

**ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DO  
DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE  
*Tabebuia serratifolia* Vahl Nich.**

**MARCELA CARLOTA NERY**

**2005**

**MARCELA CARLOTA NERY**

**ASPECTOS MORFOFISIOLÓGICOS DO DESENVOLVIMENTO  
DE SEMENTES DE *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich.**

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

Orientadora

Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2005

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

Nery, Marcela Carlota

Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes de  
*Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. -- Lavras : UFLA, 2005.

95 p. : il.

Orientadora: Maria Laene Moreira de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Ipê-amarelo. 2. Desenvolvimento. 3. Maturação. I. Universidade Federal de  
Lavras. II. Título.

CDD-634.9562

- 582.1304166



A Deus e aos meus pais, Marivaldo Fiúza Nery e Jane Maria Carlota Nery,

**OFEREÇO.**

Aos meus irmãos, Fernanda e Rodrigo.

Aos meus avós, Etelvina (*in memorian*) e Geraldo (*in memorian*), Juelita  
(*in memorian*) e Sebastião.

A minha orientadora, Profa. Maria Laene Moreira de Carvalho,

**DEDICO.**

*“As palavras são poucas para relatar a  
dimensão de meu amor por vocês, com quem  
tanto aprendi.”*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela graça de ser gêmea.

Aos meus pais, Marivaldo e Jane, meus irmãos Fernanda e Rodrigo, meus tios e tias, em especial Dra. Núcia Nery e Valéria e todos os meus familiares, por todo amor, encorajamento, sendo presença importante em toda minha vida.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, em especial ao Setor de Sementes, pela oportunidade de realização da pós-graduação.

Ao CNPq, pela bolsa concedida no primeiro ano do curso e à CAPES, pela concessão da bolsa de estudo que possibilitou minha inclusão no Doutorado.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, por toda atenção, apoio e pela grande amizade desde os tempos da graduação.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Renato Delmondez de Castro, Profa. Dra.Édila Vilela de Resende Von Pinho e pesquisadora Luciana Magda de Oliveria.

Aos professores do Setor de Sementes (DAG), Prof. Renato Mendes Guimarães, Profa. Dra. Édila Vilela de Resende Von Pinho, Prof. João Almir de Oliveira e Pesquisador Antonio Rodrigues Vieira, por serem exemplos de profissionais, por todos os conhecimentos transmitidos e carinho sempre demonstrado por mim.

Aos professores do Setor de Sementes do DCF, Prof. Antonio Claudio Davide, Prof. Edvaldo Aparecido Amaral Silva e Prof. José Márcio Rocha Faria, pela atenção, apoio e amizade.

À Pesquisadora Dra. Luciana Magda de Oliveira, pelas sugestões, valiosa amizade e apoio constante.

À Profa. Vany Ferraz (UFMG), pela colaboração nas análises com HPLC e às estagiárias Thaiz e Giselle, que muito me ajudaram.

Ao Prof. Fabyano Fonseca, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos funcionários do Laboratório de Sementes Florestais (DCF), José Carlos, José Pedro, Olívia e Chica, pela ajuda nas coletas e pela simpatia sempre constante.

Às funcionárias do Laboratório de Sementes (DAG), Elenir, D. Elza, Dalva e Andréa, por todo auxílio na realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas (DAG), Claret, Vantuil e Antonio.

Às funcionárias do Laboratório de Produtos Vegetais (DCA), Tina e Sandra.

À Marli e Nelzy, secretária do curso de pós-graduação, pela ajuda e amizade.

À amiga e bolsista de iniciação científica Débora Gabriela, pela inestimável ajuda na condução dos experimentos e pela amizade.

Aos estagiários do Setor de Sementes, em especial José Renato e Carla, que sempre estiveram à disposição para ajudar.

Aos amigos da Fisiologia Vegetal: Fernanda Soares, Morbeck e Carlos Vinicius, pelo apoio, incentivo, valiosas sugestões e convivência amiga.

À grande amiga Tathiana Masetto, por estar presente durante todo o mestrado e me ajudar sempre que precisei.

Às amigas Graziella, Melissa, Moema, Janaina, Grace, Patrícia Guimarães, Giulliana e a todos os outros amigos do curso de graduação. Quero que saibam que, a despeito do tempo e da distância, agradeço pelas inúmeras horas de alegria e pelo apoio em todos os momentos.

Aos amigos do curso de mestrado, Keline, Carlos Eduardo, Juliana Rezende, Mariney e Carla, pela ajuda e companheirismo durante todo esse período.

A todos da família Silveira, Sr. Cláudio, Dona Rosa, Tatiana, Pollyana, Claudinho e o pequeno Gabriel, pela amizade e hospedagem em Belo Horizonte.

Enfim, a todos que, de uma forma ou de outra, colaboraram para o encerramento desta etapa importante da minha vida e que, embora não citados aqui, não deixam de merecer meu profundo agradecimento.

*“Hoje faço um eterno agradecimento, pois  
você faz parte da minha história.”*

*Obrigada!*



## **BIOGRAFIA**

MARCELA CARLOTA NERY, filha de Marivaldo Fiúza Nery e Jane Maria Carlota Nery, nasceu em 26 de abril de 1981, em Lavras, MG, onde estudou nos colégios Tirandentes, Instituto Gammon e em 1998 finalizou o segundo grau no Colégio Coronel Juventino Dias (CNEC). Em março de 1999, iniciou o curso de graduação em Agronomia, na Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em dezembro de 2003. Durante este período, foi monitora da disciplina Produção e Tecnologia de Sementes, sob orientação da Profa. Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho e desenvolveu projetos de pesquisa no Setor de Sementes, como bolsista de iniciação científica do CNPq. Em março de 2004, iniciou o curso de Mestrado em Agronomia – Fitotecnia, na UFLA, concluindo-o em 25 de novembro de 2005.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Importância e características do ipê-amarelo.....	3
2.2 Alterações morfofisiológicas do desenvolvimento de sementes .....	6
2.3 Tolerância à dessecação.....	15
2.4 Cultivo <i>In vitro</i> .....	22
2.5 Avaliação da qualidade das sementes.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Coleta dos frutos e sementes.....	28
3.2 Avaliações referentes aos frutos e sementes.....	29
3.2.1 Determinação da coloração e tamanho.....	29
3.2.2 Determinação do teor de água dos frutos e sementes.....	30
3.2.3 Determinação da matéria seca dos frutos e sementes.....	30
3.3 Avaliações referentes às sementes .....	30
3.3.1 Análise radiográfica.....	30
3.3.2 Análise microscópica de tecidos.....	31
3.3.3 Cultivo <i>in vitro</i> de embriões.....	31
3.3.4 Teste de germinação.....	32
3.3.5 Índice de velocidade de germinação.....	33
3.3.6 Determinação de polifenóis.....	33
3.3.7 Determinação de açúcares.....	33
3.3.8 Determinação de proteínas resistentes ao calor.....	34
3.4 Delineamento experimental e análise estatística.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36

5 CONCLUSÕES .....	62
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS.....	82

## RESUMO

NERY, Marcela Carlota. **Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia***. 2005. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

*Tabebuia serratifolia*, conhecida vulgarmente por ipê-amarelo, é utilizada no reflorestamento de áreas degradadas. No entanto, devido à sua exploração indevida, encontra-se em extinção, apesar de protegida por lei para preservação permanente no estado de Minas Gerais. Nesta pesquisa foram investigadas as alterações morfofisiológicas de sementes de ipê-amarelo ao longo do desenvolvimento, para fins de conservação da espécie. Os frutos foram coletados a partir da antese, em sete estádios de desenvolvimento, em árvores localizadas na região de Lavras, MG. Em cada coleta, as sementes foram submetidas às análises radiográficas e microscópicas, avaliando-se as colorações e tamanho, o grau de umidade e matéria seca dos frutos e sementes, a germinação em meios MS, WPM e substrato areia, o índice de velocidade de germinação (IVG), bem como os teores de açúcares, polifenóis e proteínas resistentes ao calor. Durante o desenvolvimento, os frutos que inicialmente eram verdes passaram para amarronzados e o comprimento de 7,0 para 18,0cm, apresentando fendas e iniciando a dispersão de suas sementes. As sementes tiveram sua cor variando de verde-folha a amarronzado e comprimento de 1,0 a 3,0cm. As alterações iniciais indicativas da maturidade fisiológica de sementes de ipê-amarelo ocorreram a partir dos 39 dias após a antese, quando ocorreram variações na coloração, no tamanho de frutos e sementes e na visualização das estruturas internas, além de aumento no teor de água, matéria seca e porcentagem de germinação de sementes e embriões e ainda, redução dos açúcares redutores e das proteínas resistentes ao calor. A maturidade fisiológica das sementes de *Tabebuia serratifolia* é alcançada aos 53 dias após a antese, coincidindo com o acúmulo máximo de matéria seca, germinação e índice de velocidade de germinação, além de decrescimento no teor de polifenóis e maior intensidade de bandas de proteínas resistentes ao calor e início da abertura dos frutos.

---

<sup>1</sup> Comitê Orientador: Dr<sup>a</sup>. Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Orientador); Dr. Antonio Claudio Davide – UFLA; Dr. Renato Mendes Guimarães – UFLA.

## ABSTRACT

NERY, Marcela Carlota. **Morphophysiological aspects development of *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. seeds.** 2005. 95 p. Dissertation (Master degree in Crop Science) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.

