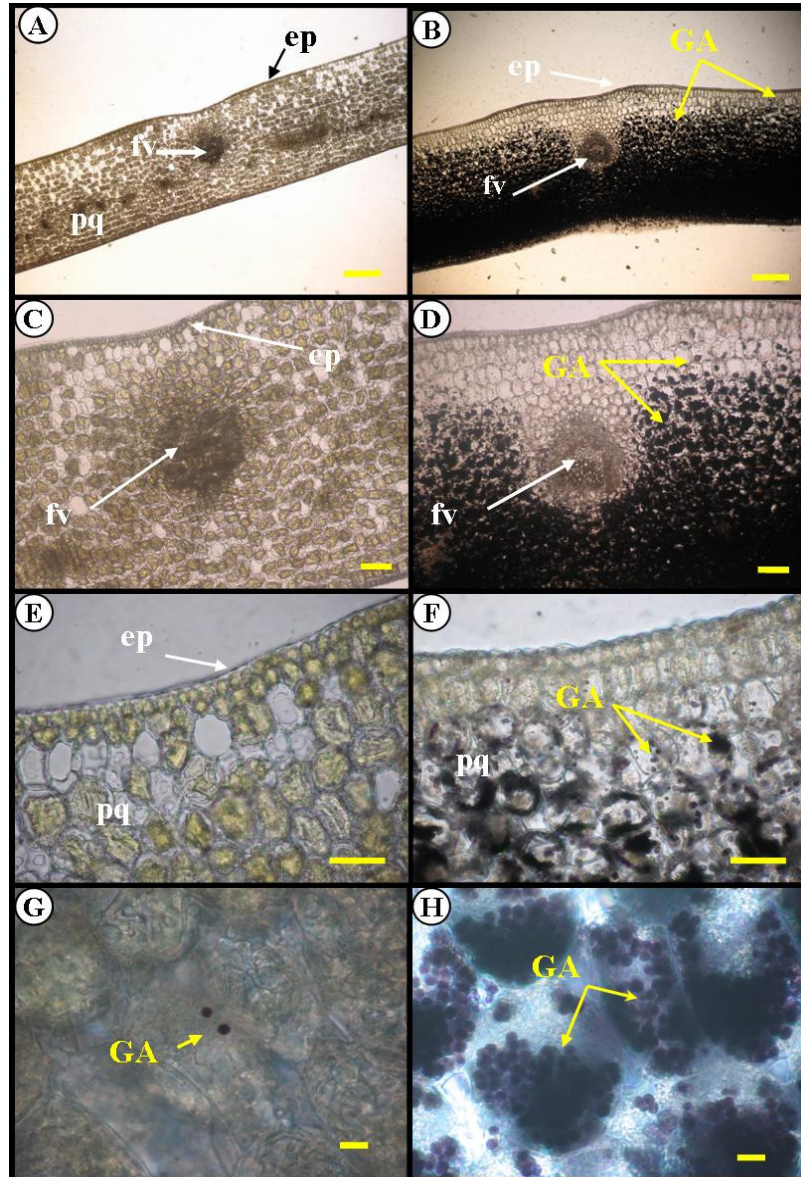


Figura 7. Microscopia ótica aplicada à identificação e distribuição de grãos de amido em cotilédones de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckert) Barneby] após doze dias da escarificação em água destilada a 100°C (A, C, E e G) e com lixa (B, D, F e H). As imagens são representativas de dez sementes por tratamento e as indicações pq, ep, fv e GA referem-se, respectivamente, às células de parênquima, da epiderme, feixe vascular e aos grãos de amido. Barras: 300 μ m (A, B), 100 μ m (C e D), 50 μ m (E e F) e 10 μ m (G e H).