*Tabebuia serratifolia* is considered a tree symbol of Brazil, named “yellow Ipê” and it is used in the reforestation of the degraded areas. Although due to its improper exploration it is in extinction, in spite of having protected by law for its permanent preservation in the state of Minas Gerais. The objective of this research was to evaluate the morphophysiological alterations of yellow ipê seeds during the maturation process, aiming to preserve the specie. The fruits were collected at anthesis and during seven development stages in trees located in Lavras, MG. In each harvest, the radiographic and microscopic analysis were made, evaluating the colorations and size; the moisture content and dry matter of fruits and seeds; the germination in MS and WPM medium, and in sand substrate; the index of germination speed (IVG); as well as the sugar level; polyphenols concentration and LEA proteins. During the maturation process the fruits that initially were green changed to brownish and the length altered 7,0 to 18,0cm, presenting rifts in the beginning of seed dispersal. The seed color varied from leaf-green to brownish and the length from 1, 0 to 3,0cm. The initial indicative alterations of physiological maturity of yellow ipê seeds started from 39 days after anthesis, when variations were observed in the coloration and size of fruits and seeds, an increase in the water level, dry matter and percentage of germination of seeds and embryos, besides reduction of the reducing sugars and LEA proteins. The physiological maturity of the seeds of *Tabebuia serratifolia* was reached at 53 days after anthesis, coinciding with the maximum accumulation of dry matter, germination and index of germination speed, besides the decrease in phenols levels and higher intensity bands of proteins resistant to heating and the onset of fruit opening.

---

\* Guidance Committee: Maria Laene Moreira de Carvalho – UFLA (Adviser), Antonio Claudio Davide – UFLA; Renato Mendes Guimarães – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A espécie *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson Gomes ex DC., conhecida popularmente como ipê-amarelo, foi escolhida árvore símbolo do Brasil por apresentar flores amarelas, as quais lembram a bandeira nacional. É uma planta utilizada na arborização urbana, além de ser indicada em trabalhos de restauração de áreas degradadas e para fins medicinais.

De acordo com a Lei nº 9743, sancionada pelo Governador do Estado de Minas Gerais em 15/12/1988, o ipê-amarelo é uma espécie protegida, de preservação permanente e imune ao corte. Entretanto, as agressões ao meio ambiente, provocadas principalmente por fatores antrópicos, afetam sobremaneira o ecossistema dessas plantas, levando à diminuição da população de árvores do gênero *Tabebuia*.

A propagação do ipê-amarelo se dá, prioritariamente, por via sexuada. No entanto, a germinação de suas sementes é extremamente variável, podendo haver incrementos, seguidos de novos decréscimos e acréscimos ao longo do desenvolvimento, maturação e armazenamento, acarretando perdas durante a formação de viveiros florestais. O conhecimento do processo de desenvolvimento de sementes tem grande importância, pois é a forma de se conhecer o comportamento das espécies no tocante a sua formação e produção, o que possibilita prever e estabelecer condições adequadas de conservação.

Estudos relativos às alterações morfofisiológicas que ocorrem durante a formação das sementes como alterações de coloração, germinabilidade, teor de água, acúmulo de matéria seca ou de componentes químicos são fundamentais para a determinação de procedimentos relativos a colheita, conservação e reprodução das espécies. Dessa forma, foram investigadas nesta pesquisa as

alterações morfofisiológicas ao longo do processo de desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia*.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância e características do ipê-amarelo

*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson, também conhecida vulgarmente como ipê-amarelo, pau-d'arco-amarelo, piúva-amarela, ipê-ovo-de-macuco, tamurá-tuíra, ipê-pardo, ipê-do-cerrado e opa, é uma espécie arbórea pertencente à família *Bignoniaceae* (Lorenzi, 1992). Segundo Carvalho (1994), pode ser encontrada na Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname, Trinidad & Tobago, Venezuela e em quase todo o território brasileiro. Árvore símbolo do Brasil, o ipê-amarelo apresenta considerável importância para o município de Lavras, MG, que é conhecida como a cidade dos ipês.

A espécie possui alto valor econômico, ornamental e medicinal. Sua madeira é pesada e resistente sob as mais diversas condições, o que possibilita sua utilização em construções pesadas e estruturas externas. Contém lapachol, substância com propriedades fungicidas em grande quantidade (Rizzini, 1971), é febrífuga e também utilizada em emplastos cicatrizantes nas úlceras provocadas pela leishmaniose (Vidal-Tessier, 1988). Além disso, é requerida em programas de recomposição vegetal de áreas degradadas de preservação permanente.

Para *Tabebuia serratifolia*, as informações relativas às condições climáticas ideais para propagação da espécie não são relatadas na literatura. Entretanto, a espécie *Tabebuia alba* é encontrada em altitudes de 20 a 1.600m, em regiões com precipitação média anual de 1.000mm a 2.100mm, com verão chuvoso e período de 3 a 5 meses de déficit hídrico, como ocorre na região central de Minas Gerais. Tolerante temperaturas médias anuais de 14°C a 21°C, sendo a temperatura do mês mais frio de 10°C a 20°C e do mês mais quente de 18°C a 26°C, em diversos tipos climáticos. Já *Tabebuia heptaphylla* (ipê-roxo) ocorre em altitudes de até 850m, sendo encontrada na região central de Minas



Gerais; tolera precipitação de 1.000 a 1.900mm e temperaturas médias do mês mais frio de 13°C a 22°C e do mês mais quente de 21°C a 30°C. *Tabebuia impetiginosa*, conhecida também como ipê-roxo, tem ocorrência expressiva no cerrado de Minas Gerais, em altitudes de 20 a 1.200m; tolera precipitação de 600mm a 2.000mm, e período de estresse hídrico até 3 meses na região Sudeste, com temperatura média anual de 20°C a 28°C, do mês mais frio de 16°C a 24°C e do mês mais quente de 23°C a 30°C (Carvalho, 1994).

A árvore atinge, em média, 8 a 20 metros de altura, sendo suas folhas compostas, opostas distintas, com 5 a 7 folíolos elípticos lanceolados, glabros ou pubescentes, com ápice pontiagudo, base arredondada e margem serreada. É uma planta decídua, heliófita, característica da floresta pluvial densa, sendo também largamente dispersa nas formações secundárias, como capoeiras e capoeirões; porém, prefere solos bem drenados situados nas encostas (Lorenzi, 1992). É uma espécie de clímax tolerante à sombra (Davide et al., 1995).

Sendo o ipê-amarelo uma árvore do tipo caducifólia, sua folhagem é renovada anualmente; as folhas caem no inverno e aparecem logo após a floração, no período de julho a outubro. Em ausência de folhagem apresenta maciças florações, sendo excelente para o paisagismo em geral (Rizzini, 1971).

Os frutos, do tipo silíqua, amadurecem de outubro a dezembro, apresentando grande quantidade de sementes (Lorenzi, 1992). As sementes são achatadas, levemente abauladas, oblongas, aladas, unitegumentadas, com uma membrana revestindo o embrião. Externamente, distingue-se o corpo, que ocupa a posição central e alas, que são uma expansão, principalmente lateral, do tegumento (Costa, 1995). São compostas por 8,36% de carboidratos, 7,0% de proteínas e 2,8% de lipídeos (Freitas et al., 1979), germinando depois de 8 a 12 dias após a semeadura (Rizzini, 1971). O embrião é reto, representado, em sua maior parte, pelos cotilédones e está revestido por uma membrana delgada. O

eixo hipocótilo-radicular é cilíndrico e pequeno, disposto mediana e verticalmente entre os dois cotilédones (Costa, 1995).

Na Figura 1 observa-se o aspecto geral da planta, bem como suas principais estruturas.



FIGURA 1. Aspecto geral da planta de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e seus principais órgãos componentes (Lorenzi, 1992).

A propagação do ipê-amarelo é feita por sementes que, apesar de produzidas em grande quantidade, apresentam problemas de germinação e conservação. Gemaque (1999) observou flutuações na porcentagem de germinação ao longo do armazenamento e Oliveira (2004) verificou que a germinação era afetada pela quantidade de compostos fenólicos produzidos em condições de estresse.

Não existem na literatura muitos estudos envolvendo o processo de desenvolvimento e maturação das sementes. Esses estudos podem elucidar diversos aspectos relacionados à germinação e à conservação de sementes de ipê-amarelo.

## **2.2 Aspectos morfofisiológicos do desenvolvimento de sementes**

Vários trabalhos contribuíram significativamente para a evolução dos conceitos sobre desenvolvimento, maturação e maturidade de sementes (Marcos Filho, 2005). Popiningis (1985) descreve que o desenvolvimento da semente começa com a fertilização do óvulo e termina quando ela atinge o máximo peso seco na maturidade fisiológica, para a maioria das espécies. Delouche (1971) definiu maturação como um processo constituído por uma série de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem a partir da fecundação do óvulo e prosseguem até o momento em que as sementes se desligam fisiologicamente da planta, ou seja, atingem a maturidade fisiológica. Egli (1998) relata que a qualidade máxima da semente (com respeito à germinação e ao vigor) é associada à acumulação do peso seco máximo, processo chamado de maturidade fisiológica ou maturidade de massa. Já Marcos Filho (2005) descreve o maturação ou desenvolvimento da semente como um processo controlado geneticamente que envolve uma seqüência ordenada de

alterações de várias naturezas, verificadas a partir da fecundação, até o momento em que as sementes se tornam indivíduos independentes da planta-mãe.

Durante o desenvolvimento de sementes, três estádios gerais são reconhecidos. O primeiro estádio é a histodiferenciação que começa com a fertilização e é caracterizado por divisões celulares, ocorrendo a formação do eixo embrionário e a síntese e acúmulo de reservas. O segundo estádio é o de maturação, fase em que ocorre expansão das sementes devido à acumulação maciça de material de reserva. O terceiro e último estádio é chamado de secagem de maturação e é caracterizado por suspensão da deposição de reservas seguida de perda de água ou dessecação natural, a qual conduz a semente ao estado quiescente ou dormente (Bewley & Black, 1994).

O estudo do desenvolvimento de sementes visa determinar o intervalo no qual a semente pode ser desligada da planta-mãe, sem prejuízo para sua qualidade fisiológica. A identificação do estádio de desenvolvimento das sementes e, conseqüentemente, o momento ideal para a colheita são condições essenciais para a conservação da viabilidade durante o armazenamento (Barbedo & Cicero 2000).

A maturidade das sementes é marcada por eventos fisiológicos específicos relacionados às mudanças distintas no peso fresco, no peso seco e no conteúdo de água, padrões distintos de expressão de genes representados pelo acúmulo de mRNAs específicos, germinação, vigor, grau diário de crescimento, soma térmica, mudança no tamanho, coloração, textura e odor de frutos (Bewley & Black, 1994; Davide et al., 1995; De Castro & Hilhort, 2000; De Castro, 2004; Kermodé, 1995; Von Pinho, 1997), além de alterações da morfologia interna e externa de frutos e sementes (Borisjuk et al., 1995). A associação destes fatores permite a elaboração de um cronograma de colheita de sementes de uma determinada região (Davide et al., 1995). Para a região de Lavras, com 919m de altitude, temperatura média anual de 19,4°C, sendo fevereiro o mês

mais quente do ano e julho o mais frio, com precipitação média anual de 1.529,7mm, concentrada de outubro a abril, correspondendo a 93% da precipitação total (Brasil, 1992a), a maioria das espécies é dispersa no período de junho a outubro, com pico de produção nos meses de agosto a setembro (Davide et al., 1995).

O conhecimento da fisiologia do florescimento e de suas relações com a formação da semente permite a produção de sementes de alta qualidade. Sabe-se que a iniciação do desenvolvimento floral é um fenômeno que depende da idade da planta, das condições de ambiente, do acúmulo de fotossintatos e de outros fatores específicos. Há plantas, por exemplo, aptas ao florescimento apenas após acumularem uma quantidade específica de energia proporcionada por unidades térmicas, enquanto outras são induzidas sob influência do fotoperíodo ou queda de temperatura (Marcos Filho, 2005).

Durante a fase de desenvolvimento das sementes, podem ocorrer variações climáticas que retardem ou adiantem o processo de maturação. Para *Pinus ponderosa*, as condições amenas promovem o retardamento no processo de maturação e aceleram o crescimento inicial das sementes (Vandeusen & Beagle, 1973).

A temperatura tem sido citada como uma das variáveis ambientais que aceleram ou retardam a maturação. Para *Larix occidentalis*, o ritmo da maturação dos cones foi influenciado pelas altas temperaturas que ocorrem no período de seu desenvolvimento (Shearer, 1977). Aguiar & Kageyama (1987) verificaram que o processo de maturação dos frutos e sementes de *Eucalyptus grandis* é mais lento no sul da Austrália do que no estado de São Paulo, pois o período de pós-florescimento australiano é mais úmido e quente do que no Brasil.

Além das variações climáticas interferirem na maturação de sementes, devem ser consideradas as alterações próprias de frutos e sementes, que são

inerentes à espécie. Em *Pinus oocarpa*, Pinã-Rodrigues (1984) observou que a separação dos cones por coloração entre os estádios de desenvolvimento não permitiu estimar a maturidade fisiológica. No entanto, o teor de água, peso e tamanho demonstraram ser eficientes índices para detectar a época ideal de colheita nesta espécie. Aguiar et al. (1988) relatam, para *Eucalyptus grandis*, que a colheita das sementes deverá ser baseada na coloração, presença de fendas e no teor de água dos frutos. Fiogliolia & Kageyama (1994) consideraram, para *Inga uruguensis*, a coloração dos frutos como um dos melhores parâmetros para determinação do momento ideal de colheita.

Para *Euterpe edules*, Lin (1986) observou que sementes de maior tamanho apresentavam maior peso de matéria seca e germinação. Na determinação de maturidade fisiológica de *Andenanthera peregrina*, o maior peso de matéria seca e fresca, bem como o máximo comprimento de sementes, revelaram ser bons indicativos de sua maturidade fisiológica (Lopes et al., 1991).

Carvalho & Nakagawa (2000) relatam que as sementes aumentam de tamanho rapidamente, atingindo o máximo num período de tempo curto, em relação à duração total de período de maturação. Segundo Silveira (1982), essa relativa rapidez com que as sementes atingem o tamanho máximo deve-se possivelmente, à necessidade que as sementes têm de manter um alto teor de água durante a fase de mais intenso acúmulo de massa seca.

Barbosa et al. (1992b) observaram, para a colheita de semente de ipê (*Tabebuia avellanedae*), que a maturidade ocorria entre 105 e 115 dias após a antese, com o teor de água em torno de 22% e germinação de 86%, com coloração dos frutos tendendo para o amarelo amarronzado. Cunha & Araújo (1989) recomendam, para *Tabebuia caraíba*, que os frutos devem ser colhidos fechados, para posterior secagem natural, assegurando uma maior viabilidade das sementes. Com *Tabebuia impetiginosa*, Nobre (1994) observou que as

sementes provenientes de frutos fendilhados apresentaram maior vigor quando comparadas com as dos não fendilhados. Gemaque (1999; 2002) relatou, para *Tabebuia impetiginosa*, que os frutos, durante o processo de maturação, passaram da cor verde, com manchas grandes arroxeadas, a verde, com pontos arroxeados, apresentando fendas e iniciando a dispersão de suas sementes. A fase de dispersão dessas sementes coincidiu com o máximo de matéria seca, porcentagem de emissão de radícula, plântulas normais e índice de velocidade de germinação e mais baixos teores de água nos frutos e sementes. Em sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia*, a maturidade fisiológica ocorre entre 154 e 168 dias após a antese, podendo a colheita ser realizada até 189 dias após a antese, uma vez que coincide com a máxima germinação, vigor e teor de água ao redor de 20% (Alves et al., 2005).

A ocorrência de ventos secos no outono pode favorecer uma rápida maturação e dispersão das sementes, enquanto que condições de chuvas prolongam o período de retenção das sementes nos frutos. O teor de água destaca-se como importante fator agindo sobre a maturação das sementes, já que da absorção resulta a reidratação dos tecidos com a conseqüente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada de crescimento por parte do eixo embrionário (Stein et al., 1974).

No caso de espécies florestais, como andiroba (*Carapa guianensis*), ampaí (*Brosimum lactescens*) e aroeira (*Astronium gracile*), ocorrem perdas de grande parte dos frutos antes da maturação, provavelmente devido às condições de umidade (Carvalho, 1980).

O teor de água é sugerido como ponto de referência para indicar a maturidade fisiológica das sementes, quando associado a outras características, pois a água se altera continuamente durante o acúmulo de matéria seca,

permitindo o controle mais apurado do desenvolvimento (Firmino et al., 1996; Marcos Filho, 2005; Martins & Silva, 1997; Silva, 2002).

Borges et al. (1980) verificaram que a maturidade fisiológica de sementes de orelha-de-pau (*Enterolobium contorsiliquum*), nas condições de Viçosa, MG, ocorreu quando o teor de água encontrava-se em torno de 22%.

Um outro fator no desenvolvimento e maturação é o acúmulo de matéria seca, que começa de forma lenta e, em curto espaço de tempo, passa a ser rápido e constante até atingir um máximo. O máximo de matéria seca tem sido mencionado como o indicador mais seguro da maturidade fisiológica da semente.

Durante todo o processo de acúmulo de matéria seca, o conteúdo de água é elevado. Quando a semente atinge o máximo peso seco e pára de receber fotoassimilados da planta-mãe, o teor de água oscila entre 30% e 50%, dependendo da espécie. A partir desse ponto inicia-se um processo de desidratação mais rápido e as reações metabólicas dentro da semente vão diminuindo até o ponto em que a respiração é quase nula (Guimarães, 1999).

De acordo com Berjak et al. (1984), é provável que um mecanismo genético atue no sentido de controlar o processo de desidratação durante a maturação das sementes ortodoxas, as quais parecem ter suas origens em locais sujeitos à seca, que nem sempre são propícios para a germinação.

Em alguns estudos, tem sido mostrado que a secagem adequada de sementes ortodoxas imaturas promove o redirecionamento do metabolismo de desenvolvimento para o de germinação, como foi observado para *Ricinus communis*, que tem seu desenvolvimento normal de 25 a 40 dias após a polinização, existindo, neste período, uma síntese de proteínas de reserva. Nos estádios tardios de desenvolvimento (45 a 50 dias após a polinização), a síntese de proteínas de reserva declina e a síntese de novas proteínas começa. Quando se realiza a secagem das sementes de *Ricinus communis*, aos 30 ou 40 dias após a



polinização e se procede a reidratação, é induzido o processo de germinação (Kermode & Bewley, 1985). Para *Mucuna aterrina*, a secagem das sementes ainda no interior das vagens, promove a germinação de sementes imaturas (Nakagawa et al., 2005). O redirecionamento de compostos promovendo a germinação também já foi observado para as espécies de *Cedrella odorata* (Lima et al., 1998) e *Tabebuia impetiginosa* (Gemaque, 1999).

Por meio de investigações que relacionam a qualidade de sementes com a maturidade, tem sido mostrado que o máximo vigor e a germinação das sementes ocorrem com altos teores de água, antes que a semente tenha alcançado a maturidade fisiológica, baseada no acúmulo de matéria seca. (Ajayi & Fakorede, 2000; Borba et al., 1994; Fagioli et al., 1999; Knittle & Burris, 1976; Tekrony & Hunter, 1995).