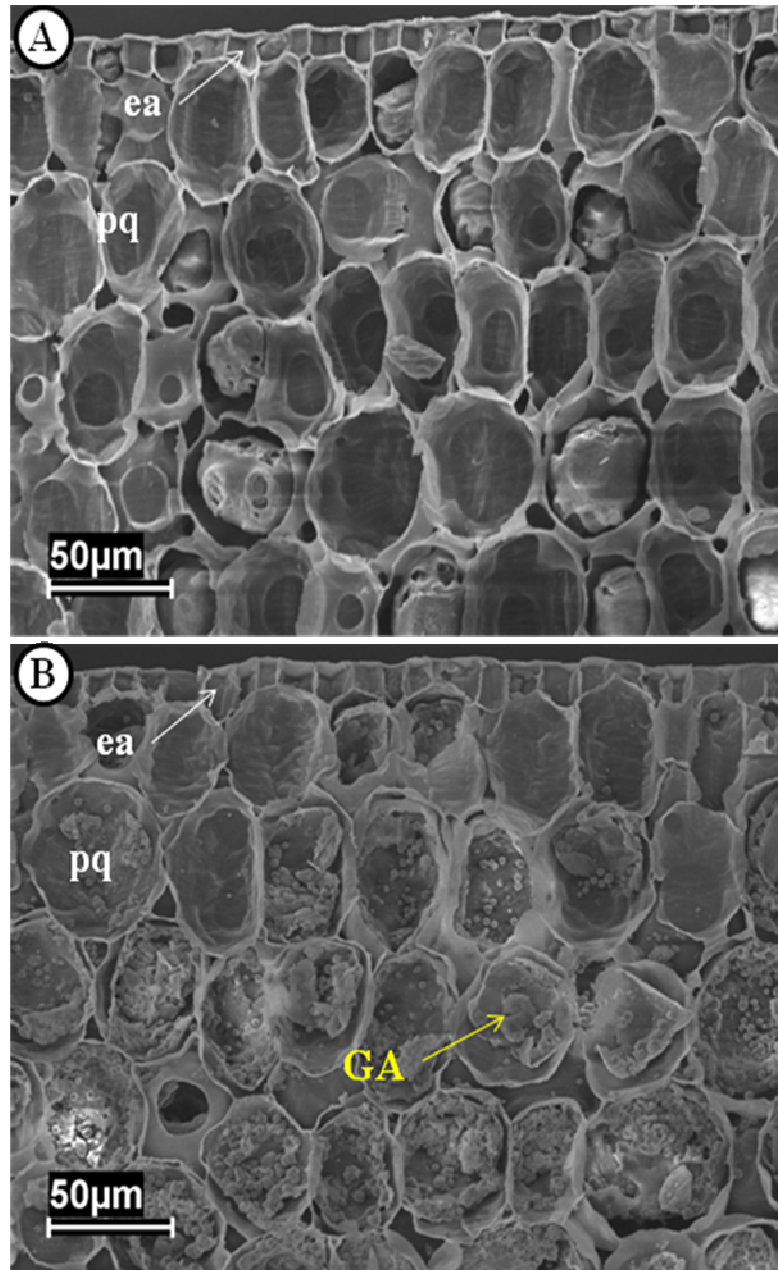


Figura 8. Microscopia eletrônica de varredura aplicada à identificação e distribuição de grãos de amido em cotilédones de sementes de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Duckering) Barneby] após doze dias da escarificação em água destilada a 100°C (A) e com lixa (B). As imagens são representativas de dez sementes por tratamento e as indicações pq, ea e GA referem-se, respectivamente, às células de parênquima, da epiderme adaxial e grãos de amido.

3.6. Indicadores de uniformidade de emergência e estabelecimento de plântulas

Após 24 dias do semeio, a avaliação visual dos tratamentos permitiu inferir que a escarificação das sementes em lixa promoveu uma emergência mais uniforme das plântulas (Figura 9). Tanto a emergência (E) das plântulas quanto o IVE foram maiores ($P < 0,05$) para sementes previamente escarificadas em lixa ($E = 97\%$ e $IVE = 4,36$) que em água a 100°C ($E = 62\%$ e $IVE = 1,60$) (Tabela 2).

Quantitativamente, 83% das plântulas emergidas após escarificação em lixa foram consideradas completas, uma vez que as mesmas apresentaram radícula e raízes, hipocótilo, epicótilo, folhas jovens e, na maioria das vezes, cotilédones ainda presentes. Apenas 14% do total foram consideradas incompletas, devido a ausência de folhas e epicótilo. Não foram encontradas sementes germinadas e não germinadas; mas, as sementes mortas totalizaram 3% (Tabela 2). Para plântulas desenvolvidas após a escarificação em água a 100°C , 35% foram consideradas plântulas completas e 19% incompletas e, do restante das sementes, 8% ainda se encontravam em germinação, 15% não germinaram (possivelmente dormentes) e 23% apresentaram evidências de necrose tecidual (sementes mortas). Uma vez que a frequência de plântulas completas e incompletas foi maior a partir de sementes escarificadas em lixa, foi possível observar também que a biomassa acumulada diferiu entre tratamentos (Tabela 3). Portanto, maiores acúmulos de massa seca de folhas (60%), epicótilo (76%), hipocótilo (71%) e raízes (67%) foram observados em plântulas obtidas de sementes escarificadas em lixa em relação àquelas obtidas após escarificação em água a 100°C ; no entanto, maior acúmulo de massa seca em cotilédones (32%) e radícula ainda evidente foi observado no tratamento de escarificação em água a 100°C .