O vigor de uma semente, durante a maturação, é uma característica que acompanha, de maneira geral e na mesma proporção, o acúmulo de matéria seca (Faria, 2003). Assim, uma semente atingiria seu máximo vigor quando se apresentasse com a sua máxima matéria seca, portanto, é claro, há defasagens entre as curvas, em função da espécie e das condições ambientais (Alves et al., 2005; Carvalho & Nakagawa, 2000).

As mudanças nas características morfológicas e fisiológicas das sementes têm sido usadas no desenvolvimento de métodos para determinar a maturidade de sementes (Faria, 2003).

Reconhecem-se como fatores primordiais ao desenvolvimento do embrião de sementes: diferenciação, dormência e germinação. Tais fatores atuam em determinados momentos da embriogênese e são os responsáveis pelas características morfológicas e fisiológicas do embrião contido na semente. Dependendo do momento do processo embriogenético em que tais fatores atuam, determina-se a qualidade do conteúdo seminal quanto ao estado de desenvolvimento do embrião (Coccuci & Mariath, 2004).

O embrião em gestação deve passar obrigatoriamente por uma série de estádios particulares. Tais estádios são: globular, trapezoidal, codiforme (dicotiledôneas), torpedo e embrião maduro (Johri, 1984).

O estágio globular se caracteriza pela formação de uma massa mais ou menos esférica de células, na qual ocorrem divisões sucessivas e aumento do tamanho das células, sob controle hormonal, formando uma massa de células aparentemente desorganizada, principalmente na região terminal. A partir das divisões da célula basal, forma-se uma estrutura de formato aproximadamente cilíndrico, o pró-embrião, em que se distingue o suspensor. Essa formação é transitória e desempenha funções de sustentação, de reserva e haustorial, auxiliando na nutrição e sendo dirigida com o desenvolvimento do embrião (Coccuci & Mariath, 2004; Marcos Filho, 2005).

Os processos de diferenciação se insinuam no estágio trapezoidal, quando ocorrem um “achatamento” da extremidade superior e uma seqüência ordenada de divisões celulares à direita e à esquerda do eixo central do pró-embrião, caracterizando o início da formação dos cotilédones (Marcos Filho, 2005).

O estágio codiforme se identifica pelo franco desenvolvimento dos cotilédones e pelo começo da diferenciação do ápice radicular e caulinar, além do início do desenvolvimento do procâmbio. O estágio torpedo se caracteriza pelo desenvolvimento e pela diferenciação do hipocótilo e da radícula e pela diferenciação incipiente do tecido vascular (Coccuci & Mariath, 2004).

Esses fatores seguem atuando até desenvolverem os cotilédones por completo, para chegarem ao estágio de embrião maduro, momento em que todas as estruturas vivas da semente entram em dormência seminal (Coccuci & Mariath, 2004).

Portanto, durante a embriogênese, ocorrem aumentos tanto do número como do tamanho de células e a diferenciação de tecidos. Isso indica que o

processo de desenvolvimento é controlado pelo código genético, porque seria totalmente improvável que a seqüência característica da embriogenia de uma espécie se reproduzisse com tal exatidão apenas sob a influência do ambiente (Marcos Filho, 2005).

Além do estudo fisiológico do desenvolvimento do embrião, a análise de imagens das sementes utilizando o teste de raios X permite analisar as estruturas e o estágio de desenvolvimento do embrião (Liu et al., 1993). Além disso, permite a visualização de injúrias mecânicas e de danos por insetos (Battisti et al., 2000) e decorrentes de outros fatores adversos de pré e pós-colheita, a detecção de anormalidades em embriões e a determinação de estágio de desenvolvimento das sementes (Carvalho et al., 1999; Han et al., 1992; Machado, 2002; Oliveira, 2004; Yin et al., 1984).

O teste de raios X é um procedimento simples e rápido. Segundo Oliveira (2000), pesquisas utilizando os raios X podem trazer grandes contribuições tecnológicas se visarem as sementes de espécies florestais nativas do Brasil, devido à ocorrência de injúrias nessas sementes.

Crestana e Beltrati, citados por Camargo et al. (2000), comentam que estudos anatômicos das sementes e morfológicos da germinação em espécies florestais são fundamentais e de caráter urgente, em função da drástica e elevada redução de populações naturais decorrentes de alterações ambientais causadas pelo desmatamento continuado.

Na maioria das espécies, o crescimento e o desenvolvimento das sementes são paralisados no final da maturação. Nessa fase de amadurecimento, a semente sofre uma adaptação estratégica para torná-la apta a tolerar as severas condições ambientais, garantindo, assim, melhor sobrevivência das espécies durante o armazenamento e a disseminação (Brandão Junior, 2000; Guimarães, 2000; Leopold, 1990).

### **2.3 Tolerância à dessecação**

Durante o desenvolvimento, a fase final de maturação é caracterizada pelo acúmulo de algumas substâncias de reserva, que podem ou não conferir tolerância à dessecação em algumas espécies.

A tolerância à dessecação é adquirida como resultado da interação de vários fatores. A ausência ou a deficiência de algum desses fatores determinam o grau de sensibilidade das sementes ao processo de dessecação. Os principais fatores que podem acontecer nas sementes durante a dessecação são: alterações na quantidade e na natureza das reservas insolúveis acumuladas, a presença e a eficiente operação dos sistemas antioxidantes, o acúmulo de substâncias supostamente protetoras, como as proteínas LEA, sacarose e certos oligossacarídeos e o desenvolvimento de certas moléculas anfipáticas da operação de reparo dos sistemas de membrana durante a reidratação (Bewley & Black, 1994; Guimarães, 1999).

Adicionalmente às principais reservas de armazenamento, algumas proteínas e açúcares específicos são sintetizados de forma tardia no desenvolvimento da semente e podem estar associados ao desenvolvimento da tolerância à dessecação ou à longevidade da semente (De Castro, 2004).

A aquisição de tolerância à dessecação pode ocorrer em diferentes fases no processo de maturação e não é um processo sincronizado entre sementes individuais e nem entre os diferentes tecidos da semente, podendo ocorrer variações no tempo necessário para o início da tolerância à dessecação entre sementes (Ellis et al., 1987; Leprince et al., 1990). Esse processo parece ser mediado por sistemas protetores que previnem danos letais em diferentes componentes celulares, incluindo membranas, proteínas e citoplasma. Três importantes sistemas têm sido caracterizados: (1) proteínas LEA, (2) acumulação de açúcares redutores e (3) habilidade para prevenir, tolerar ou

reparar ataque de radicais livres (Buitink et al., 2002; De Castro, 2004; Pammenter & Berjak, 1999).

A síntese de um conjunto de proteínas específicas está associada à aquisição de tolerância à dessecação durante o desenvolvimento de sementes. Existem classes de mRNA que são produzidas no final do desenvolvimento e durante a dessecação. Incluídos entre estes estão os abundantes mRNA que codificam um grupo de proteínas hidrofílicas: as proteínas LEA (do inglês *late embryogenesis abundant proteins*) (Baker et al., 1988; Galau et al., 1986).

As proteínas LEA são formadas por segmentos aleatórios e têm forma de espiral, ocasionalmente com uma  $\alpha$ -hélice amplificada que deve servir como uma base para ordenar a estrutura superior. Possuem alta solubilidade em água e estabilidade, mesmo na ebulição e grande proporção de aminoácidos hidrofílicos, particularmente glutamina e glicina. Podem ainda ligar íons e água e estar associadas com os açúcares, controlando a taxa de perda de água e mantendo a viabilidade das sementes ortodoxas no estado seco (Walters et al., 1997). Essas proteínas são amplamente conservadas entre espécies de plantas e podem ser agrupadas em diversas famílias homólogas (Wise, 2003). Podem também atuar como agentes protetores de componentes celulares, como membranas e outras proteínas, possivelmente pela sua habilidade de formar espirais amorfas, protegendo-se contra danos de rompimento na ausência de água (Black et al., 1999; Kermode, 1997; Menezes, 2005; Wang et al., 2003). A presença destes mecanismos pode ser influenciada ou reduzida, de acordo com a taxa de secagem ou com o meio ambiente no qual a semente se desenvolveu (Lima, 2005).

Grandes evidências existem de que diversas LEA, incluindo desidrinas, são acumuladas durante a secagem de maturação, mas seu papel ainda é pouco esclarecido (Black et al., 1999; De Castro, 2004). Tem sido sugerido que LEA sozinhas não conferem tolerância à dessecação, mas interagem com outros

protetores, tais como oligossacarídeos. Acredita-se que a tolerância à dessecação não pode ser atribuída a um simples mecanismo de proteção; ao contrário, ela parece ser um fenômeno multifatorial em que cada componente é igualmente crítico, agindo em sinergismo e controlado em nível genético (Leprince et al., 1993).

Estas proteínas, descobertas em embriões de algodão, são induzidas por ácido abscísico e acumuladas durante os estádios mais tardios do desenvolvimento, em fase correspondente à aquisição de tolerância à dessecação (Leprince et al., 1993). A expressão das LEA proteínas cessa rapidamente após a germinação das sementes (Blackman et al., 1991). Aplicando a eletroforese de proteínas em sementes de café cv. Rubi, colhidas nos estádios verde, verde-cana e cereja, Guimarães (2000) observou presença de bandas de proteínas resistentes ao calor em todos os estádios de desenvolvimento, independente da metodologia de secagem utilizada. Foi verificada a ausência de determinadas bandas destas proteínas resistentes ao calor nas sementes não submetidas à secagem, principalmente no estágio cereja. O autor relacionou este fato à intolerância à dessecação demonstrada por essas sementes.