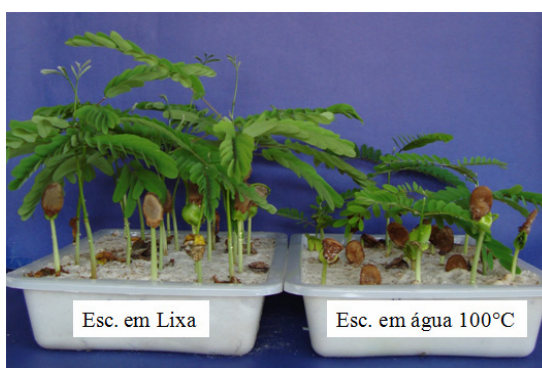


Figura 9. Aspecto das plântulas de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducker) Barneby] após 24 dias dos tratamentos de escarificação com em lixa e em água a 100°C . As figuras são representativas de quatro repetições (25 sementes cada).

Tabela 2. Indicadores de vigor e uniformidade no estabelecimento de plântulas de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber x Ducker) Barneby] germinadas sob condições ambientais naturais.

Variáveis	Tratamentos		
	Sem escarificação	Lixa	Água 100°C
Emergência (%)	n.d.*	97 ± 2 a*	62 ± 3 b
Índice de velocidade de emergência	n.d.	4,36 ± 0,5 a	1,60 ± 0,28 b
Plântulas completas (%)	n.d.	83 ± 1,9 a	35 ± 1,9 b
Plântulas incompletas (%)	n.d.	14 ± 2,0 a	19 ± 6,6 b
Sementes germinadas (%)	n.d.	0 ± 0,0 a	8 ± 2,3 b
Sementes não germinadas (%)	n.d.	0 ± 0,0 a	15 ± 3,0 b
Sementes mortas (%)	n.d.	3 ± 1,9 a	23 ± 4,4 b

*n.d. – não determinados

** Os dados referem-se às médias de quatro repetições (25 sementes cada) ± erro padrão da média analisadas após 24 dias do semeio. Médias de tratamentos de escarificação seguidas de diferentes letras minúsculas para uma mesma variável diferem pelo teste de Newman-Keuls ($P < 0,05$).

Tabela 3. Biomassa acumulada em plântulas de paricá [*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducker) Barneby] germinadas sob condições ambientais naturais.

Variáveis	Tratamentos		
	Sem escarificação	Lixa	Água 100°C
Folhas (g)	n.d.*	3,58 ± 0,44 a*	1,43 ± 0,33 b
Epicótilo (g)	n.d.	0,85 ± 0,07 a	0,20 ± 0,06 b
Hipocótilo (g)	n.d.	2,34 ± 0,08 a	0,67 ± 0,11 b
Cotilédone (g)	n.d.	0,86 ± 0,07 a	1,27 ± 0,13 b
Raiz (g)	n.d.	1,77 ± 0,12 a	0,58 ± 0,14 b
Radícula (g)	n.d.	-	0,04 ± 0,01

* Os dados referem-se às médias de quatro repetições (25 sementes cada) ± erro padrão da média analisadas após 24 dias do semeio. Médias de tratamentos de escarificação seguidas de diferentes letras minúsculas para uma mesma variável diferem pelo teste de Newman-Keuls ($P < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Foi possível observar que as sementes escarificadas em lixa apresentaram maior germinação que aquelas escarificadas em água a 100°C, diferenciando das sementes sem tratamento onde não ocorreu germinação até o final do experimento. Embora estes resultados tenham sido similares àqueles encontrados previamente por Cruz e Carvalho (2006), inclusive com relação ao tempo de estabilização da germinação para o tratamento de escarificação em lixa (12 dias), o que justifica a escolha desse intervalo de tempo para os testes de germinação, depleção do endosperma e análises bioquímicas cotiledonares. Nesse tempo de avaliação fica claramente comprovado que há diferença na eficiência entre os tratamentos em promover a quebra de dormência em sementes de paricá. Trabalhos anteriores, evidenciaram uma maior eficiência da escarificação em lixa, seguida de embebição, em promover a germinação das sementes, resultando sempre em maiores taxas de germinação em tempos relativamente curtos quando comparados às sementes escarificadas em água quente (FALESI; SANTOS, 1996; ROSA, 2000). A escarificação em lixa foi ainda eficiente em promover a quebra de dormência em *Bauhinia unguolata* (ALVES et al., 2000) e *Acacia mearnsii* (MARTINS-CORDER et al., 1999) e em *Bowdichia virgilioides*, cuja germinação aumentou de 21 para 79% (SMIDERLE et al., 2003).

Em termos fisiológicos foi observado que o método de escarificação em lixa promoveu maior vigor das sementes, conforme demonstrado pelo maior IVG obtido para esse tratamento. Dessa forma, sementes mais vigorosas tendem a alcançar maiores taxas de germinação. Em contraste, tratamentos de escarificação em água a 100 °C promovem menor IVG, resultado semelhante àqueles obtidos para sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* escarificadas em água fervente por 2 min (BRUNO et al., 2001), para sementes de *Bauhinia monandra* e *Bauhinia unguolata* escarificadas em água a 80 °C, até o resfriamento (ALVES et al., 2000) e para sementes de *Peltophorum dubium* (PEREZ et al., 1999) e *Cassia excelsa* (JELLER; PEREZ, 1999) escarificadas em água fervente por 5 e 10 minutos.

As diferentes eficiências dos tratamentos de escarificação testados poderiam estar relacionadas a uma possível morte dos tecidos, conforme demonstrado em sementes de *Cassia excelsa* Scharad, escarificadas em água fervente por 5 minutos proporcionou baixo índice de velocidade de germinação, tendo este tratamento resultado em maior ocorrência de danos às membranas celulares, causando um incremento no extravasamento de eletrólitos e

exsudados (JELLER; PEREZ, 1999). Isto levaria à perda de compartimentalização celular e morte dos tecidos. Por outro lado, uma maior desnaturação das enzimas relacionadas à respiração celular pode ocorrer durante a escarificação em água quente e, em última análise, isto também poderia resultar na morte dos tecidos, uma vez que a maioria dos processos metabólicos é mediada por enzimas (BRASIL, 1992).

A morte das sementes em função da escarificação em água quente foi previamente observada em *Senna siamea* após imersão em água a 45 °C, por 72 e 96 h (DUTRA et al., 2007); e em *Stylosanthes scabra*, 100% das sementes foram consideradas mortas após a escarificação em água fervente por 1 min (ARAÚJO, 2002). Portanto, as diferenças entre os métodos de escarificação poderiam ser também explicadas pela possibilidade do tratamento de escarificação em água a 100°C por 2 min, utilizado neste experimento, ter promovido uma maior desnaturação enzimática, afetando a respiração e levando o tecido à morte.

Essa hipótese foi averiguada por meio do teste de tetrazólio, o qual vem sendo utilizado com êxito para avaliar a viabilidade de sementes de espécies florestais (OLIVEIRA et al., 2005a; OLIVEIRA et al., 2005b; FERREIRA et al., 2001; FERREIRA et al., 2004; MENDONÇA et al., 2001). O 2,3,5-trifenil-tetrazólio é um composto químico que ao reagir com cofatores reduzidos produzidos pelas desidrogenases do Ciclo de Krebs (em especial o NADH) resulta na formação de um complexo de coloração avermelhada, indicando atividade respiratória e, portanto, tecido vivo (BRASIL, 1992). De acordo com os resultados obtidos neste trabalho (Figura 2), foi observado que as sementes de ambos os tratamentos não sofreram, alterações significativas em sua atividade respiratória, uma vez que a coloração resultante mostrou-se uniforme em todas as estruturas das sementes (endosperma, cotilédones e eixo embrionário).