Em outras pesquisas, foi constatado também que o estresse pode afetar a expressão de inúmeros produtos gênicos, incluindo desidrinas, antioxidantes, proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* -HSPs) e proteínas relacionadas à senescência (Ingram & Bartels, 1996; Shinozaki et al., 1998).

De acordo com Vierling (1997), todos os organismos respondem à alta temperatura por meio de síntese de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins* – HSPs). As HSPs são geralmente designadas pelo seu peso molecular em kDa, como as HSP 110, HSP 100 e HSP 60, sendo as proteínas de baixo peso molecular de 15-30 kDa definidas com *small heat shock proteins* (sHSPs) (Sun et al., 2002; Vierling, 1991). Em plantas, há uma maior ocorrência de sHSPs (Mansfiels & Key, 1987), sendo todas elas codificadas por seis famílias

de genes nucleares e cada família corresponde a proteínas encontradas em diferentes compartimentos celulares: citossol, cloroplastos, retículo endoplasmático, mitocôndria e membranas (Walters et al., 1996). Em soja, sob condições de estresse térmico, o nível de expressão para as sHSPs pode superar 1% de todas as proteínas celulares (Hisieh et al., 1992).

Vieira (2005), usando o método de Bradford (1976) para sementes de *Cupania vernalis*, uma espécie recalcitrante, submetidas à secagem de 45% e 30% de umidade, observou presença de bandas com pesos moleculares de 10, 25 e 60kDa, sugerindo que o estresse causado no teor de água das sementes pode estar associado à indução de HSPs.

Segundo Vertucci & Farrant (1995), as HSPs têm sido relatadas como funcionais na preservação e reparo de estruturas macromoleculares durante a desidratação ou reidratação, respectivamente.

Além do acúmulo do grupo particular de mRNA e de proteína LEA, também ocorrem mudanças no conteúdo de açúcares redutores, durante o desenvolvimento das sementes.

Em relação à acumulação de açúcares redutores que estabilizam membranas e proteínas em condições de sementes secas, existem evidências de que açúcares solúveis, atuando como “substitutos da água”, podem desenvolver um importante papel na tolerância à dessecação (Leprince et al., 1993). Os açúcares formam pontes de hidrogênio com água e preservam a estrutura das proteínas (Hoekstra et al., 2001). Além disso, esses açúcares podem promover a formação de um estado de gel, vítreo ou de vidro em tecidos secos. Um estado de gel ou vítreo caracteriza-se por ser um estado contínuo e amorfo, com viscosidade muito elevada (vitificação). A presença de um estado vítreo retarda extremamente as reações químicas que podem conduzir à degradação de componentes das sementes, impedindo ainda a fusão de membranas e o conseqüente rompimento da compartimentalização celular (Buitink et al., 2002).

O estado vítreo contribui, provavelmente, para a longevidade de sementes secas (Buitink et al., 2000; Leopold et al., 1994).

Açúcares e oligossacarídeos específicos, que podem estar associados à tolerância a estresses, também se acumulam tardiamente no desenvolvimento da semente (De Castro, 2004). A sacarose é o açúcar solúvel mais abundante em sementes maduras, enquanto os açúcares redutores, como a glicose e a frutose, são virtualmente ausentes. Muitas sementes também acumulam açúcares dos tipos rafinose, estaquiase, verbascose e oligossacarídeos correlatos formados pela adição sucessiva de unidades de galactose à sacarose (Obendorf, 1997; Peterbauer & Richter, 2001). Clarke & Macrae (1985) relatam que os teores de sacarose dependem da espécie, variedade, estágio de desenvolvimento e das condições de processamento e armazenamento das sementes.

Bochicchio et al. (1994) levantaram a hipótese de que dois açúcares estariam envolvidos no processo de aquisição da tolerância à dessecação: a sacarose e a rafinose. Górecki (1997) verificou que o acúmulo de oligossacarídeos da família da rafinose correlacionou-se fortemente com a capacidade de sementes de *Lupinus luteus* germinarem após a dessecação. Obendorf (1997) afirmou que existe um nível crítico desses oligossacarídeos (série rafinósica), abaixo do qual a tolerância à dessecação é comprometida.

Em sementes de *Acer platanoides*, quando secas rapidamente a 4% ou 5% do teor de água, os teores de sacarose e estaquiase aumentaram, no entanto, o teor de rafinose foi menor (Hong et al., 2000).

Em sementes de *Coffea*, os açúcares redutores encontrados em maior quantidade são a glicose e a frutose, sendo predominantes no início do desenvolvimento dos frutos (Rogers et al., 1999). No entanto, Guimarães (2000), em estudos sobre o desenvolvimento de mecanismos de tolerância à dessecação de sementes de cafeeiro em diferentes estádios de desenvolvimento, detectou apenas a sacarose nos embriões, não sendo encontrados açúcares como a glicose,



rafinose e estaquiose. Lima (2005) também observou maiores teores de sacarose para sementes de *Coffea arabica*.

Adams et al. (1983) verificaram que sementes imaturas de *Glycine max* tiveram sua maturação concluída quando foram expostas à secagem lenta, o que proporcionou um acúmulo de sacarose, rafinose e outros açúcares, acompanhado pelo aumento da tolerância à dessecação nos embriões.

Pela alta concentração e habilidade para induzir tolerância *in vitro*, a sacarose era tida como o maior agente protetor. Em sementes imaturas de soja, durante um tratamento de secagem lenta, *in vitro*, que induziu tolerância à dessecação, foi encontrado um aumento na concentração de estaquiose e rafinose, e um decréscimo na concentração de sacarose (Blackmam et al., 1991). Assim, parece que a presença de oligossacarídeos pode suplementar a sacarose na sua função de conferir proteção contra danos induzidos por dessecação (Guimarães, 2000).

Em contraste, a glicose parece não ser um protetor de membranas eficientes para promover a formação de vidro (Guimarães, 2000). Koster & Leopold (1988) demonstraram que a formação de vidro foi dependente de específicas combinações de açúcares. Uma mistura de açúcares, semelhante à encontrada em eixos de soja tolerantes à dessecação (isto é: 85:15, rafinose:sacarose), entra num estado vitrificado, à temperatura ambiente, durante à dessecação, enquanto que uma mistura semelhante àquela encontrada em eixos intolerantes à dessecação (75:25, glicose:sacarose) somente forma vidro abaixo de 0°C.

Assim como no caso das proteínas LEA, as contribuições específicas dos oligossacarídeos para a tolerância à dessecação e para a longevidade de sementes no estado seco são ainda questionadas (Buitink et al., 2002; Gurusinghe & Bradford, 2001; Hoekstra, et la., 2001).

Sobre a habilidade para prevenir, tolerar ou reparar ataque de radicais livres durante a dessecação, sabe-se que radicais livres são naturalmente produzidos durante o metabolismo das plantas, particularmente em cloroplastos e mitocôndria (Halliwell, 1987; Leprince et al., 1990; Puntarulo et al., 1991; Senaratna & McKersie, 1986). Moléculas removedoras de radicais livres incluem antioxidantes lipossolúveis (ácido ascórbico, glutatona) que são encontrados em altas concentrações nas sementes, variando em diferentes tecidos e diferentes espécies (Franzen & Haas, 1991), além de sistemas enzimáticos processadores de radicais livres, incluindo superóxido dismutase (SOD) que cataliza a dismutação de superóxido ( $O_2^-$ ) em  $H_2O_2$  e  $O_2$  e aquelas enzimas envolvidas na desintoxicação de  $H_2O_2$  (isto é, catalase, glutatona redutase, ascorbato e outras peroxidases) (Guimarães et al., 2002).

As plantas produzem uma grande variedade desses produtos. A desestruturação da membrana causada pelo processo de dessecação promove a liberação de compostos fenólicos que podem sofrer oxidação, formando complexos de proteínas/fenol, com conseqüente perda da atividade enzimática (Carvalho, 2000). Duas rotas metabólicas básicas estão envolvidas na síntese dos compostos fenólicos: a rota do ácido chiquímico (vegetais) e a rota do ácido malônico (fungos e bactérias) (Taiz & Zeiger, 2004).

Os polifenóis estão presentes em quase todos os vegetais e compreendem um grupo heterogêneo de substâncias, que podem apresentar estruturas químicas relativamente simples ou complexas, como taninos e ligninas. De modo geral, caracterizam-se por possuir, pelo menos, um anel aromático, no qual ao menos um hidrogênio é substituído por uma hidroxila (Carvalho et al., 2001).

Os polifenóis são facilmente oxidáveis, tanto por enzimas vegetais específicas quanto por influência de metais (como ferro e manganês), da luz e do calor, ou em meio alcalino, ocasionando o escurecimento de suas soluções ou dos compostos isolados (Carvalho et al., 2001).

Sementes de várias espécies tropicais possuem uma alta concentração de compostos fenólicos e polifenol oxidases intracelulares. A oxidação fenólica é um dos sérios problemas que podem promover alterações na germinação de sementes, já que os compostos fenólicos reduzem a disponibilidade de oxigênio no interior da semente, restringindo o processo germinativo (Bewley & Black, 1994).

Segundo Santos et al. (1991), a presença de compostos fenólicos decresce com o processo de maturação e durante os primeiros anos de armazenamento devido à sua oxidação. Em algumas sementes, o efeito inibitório na germinação pela presença dos compostos fenólicos aumenta com a temperatura, já que o oxigênio se torna menos solúvel e a oxidação mais intensa (Corbineau & Come, 1995).

Entretanto, a maturação não é um processo obrigatório. Se removidos da planta-mãe e colocados em meio de cultura, embriões de muitas espécies germinam e se desenvolvem em plântulas normais (Pereira, 2004).