O teste não quantifica a taxa de respiração tecidual, logo, é possível que um determinado tecido apresente-se vivo (coloração positiva ao tetrazólio), porém, sua respiração pode ser insuficiente para suprir em energia (ATP) os processos metabólicos que culminam na germinação e/ou emergência da plântula e estabelecimento da muda. Nesse caso, estudos a partir de mitocôndrias isoladas em que as taxas de velocidade de consumo de oxigênio e de enzimas desacopladoras mitocondriais são determinadas (PINHEIRO et al., 2004) ou mesmo da avaliação da respiração em sementes intactas poderiam fornecer resultados mais precisos da taxa de respiração induzida após a aplicação dos tratamentos de escarificação. De qualquer

forma, o teste de tetrazólio permitiu, afirmar que as possíveis diferenças entre tratamentos não foram ocasionadas por morte dos tecidos em função dos diferentes métodos de escarificação.

Uma vez que os tratamentos de escarificação utilizados nesse experimento não promoveram morte dos tecidos, as diferenças no vigor (IVG) e nas taxas de germinação parecem estar mais relacionadas à eficiência do método em promover a embebição das sementes, uma vez que o processo de germinação é completamente dependente da hidratação dos tecidos o que resulta na retomada do metabolismo. Nesse caso, o método de escarificação em lixa, que consistiu da fricção das sementes em superfície abrasiva, deve ter causado pequenas fragmentações no tegumento da semente, tornando-o mais permeável ao influxo de água durante a embebição e, por essa razão, a curva de embebição para sementes submetidas a esse tratamento indicou a rápida absorção de água pelos tecidos, a qual foi estabilizada após 72 h da imersão das sementes em água. Do contrário, a imersão em água a 100°C deve enfraquecer o tegumento por causar uma alteração no número de pontes de hidrogênio formadas entre polissacarídeos de parede, em especial entre microfibrilas de celulose. Isto ocasionaria uma menor agregação desses polissacarídeos, resultando em maior permeabilidade do tegumento ao influxo de água.

Porém, a necessidade de combinar uma dada temperatura ao tempo de imersão das sementes de forma que a embebição seja favorecida sem promover a morte dos tecidos é de crucial importância. De qualquer forma, a curva de embebição das sementes escarificadas em água a 100°C (Figura 3), indicou, uma lenta hidratação dos tecidos e isto, de fato, pode justificar uma menor taxa de germinação dessas sementes.

Retomada a hidratação dos tecidos, uma série de enzimas hidrolíticas são ativadas ou mesmo sintetizadas *de novo* o que pode envolver a ação de giberelinas (BEWLEY e BLACK, 1994). Estas enzimas atuarão na mobilização das reservas das sementes que, em Leguminosas, ocorrem principalmente na forma de galactomananas e xiloglucanas (BUCKERIDGE, 2000). As galactomananas são compostas por uma cadeia linear de resíduos de manose unidas por ligações glicosídicas β -(1→4), à qual resíduos de galactose estão unidos por ligações do tipo α -(1→6) (BUCKERIDGE et al., 2000).

As galactomananas ocorrem tipicamente na parede celular das células do endosperma de sementes de Leguminosas, mas também estão presentes em sementes de espécies de outras

famílias, como Compositae, Convolvulaceae, Annonaceae, Malvaceae, Palmae e Umbelliferae (GUZMÁN; HERNANDEZ, 1982) e, dentre as espécies mais estudadas quanto ao acúmulo desse polissacarídeo, faz-se referência à *Cyamopsis tetragonolobus*, *Trigonella foenum-graecum* e *Ceratonia siliqua* (BUCKERIDGE et al., 2004), devido sua importância para fins comerciais.

Em *Schizolobium parahybae* foi demonstrado por Petkowicz *et al.* (2007) que houve um consumo de polissacarídeos (galactomananas e mananas) em diferentes fases da germinação. No sexto dia após a germinação não foi encontrado resíduo desses polissacarídeos, indicando que a completa degradação da galactomanana tinha sido atingida. Semelhantes resultados foram observados em *Sesbania marginata*, cuja máxima velocidade de degradação de galactomananas foi alcançada entre o terceiro e quarto dias da germinação, com total degradação no sexto dia do início do processo (BUCKERIDGE e DIETRICH, 1996).

Comparando-se os resultados supracitados àqueles obtidos nesse experimento é possível inferir, mesmo não tendo determinado os teores de galactomananas, que as reservas contidas no endosperma foram rapidamente mobilizadas em sementes escarificadas em lixa e que esta mobilização influenciou fortemente a alta taxa de germinação obtida para as sementes deste tratamento. Isto porque, para essas sementes, as variações observadas tanto na massa fresca quanto na massa seca do endosperma (Figura 5A e 5B) indicaram que este tecido foi completamente exaurido no décimo dia do início do teste de germinação. Ao contrário, variações na massa fresca e seca das sementes escarificadas em água a 100°C indicaram baixa mobilização das reservas pelas sementes desse tratamento, resultando em menor germinação e, por conseguinte, menor eficiência deste método em promover a germinação das sementes.

A plântula originada após o processo de germinação precisa apresentar a capacidade de se desenvolver para formar uma muda com qualidade. Para isto, é necessário que a mesma contenha substâncias de reserva, agora estocadas nos cotilédones, para suprir as células em energia. Isto porque as plântulas em emergência apresentam folhas jovens, imaturas fisiologicamente, cuja capacidade fotossintética não é suficiente para suportar o requerimento de energia pelos tecidos em desenvolvimento.

Nas dicotiledôneas, as reservas contidas nos cotilédones, na forma de amido, são de extrema importância nesse processo. Em sementes de *Apuleia leiocarpa*, um crescente

aumento no teor de amido nos cotilédones foi observado durante o período de embebição, sendo maiores após quatro dias do início da embebição (PONTES et al., 2002). Em *Caesalpinia peltophoroides* (Leguminosae, Caesalpinioideae), o teor de amido nos cotilédones aumentou até o décimo quinto dia do semeio, seguindo-se de sucessivos decréscimos com o crescimento da plântula (CORTE et al., 2008).

No entanto, a síntese de amido pode ocorrer nos cloroplastos de células fotossintetizantes ou em plastídios especializados (amiloplastos) encontrados no citosol de tecidos de reserva (como os cotilédones durante a germinação). Durante a síntese de amido é necessário haver glicose em grande quantidade, ou um de seus isômeros (tais como a glicose 1- ou 6-fostato), como substrato. Esta será utilizada na síntese de amilose e amilopectina para formar o amido, que se armazena na forma de grãos, a partir de um hilo. Os resultados obtidos nesse experimento permitem inferir que, durante a germinação do paricá, os teores de CST e sacarose foram reduzidos no sentido de promover uma maior síntese de amido cotiledonar e que isto está intimamente relacionado com o método de escarificação utilizado, uma vez que este influenciou a degradação das reservas durante e após a embebição.

A principal função do armazenamento de carboidratos nos cotilédones durante a germinação é preparar o mesmo para nutrir a plântula emergente em carboidratos para a respiração celular enquanto a mesma não se torna auto suficiente em termos fotossintéticos. Isto pode, desse modo, ter influência no estabelecimento (uniformidade e qualidade) da muda a ser produzida. E, portanto, a análise conjunta dos resultados apresentados permite confirmar essa idéia. Ou seja, plântulas geradas após escarificação das sementes; cujo processo germinativo apresentou rápida embebição das sementes, rápida mobilização das reservas e expressiva síntese e acúmulo de amido nos cotilédones, promoveu uma germinação mais uniforme, com plântulas de alto vigor, e com substancial alocação de reservas para formação de raízes e parte aérea (principalmente folhas).

5. CONCLUSÃO

- O método de escarificação em lixa é mais eficiente em promover a embebição e germinação das sementes;
- A rápida embebição das escarificadas em lixa acelera a mobilização de reservas do endosperma e favorece a rápida conversão de CST e sacarose cotiledonares em amido;
- A escarificação em lixa resulta em produção mais uniforme de plântulas porque promove uniforme germinação das sementes;
- A escarificação em lixa promove a produção de plântulas mais vigorosas.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, M.C.S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E.M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt e *Bauhinia unguolata* L. - *Caesalpinioideae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p.139-144, 2000.

ARAUJO, E.F.; ARAUJO, R.F.; SILVA, R.F.; GALVÃO, J.C.C. Superação da dureza de sementes e frutos de *Stylosanthes scabra* J. Vogel e seu efeito na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.77-81, 2002.

BARNEBY, R.C. Neotropical Fabales at NY: asides and oversights. **Brittonia**. v.48, n.2, p.174-187, 1996.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.J. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 1998. cap.6, p.101-132: Germination ecology of seeds with physical dormancy.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

BRUNO, R.L.A.; ALVES, E.U.; OLIVEIRA, A.P.; PAULA, R.C. Tratamentos pré Tratamentos pré-germinativos para superar a dormência de sementes de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n.2, p. 136-143, 2001.