#### **2.4 Cultivo *In vitro***

No estudo da maturação de sementes, tem-se empregado a tecnologia *in vitro*, por sua possibilidade de multiplicação em qualquer época do ano e por utilizar materiais genéticos que normalmente têm o inconveniente de perder sua capacidade regenerativa, a qual dificulta a propagação vegetativa para se obter descendência garantida (Bajaj et al., 1998).

A cultura de tecidos é uma ciência que detém as técnicas por meio das quais pequenos fragmentos de tecido vegetal vivo, designados explantes, ou embriões de sementes, são cultivados em meio nutritivo em condições assépticas (Rezende, 2005).

Por consistirem parte essencial da cultura de tecidos, os meios de cultura têm evoluído juntamente com a própria ciência da biotecnologia. Os meios nutritivos utilizados para a cultura de células, tecidos e órgãos de plantas fornecem as substâncias essenciais para o crescimento e controlam, em grande parte, o padrão de desenvolvimento *in vitro* (Caldas et al., 1998). Devem suprir tecidos e órgãos cultivados *in vitro* com macro e micronutrientes, uma fonte de carboidrato (normalmente a sacarose) e outras substâncias como vitaminas, aminoácidos, agente geleificante e reguladores de crescimento (Pasqual et al., 1998).

Diversas formulações de meio têm sido empregadas na cultura *in vitro*, as quais diferem entre si basicamente em relação à concentração dos sais. Entretanto, em 1962, um grande passo foi dado com a publicação de um trabalho por Murashige & Skoog, que determinaram a concentração de sais, estabelecendo o tão conhecido meio 'MS'. É o mais utilizado na propagação *in vitro*, promovendo resultados positivos na multiplicação de segmentos nodais, desenvolvimento de embriões e indução de embriogênese somática em explantes foliares (Cordeiro, 1999; Maciel, 2001; Pereira, 2005; Ribeiro, 2001). Entretanto, com espécies lenhosas, o meio MS não tem se mostrado satisfatório em alguns casos, tendo-se observado que composições mais diluídas em macronutrientes tiveram melhor desempenho. Formulações especialmente desenvolvidas para espécies lenhosas, como, por exemplo, o meio WPM (do inglês *wood plant medium*) (Lloyd & McCown, 1980), têm sido descritas e utilizadas freqüentemente como alternativa ao meio MS, por apresentarem 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio MS, além de mais potássio e um alto nível de íons sulfato (Melo et al., 1999; Pasqual, 2001).

A micropropagação de espécies lenhosas requer estudos mais específicos e desenvolvimento de metodologias que atendam às exigências dos explantes (Coelho, 1999; Deccetti, 2000; Pereira, 2004). A dificuldade em se propagar

plantas lenhosas decorre do fato de que, geralmente, essas espécies apresentam maior variabilidade genética dos tecidos e concentração elevada de fenóis que, liberados no meio de cultura, impedem o desenvolvimento dos explantes (Pierik, 1987). Para evitar o problema de oxidação por elevadas concentrações de fenóis, os meios podem ser acrescidos de carvão ativado ou de polivinilpirrolidona (PVP) (Pereira, 2004).

Além dos fenóis, a presença de microrganismos contaminantes pode interferir nos resultados, pois eles competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura e provocam danos diretos e indiretos pela colonização de seus tecidos, podendo, ainda, eliminar, no meio, metabólitos tóxicos. Dessa forma, a desinfestação das sementes se torna um importante fator, por possibilitar a redução de microrganismos, uma vez que estes aceleram a perda em qualidade das sementes, reduzindo a germinação (Carvalho & Von Pinho, 1997; Chunjie et al., 2002; Mycock & Berjak, 1995; Schmidt, 2000).

Várias substâncias podem ser utilizadas na desinfestação do material (Sato et al., 2001). O descontaminante mais utilizado na cultura de tecidos é o hipoclorito de sódio ou de cálcio, diluído em água, com cerca de 1% de cloro ativo. Para melhorar o contato com a superfície dos explantes, o tratamento com hipoclorito é frequentemente precedido por uma lavagem em álcool. O etanol remove parcialmente ceras hidrofóbicas e resinas, que protegem os microrganismos do contato com o descontaminante (Bonga & Von Aderkas, 1992). Para Thomas & Davey (1975) e Grattapaglia & Machado (1998), o álcool etílico 70% apresenta maior eficiência como desinfestante do que o álcool puro, já que não desidrata rapidamente os tecidos vegetais.

Quando não se tem uma desinfestação eficiente pelo método usual, com etanol e hipoclorito de sódio, podem ser utilizadas substâncias, como fungicidas e bactericidas, no meio de cultivo, para melhorar a eficiência da desinfestação.

Seja qual for o produto utilizado, o material a ser desinfestado deve ser mantido em água corrente por alguns minutos, para uma lavagem superficial de partículas de poeira e outras fontes de contaminações superficiais. O processo de desinfestação deve ser realizado em câmara de fluxo laminar, em condições assépticas, utilizando vidrarias previamente esterilizadas (Grattapaglia & Machado, 1998).

## **2.6 Avaliação da qualidade das sementes**

A germinação é uma característica de difícil avaliação, uma vez que o fenômeno da dormência pode interferir acentuadamente nos resultados do teste de germinação. Para a obtenção de resultados confiáveis e compráveis do teste de germinação é necessária a utilização de condições padrões, que podem ser encontradas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992b); entretanto, espécies do gênero *Tabebuia* não estão entre as espécies listadas (Brasil, 1992b; Oliveira, 2004).

Um dos problemas que afetam a germinação das sementes é a presença de fungos que só se manifestam quando as sementes são colocadas para germinar, não havendo sinais (micélio) visíveis do fungo durante o armazenamento (Berjak, 1995).

Para *Tabebuia roseo-alba*, Degan et al. (1997) constataram que praticamente 80% das sementes estavam contaminadas por fungos do gênero *Fusarium*. Este fungo é considerado um possível patógeno destas sementes, por causar danos tanto nas sementes em germinação como em plântulas. Contaminações com *Alternaria tenuis*, *Cladosporium* spp. e *Phomopsis* spp. também foram detectadas, além dos fungos dos gêneros *Penicillium* e *Aspergillus*, que podem provocar a morte do embrião.

Assim, torna-se importante a utilização de tratamentos para a desinfestação de microrganismos antes do teste de germinação. Ferreira (1989)

salienta que, em um teste de germinação, caso o lote de sementes em estudo sofra um pré-tratamento para desinfestação superficial com fungicidas, contaminações externas do tegumento podem ser eliminadas ou diminuídas significativamente. Segundo o autor, para o tratamento de sementes de espécies florestais nativas do Brasil, é recomendado o uso de hipoclorito de sódio (2% a 3%, de 1 a 3 minutos), thiram, captan e benomyl (1-3 minutos). Sales & Castro (1994) constataram que o tratamento das sementes de ipê-amarelo, ipê-roxo e babartimão com fungicidas benomyl, captan, thiram, iprodione e hipoclorito de sódio foi eficiente em reduzir o nível de ocorrência de fungos na realização do teste de germinação. Oliveira (2004) não observou diferenças significativas entre os tratamentos de desinfestação hipoclorito de sódio (2%/3 minutos) e benomyl (2%/2 minutos) para sementes de *Tabebuia serratifolia* e *Tabebuia impetiginosa*.

A baixa qualidade das sementes de ipê foi atribuída a uma possível intolerância à dessecação, como citado no trabalho de Maeda & Matthes (1984). Esta possibilidade, porém, foi descartada por Gemaque (1999). A germinação das sementes dessa espécie, ao longo do armazenamento sob condições ideais, é extremamente variável. Pode, inclusive, ocorrer uma germinação mais baixa logo após a colheita e, com alguns dias de armazenamento, pode haver incrementos na germinação, seguidos de novos decréscimos e acréscimos (Carvalho et al., 1976; Figliolia, 1988; Figliolia et al., 1988; Kageyama et al., 1992; Kano et al., 1978; Maeda & Matthes, 1984; Oliveira, 2004). Particularmente, sementes de ipê-amarelo mostram grande variação no percentual de germinação quando mantidas sob diferentes condições e épocas de armazenamento, apesar de não apresentarem dormência (Costa, 1995).

Canny & Huang (1993) e Huang et al. (1994) relatam que a investigação dos mecanismos e fatores que afetam a germinação se tornam fundamentais para o sucesso na propagação e conservação do ipê-amarelo.

Após todas estas considerações, fica claro que conhecer e entender o processo de desenvolvimento das sementes, bem como as principais alterações morfofisiológicas que ocorrem desde a sua formação até a maturidade fisiológica, constituem importante suporte para que sejam alcançados elevados padrões de qualidade na produção e conservação de sementes de *Tabebuia serratifolia*.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes, Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura, Laboratório de Propagação de Plantas do Departamento de Ciências Florestais, Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia, Laboratório de Produtos Vegetais do Departamento de Ciência dos Alimentos, todos da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório de Cromatografia do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

#### 3.1 Coleta dos frutos e sementes

As sementes e frutos foram obtidos de uma população de 63 árvores matrizes localizadas nas proximidades do *campus* da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situado em Lavras, MG, com altitude, segundo Brasil (1992a), de 919 metros, latitude de 21°14'S e longitude de 45°00'W GRW. De acordo com a classificação de Köppen, o clima da região é de transição entre Cwb e Cwa, ou seja, com duas estações bem definidas: uma fria e seca, de abril a setembro e uma quente e úmida, de outubro a março. Foram coletados dados meteorológicos da região, durante o período de desenvolvimento das sementes, nos meses de agosto a outubro de 2004.

A coleta dos frutos foi realizada semanalmente por amostragem, em 15 árvores escolhidas aleatoriamente, considerando a data da antese. Os frutos foram colhidos em estádios diferentes de desenvolvimento, distinguidos com base no número de dias após a antese (DAA) aos 10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 dias.

Os frutos coletados eram selecionados, considerando-se um padrão de estágio de desenvolvimento, em cada data de coleta, descartando-se aqueles com

problemas fitossanitários. Após coleta, eram submetidos à lavagem com água corrente e imersos em solução de hipoclorito a 1% de cloro ativo por 5 minutos, seguida de nova lavagem em água corrente, por mais 3 minutos e secagem em papel toalha, conforme metodologia proposta por Nobre (1994).

As sementes eram retiradas pela secção longitudinal e ligeira torção dos frutos. Os embriões foram retirados das sementes com bisturi. Parte das sementes e embriões foi submetida à liofilização para análises posteriores e parte analisada imediatamente quanto à germinação e ao vigor.

A liofilização foi realizada em liofilizador a uma pressão negativa (vácuo) de 0,1mm de mercúrio com decréscimo da temperatura até -60°C, em cinco dias. O material liofilizado foi então armazenado em “deep freezer” a 86°C.

## **3.2 Avaliações referentes aos frutos e sementes**

### **3.2.1 Determinação da coloração e tamanho**

Os frutos coletados foram analisados com relação à cor (sistema CIELab), utilizando o equipamento Minolta CR- 300 Series. Os parâmetros de cor foram medidos à placa branca 9 ( $L^*=92,50$ ;  $a^*=0,3135$ ;  $b^*=0,3193$ ), sendo:  $L^*$  (luminosidade: 0 (preto) a 100 (branco)) e coordenadas de cromaticidade:  $a^*$  (-60 (verde) a +60 (vermelho)) e  $b^*$  (-60 (azul) a +60 (amarelo)). Os frutos foram seccionados em três porções e as cores das superfícies foram medidas em três pontos de cada secção. A diferença de cor ( $\Delta E^*$ ) foi obtida por meio da equação 2:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0,5}$$

em que:

$\Delta E^*$  = valor para a diferença de cor;

$L^*$  = 92,50 padrão branco;

$a^*$  = 0,3135 padrão branco;

$b^* = 0,3193$  padrão branco;

$\Delta L^*$  = diferença entre o padrão branco e a leitura da amostra;

$\Delta a^*$  = diferença entre o padrão branco e a leitura da amostra;

$\Delta b^*$  = diferença entre o padrão branco e a leitura da amostra.

A coloração das sementes foi determinada pela comparação das sementes com a Tabela de Munsell® Plant Tissue Color Chart.

O tamanho dos frutos e sementes foi determinado com uso de régua graduada.

### **3.2.2 Determinação do teor de água dos frutos e sementes (UF e US)**

Em cada estágio de desenvolvimento foi determinado o teor de água dos frutos e sementes, utilizando-se o método de estufa a  $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  por 17 horas (Brasil, 1992b), com quatro repetições de cinco frutos cortados em frações de 1,5cm. Para as sementes, foram utilizadas quatro repetições de um grama. Os resultados foram expressos em porcentagem, com base no peso úmido.

### **3.2.3 Determinação da matéria seca dos frutos e sementes (MSF e MSS)**

Os frutos coletados nos diferentes estádios de desenvolvimento (quatro repetições de cinco frutos) foram pesados e cortados em frações de 1,5cm, mantidos em estufa de circulação forçada de ar à temperatura de  $60^\circ\text{C}$  por 24 horas. Da mesma forma, quatro repetições de um grama de sementes foram utilizadas para a determinação da matéria seca. A porcentagem de matéria seca foi obtida pela diferença no peso final em gramas, nas quatro repetições.

## **3.3 Avaliações referentes às sementes**

### **3.3.1 Análise radiográfica**

As sementes obtidas nos diferentes estádios de desenvolvimento foram analisadas em sua morfologia interna pela análise radiográfica em equipamento

Faxitron HP, modelo 43855AX. Para análise, as sementes foram acondicionadas em lâminas transparentes e fixadas com fita adesiva dupla face e submetidas à radiação de 55Kv de intensidade por 25 segundos. Foi utilizado o filme radiográfico Kodak Mim-R 2000, tamanho 18x24cm e a revelação foi realizada em processadora de revelação de raios X marca Kodak, modelo M35X OMAT (Oliveira, 2004).

### **3.3.2 Análise microscópica de tecidos**

As sementes coletadas foram fixadas em álcool 70% e analisadas em relação à sua anatomia interna. A secção foi efetuada com lâmina de aço inoxidável, procedendo-se a clarificação dos cortes em solução de hipoclorito de sódio 20% (v/v do produto comercial), por um período de três a cinco minutos e três lavagens em água destilada. A coloração dos cortes anatômicos foi efetuada utilizando safra-blau (mistura de safranina e azul de astra), segundo os métodos descritos por Kraus & Arduin (1997). A montagem das lâminas semipermanentes foi realizada em água glicerinada (1:1), lutadas com esmalte sintético (Bukatsh, 1972). As fotomicrografias foram realizadas utilizando-se um fotomicroscópio Olympus BX-60, com filme ASA 100 colorido e aumentos de 4X e 10 X.

### **3.3.3 Cultivo *in vitro* de embriões**

Os embriões obtidos nos diferentes estádios de desenvolvimento foram desinfestados com álcool 70% durante 1 minuto e, posteriormente, com hipoclorito de sódio 2% de cloro ativo por 2 minutos. Passaram, em seguida, por três lavagens em água destilada e autoclavada e foram extraídos manualmente e embebidos em uma solução de hipoclorito de sódio 2% por 2 minutos em câmara de fluxo laminar (Soares, 2005). A tríplex lavagem em água estéril foi

repetida, e antes de serem inoculados, os embriões foram banhados em uma solução de fungicida sistêmico (Carbendazim) 2% durante 2 minutos.

Os embriões isolados foram mantidos em meio de cultura *in vitro*, MS (Murashige & Skoog, 1962), com adição de 2% de GA<sub>3</sub> (ácido giberélico), carvão ativado e PVP (polivinilpirrolidona) e em meio WPM (Lloyd & Mccown, 1980), com 3% de sacarose e 0,6% de ágar. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem.

Após a inoculação, os frascos com os embriões foram mantidos em sala de crescimento sob temperatura de  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e intensidade luminosa de  $13\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$ . Foram realizadas avaliações diárias, sendo avaliada a porcentagem de plântulas normais e anormais em cada tratamento. Foram utilizadas 20 repetições de três sementes para cada estágio de desenvolvimento.

As avaliações foram efetuadas computando-se protrusão radicular (emissão da radícula), plântulas normais aos 14 dias após inoculação (primeira contagem da germinação de embriões) e aos 28 dias após inoculação (germinabilidade de embriões), além de índice de velocidade de germinação de embriões (Maguirre, 1962).

#### **3.3.4 Teste de germinação (TG)**

Para a realização do teste de germinação foram adotadas três diferentes metodologias: sem desinfestação superficial (testemunha), desinfestação com hipoclorito de sódio – 2% de cloro ativo por 3 minutos e desinfestação com fungicida sistêmico (Carbendazim) – 2% por 2 minutos. O teste foi realizado com quatro repetições de 50 sementes, em substrato areia, a 30°C, sob luz constante. O teste foi conduzido de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992b), sendo efetuadas as avaliações da protrusão radicular (emissão da radícula) e da porcentagem de plântulas normais aos 14 dias (primeira contagem) e aos 28 dias após a semeadura (contagem final).

### **3.3.5 Índice de velocidade de germinação (IVG)**

O índice de velocidade de germinação foi conduzido juntamente com o teste de germinação, em sementes coletadas nos diferentes estádios de desenvolvimento, sendo as avaliações realizadas diariamente a partir do dia em que surgiam as primeiras plântulas normais no teste de germinação. O índice de velocidade de germinação foi calculado segundo a expressão proposta por Maguirre (1962).

### **3.3.6 Determinação de polifenóis**

A determinação de polifenóis nos diferentes estádios de desenvolvimento foi realizada em parte das sementes liofilizadas. As sementes foram secadas em estufa com circulação forçada de ar a 65°C por 3 dias e moídas. Pesaram-se 2g das amostras em erlenmeyer de 25mL, utilizando-se, como extrator, 50mL de metanol 80% (Goldstein & Wail, 1963). As amostras foram aquecidas em chapa metálica a 100°C por 15 minutos, sendo os frascos vedados com tampa de refluxo, posteriormente filtrados e quantificados segundo o método Follin-Denis, descrito pela AOAC (1990).

### **3.3.7 Determinação de açúcares**

Amostras de sementes liofilizadas provenientes dos diferentes estádios de desenvolvimento foram retiradas do “deep-freezer” e, em seguida, foram moídas em moinho por 20 minutos. Para a extração de açúcares, 100mg de sementes foram pesados em microtubo de 2mL, na presença de 1mL de água ultrapura, sendo incubados em banho ultrassônico (Ultrason Brason 1510) por 15 minutos. As amostras foram colocadas em banho-maria a 72°C por 15 minutos e centrifugados por 5 minutos à temperatura ambiente e 14.000 rpm.

Os açúcares foram separados por meio da técnica da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, marca Shimadzu) (Bernal-Lugo & Leopold, 1992). Utilizou-se água ultrapura como fase móvel, com um volume de injeção de 20 $\mu$ L e um fluxo de 1,0mL/minuto (bomba LC – 10 AD – Shimadzu). Os açúcares foram separados em coluna Dextrapak – cartuchos waters – 8mm x 10cm – Radial – Pak e analisados em detector de índices de refração (Waters 410), sensibilidade 32x20, polaridade +. Como padrão, foram utilizados os seguintes açúcares e as respectivas diluições: glicose (9,8mg/mL), sacarose (10,2mg/mL), rafinose (10,3mg/mL), estaquiase (10,2mg/mL).