BUCKERIDGE, M.S.; DIETRICH, S.M.C. Mobilisation of the raffinose family oligosaccharides and galactomannan in germinating seeds of *Sesbania marginata* Benth. (Leguminosae-Faboideae). **Plant Science**, v. 117, p. 33-43, 1996.

BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. S.; LIMA, D U.; SANTOS H. P. Mobilization of storage cell wall polysaccharides in seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p.141-156, 2000.

CORDEIRO, I.M.C.C.; LAMEIRA, O.A.; OHASHI, S.T.; REIS, L.R.S. Indução de calos *in vitro* de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 3, p. 35-40, 2007.

CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; VENTRELLA, M. C.; LEITE, I. T. A.; BRAGA, A. J. T. Histochemical aspects of reserves mobilization of *Caesalpinia peltophoroides* (Leguminosae) seeds during germination and seedlings early growth. **Revista Árvore**, v.32, n.4, p.641-650, 2008.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U; QUEIROZ, R. J. B. Scarification with sulphuric acid of *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke seeds – Fabaceae. **Scientia Agricola**, v.64, n.3, p.308-313, 2007.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J.E.U DE.; Methods of overcoming dormancy in

Schizolobium amazonicum Huber ex Ducke (leguminosae –caesalpinioideae) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.3, p.108-115, 2006.

CRUZ, E.D.; MARTINS, F.O.; CARVALHO, J.E.U. Biometria de Frutos e Sementes e Germinação de Jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v.24, n.1, p.161-165, 2001.

DELOUCHE, J.C. et al. **O Teste de Tetrazólio para viabilidade da Semente**. Brasília AGIPLAN. 1976. 176p.

DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Annalical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUTRA A. S.; FILHO, S.M.; TEOFILO, E.M.; DINIZ, F.O. Germinação de sementes de *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin E Barneby –Caesalpinioideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n.1, p.160-164, 2007.

FALESI, I.C.; SANTOS, J.C. dos. Produção de mudas de paricá – *Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke. Belém: FCAP, **Serviço de Documentação e Informação**. 1996, 16p. (Informe Técnico, 20).

FERREIRA, R.A.; DAVIDE, A.C.; MOTTA, M.S. Vigor e viabilidade de sementes de *Senna multijuga* (Rich.) Irwin et Barn. e *Senna macranthera* (Collad.) Irwin et Barn., num banco de sementes em solo de viveiro. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.24-31, 2004.

FERREIRA, R.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R.; TONETTI, O.A.O. Morfologia da semente e de plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira branca (*Pterodon pubescens* Benth. – Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.108-115, 2001.

FINKELSTEIN, R.; REEVES, W.; ARIIZUMI, T.; STEBER, C.; Molecular Aspects of Seeds Dormancy. **Annual Review of Plant Biology**, v.59, p. 387-415, 2008.

FOWLER, A.J.P.; BIANCHETTI, A. Dormência em Sementes Florestais. Colombo: Embrapa Florestas, 2000. 27p. **Documentos**, 40.

FOWLER, J.A.P.; CARPANEZZI, A.A. Tecnologia de sementes de marica (*Mimosa bimucronata* (DC) O. Ktze.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n.36, p.47-56, 1998.

GALLARDO, K.; THOMPSON, R.; BURSTIN, J. Reserve accumulation in legume seeds. **Comptes Rendus Biologies**, n.331, p.755-762, 2008.

GUZMÁN, J. M.; HERNANDEZ, G. L. Anatomia de la semilla y germinación *Turbina corumbosa* (L.) Raf., Convolvulaceae. **Phyton**, n.42, p. 1-8, 1982.

JELLER, H. ; PEREZ, S.C.J.G.A. Estudo da superação da dormência e da temperatura em sementes de *Cassia excelsa* Schrad. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.1, p.32-40. 1999.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. New Deldi: MacGraw-Hill, 1940. 523 p.

LISBOA, C. G. S.; TONINI, P. P.; TINÉ, M. A. S.; BUCKERIDGE, M. S. Endo-beta-mannanase from the endosperm of seeds of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Leguminosae): purification, characterisation and its dual role in germination and early seedling growth. **Brazilian Journal. Plant Physiology**. v. 18, n. 2, p. 269-280, 2006.

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

MARQUES T. C.L. L. DE S. E M.; CARVALHO, J. G. DE.; LACERDA, M. P. C.; MOTA, P.E.F. DA. Crescimento inicial do paricá (*Schizolobium amazonicum*) sob omissão de nutrientes e de sódio em solução nutritiva. **Revista Cerne**, v. 10, n.2, p. 184-195, 2004.

MARTINS-CORDER, M. P. *et al.* Fotoperiodismo e quebra de dormência em sementes de acácia-negra (*Acacia mearnsii* Willd.). **Ciência Florestal**, v.9, n.1, p.71-77, 1999.

MARUYAMA, E.; UGAMOTO, M. Treatments for promoting germination of *Parkia oppositifolia* Benth. and *Schizolobium amazonicum* Huber. **Journal of the Japanese Forestry Society**, v.71, p.209-211, 1989.

MEDEIROS, A.C.S.; ZANON, A. **Superação da dormência e sementes de acácia-marítima** (*Acacia longifolia*). Colombo: Embrapa Florestas, 1999. 12p. (Circular

Técnica, 32).

MENDONÇA, E. A. F.; RAMOS, N. P. ; PAULA, R. C. Viabilidade de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel (louro-pardo) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 23, nº 2, p.64-71, 2001.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – leguminosae caesalpinioideae. **Revista Cerne**, Lavras, v.11, n.2, p.159- 166. 2005a.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, M.C. Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley – Bignoniaceae. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.36, n.2, 2005b.

PEREZ, S. C. J. G. A. *et al.* Dormancy break and light quality effects on seed germination of *Peltophorum dubium* Taub. **Revista Árvore**, v.23, n.2, p.131-137, 1999.

PETKOWICZ, C.L.O.; Schaefer, S.; Reicher, F. The mannan from *Schizolobium parahybae* endosperm is not a reserve polysaccharide. ScienceDirect, Elsevier Carbohydrate Polymers 69 (2007) 659–664.

PINHEIRO H. A.; BORGES, R.; SILVA, M. A. P.; CENTENO, D. C. Activity of alternative oxidase and plant uncoupling mitochondrial protein in potato tubers stored at low temperature or submitted to artificial aging. **Brazilian Journal of Plant**

Physiology, 16(2):69-76, 2004.

PONTES, A. P. *et al.* Mobilização de reservas em sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr. (garapa) durante a embebição. **Revista Árvore**, v. 26, n. 5, p. 593-601, 2002.

POTOMATI, A.; BUCKERIDGE, M. S. Effect of abscisic acid on the mobilisation of galactomannan and embryo development of *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (Leguminosae - Faboideae). **Revista Brasileira de Botânica**, V.25, n.3, p.303-310, 2002.

RAMOS, M.B.P.; VARELA, V. P.; MELO, M. DE F. F. Influência da temperatura e da água sobre a germinação de sementes de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke – Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 28, nº 1, p.163-168, 2006.

REIS, I.N.R.S.; LAMEIRA, O.A.; CORDEIRO, I.M.C.C.; CARNEIRO, A.G.; FERREIRA, S.F. Indução in vitro de brotos de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* Huber ex Ducke). **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v.4, p. 21-27, 2008.

ROSA, L. dos S.; PINHEIRO, K.A.O. Propagação vegetativa de estacas de paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber ex Ducke) obtidas de material juvenil e imersas em ácido indol-3-butírico. **Revista de Ciências Agrárias**, n.35, p.79-88, 2001.

SHIMIZU, E.S.C.; COSTA, M.A.; Silva J. R. R.; Filho, B.G.S.; Pinheiro, H.A.

Avaliação da viabilidade de sementes de paricá (*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber x Ducker) Barneby) pelo teste de tetrazólio em diferentes concentrações e tempos de resposta. In: **59º Congresso Nacional de Botânica**, 2008.

SMIDERLE, O.J., MOURÃO JÚNIOR, M., et al. Tratamentos pré-germinativos em sementes de acácia. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.78-85. 2005.

SMIDERLE, O.J.; SOUSA, R.C.P.de. Dormência em sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth- Fabaceae- Papilionidae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.1,p.72-75, 2003.

VAN HANDEL, E. Direct microdetermination of sucrose. **Analytical Biochemistry**, v.22, p. 280-283, 1968.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)