### **3.3.8 Determinação de proteínas resistentes ao calor**

As sementes liofilizadas nos diferentes estádios de desenvolvimento foram pesadas (100 mg), moídas por 1 minuto em almofariz, na presença de nitrogênio líquido, colocadas em microtubos de 2mL com 1800 $\mu$ L de tampão de extração (50mM tris-HCl-7,5, 500 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM PMSF) e agitadas em Vortex. O homogeneizado cru foi centrifugado a 14.000 g por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante incubado em banho-maria a 80°C, por 10 minutos e novamente centrifugado. O sobrenadante foi vertido em microtubos e o *pellet* descartado. Para confecção do gel de eletroforese foram aplicados 60 $\mu$ L poliacrilamida SDS-PAGE a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). Antes da aplicação no gel, os tubos de amostras contendo 100 $\mu$ L de extrato + 57 $\mu$ L de solução tampão da amostra (2,5mL de glicerol, 0,46g de SDS, 20mg de azul bromofenol e completado o volume para 20mL do tampão de extração) foram colocados em banho-maria com água em ebulição por 5 minutos (Blackman et al., 1991). A corrida eletroforética foi realizada a 100V, por cerca de 6 horas. Após a migração eletroforética, os géis foram corados em *coomassie blue* a 0,05%, conforme Alfnas et al. (1991), durante 18 horas e descorados em solução de ácido acético 10%.

### **3.4 Delineamento experimental e análise estatística**

Os ensaios foram conduzidos seguindo o delineamento inteiramente casualizado.

Os dados foram previamente submetidos aos testes de normalidade dos resíduos e homocedasticidade das variâncias. Os dados de teor de água e matéria seca foram transformados em logaritmo neperiano ( $e$ ) e os dados de germinação foram transformados em  $\arcsen\sqrt{(x/100)}$ .

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística PROC GLM do software estatístico SAS<sup>®</sup> (*SAS INSTITUTE SAS/ STAT*, 1990). As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e os dados referentes às contagens foram avaliados pela análise de regressão polinomial.



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados climáticos apresentados na Tabela 1, no período de coleta dos frutos e sementes de *Tabebuia serratifolia*, a temperatura média da região variou de 18,5°C aos 47 DAA a 23,0°C aos 39 DAA, enquanto que a umidade relativa do ar variou de 48% (25 DAA) a 72% (47 DAA), coincidindo com o período anual de maior precipitação. A precipitação média anual da região de Lavras, segundo as normais climatológicas (Brasil, 1992a), é de 1.529,7mm, concentrada nos meses de outubro a abril, sendo o mês de outubro caracterizado por ser mais seco e mais claro.

TABELA 1. Temperatura mínima (Min), média (Med) e máxima (Max), umidade relativa do ar (UR); precipitação média acumulada e insolação total verificados durante o período da coleta dos frutos e sementes (dias após a antese - DAA) de *Tabebuia serratifolia* (agosto a outubro de 2004).UFLA, Lavras, MG, 2005.

Datas	DAA	Temperaturas (°C)			UR (%)	Precipitação (mm)	Insolação (h)
		Min	Med	Max			
23/ago	0	13,1	21,0	30,4	57	0,0	9,2
02/set	10	14,4	20,1	29,8	58	0,2	8,6
10/set	18	13,7	21,3	30,4	53	0,0	10,1
17/set	25	13,5	21,0	29,4	48	0,0	10,5
24/set	32	13,7	21,0	25,5	64	2,9	7,7
01/out	39	16,4	23,0	32,0	50	0,0	9,9
09/out	47	14,4	18,5	25,1	72	13,6	5,6
15/out	53	15,7	21,0	27,0	71	8,2	4,6

Fonte: Estação Climatológica Principal de Lavras. UFLA (2004).

Não existem, na literatura, informações a respeito da temperatura média anual requerida para a espécie de *T. serratifolia*. No entanto, segundo Gentry (1982), a espécie *T. serratifolia* ocorre em ambientes ecologicamente diversos, desde florestas mais ou menos sazonais em solos lateríticos bem drenados a solos ricos ou arenosos e, às vezes, no Cerrado, onde a temperatura média pode variar de 25°C a 40°C no verão e 20°C a 10°C nos meses mais frios. Dessa forma, a variação de temperatura e umidade relativa do ar durante o período do experimento ao longo do processo de maturação propiciou a formação das sementes sem estresse climático.

Na Tabela 2, observam-se os resultados de coloração e comprimento dos frutos e sementes de *Tabebuia serratifolia* nos diferentes estádios de desenvolvimento (DAA). Pela coordenada  $\Delta E$  aos 10, 18 e 25 DAA, a diferença de cor foi significativa, seguida de um decréscimo aos 32 e 39 DAA e posterior acréscimo aos 47 e 53 DAA. A cor dos frutos foi alterada de verde para amarronzado, ao final do período avaliado que coincidiu com a abertura dos mesmos pelo aparecimento de fendas longitudinais.

A coloração dos frutos tem sido freqüentemente associada com o momento ideal de colheita como para *T. impetiginosa*, cuja coloração dos frutos variaram de verde intenso com manchas grandes arroxeadas a verde com pontos arroxeados (Gemaque, 1999; 2002) e para *Tabebuia avellanae* (Barbosa et al., 1992b), com a coloração dos frutos tendendo para o amarelo-amarronzado.

O comprimento dos frutos aumentou ao longo do processo de desenvolvimento, variando de 7 a 18cm. Os frutos atingiram o tamanho máximo de 18cm aos 32 DAA, não apresentando variação após esse período.

Os resultados referentes ao comprimento e largura dos frutos de *Tabebuia serratifolia* foram semelhantes aos obtidos para *Mimosa caesalpinifolia* (Alves et al., 2005), *Torresia acreana* (Firmino et al., 1996), *Pterogyne nitens* (Carvalho, 1980), *Grevillea banksii* (Silveira, 1982), *Copaifera*

*langsdorffii* (Barbosa et al., 1992a), *Myroxylon balsamum* (Aguiar & Barciela, 1986), *Eucalyptus grandis* (Aguiar et al., 1988) e *Cnidoscopus phyllacanthus* (Silva, 2002). Nestas, o tamanho dos frutos não variou a partir de determinado estágio de desenvolvimento, mantendo-se constante até o final do período de maturação, sendo considerado um parâmetro inadequado para auxiliar na determinação da maturidade fisiológica das sementes.

TABELA 2. Diferença de coloração ( $\Delta E^1$ ) e comprimento de frutos e sementes de *T. serratifolia*, durante o desenvolvimento, em função de dias após a antese (DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

DAA	$\Delta E^1$	Cor frutos	Comprimento frutos (cm)	Cor sementes	Comprimento sementes (cm)
10	59,67 a	verde	7-8	verde-folha	1,0
18	58,70 a	verde	10-12	verde-folha	2,0
25	56,41 a	verde	15-17	verde-folha	2-2,5
32	16,56 c	azulado	+ de 18	verde-amarelo	2,5
39	9,39 c	verde-azulado	+ de 18	verde-amarronzado	2,5
47	60,38 a	verde-amarronzado	+ de 18	verde-amarronzado	2,5
53	42,16 b	amarronzado	+ de 18	amarronzado	2,5-3,0

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A coloração das sementes variou de verde-folha a amarronzado, semelhante à encontrada para sementes de *Tabebuia impetiginosa*, que variou,

durante o desenvolvimento, de verde a verde-amarelo-amarronzado (Gemaque, 1999; 2002).

O comprimento das sementes atingiu valores de 1,0 a 3,0cm. Com relação à largura, não foram verificados valores superiores a 1cm das sementes nos diferentes estádios de desenvolvimento (Tabela 2).

No presente trabalho, o padrão de crescimento das sementes foi semelhante ao descrito por Carvalho & Nakagawa (2000) ao relatarem que, de maneira geral, as sementes aumentam de tamanho rapidamente, atingindo o máximo num período de tempo curto, em relação à duração total do período de maturação. Segundo Silveira (1982), essa relativa rapidez com que as sementes atingem tamanho máximo deve-se, possivelmente, à necessidade que as sementes têm de manter um alto teor de água durante a fase de mais intenso acúmulo de massa seca. Para sementes de *Euterpe edules*, (Lin, 1986) e *Andenantha peregrina* (Lopes et al., 1991), o aumento em tamanho das sementes revelou ser um bom indicativo da maturidade fisiológica.

Os teores de água dos frutos e sementes podem ser visualizados na Figura 2. Os dados dos teores de água de frutos e sementes ajustaram-se ao modelo cúbico. O maior valor para teor de água dos frutos e sementes foi alcançado aos 39 DAA. Após esse período, observou-se redução lenta no teor de água para frutos, aos 47 DAA e para sementes, aos 53 DAA.

Os resultados encontrados para sementes de *T. serratifolia* coincidem com o que foi descrito por Marcos Filho (2005), que afirma que o teor de água do óvulo recém-fecundado é de, no mínimo, 80% (base úmida). Esse valor decresce durante o processo de maturação, embora permaneça relativamente elevado durante todo esse período.

Esta variação no teor de água nos frutos e sementes, durante o processo de maturação, foi comentada por Carvalho & Nakagawa (2000) como fato esperado, uma vez que já foi observada para sementes de inúmeras espécies

florestais nativas, a exemplo de *Enterolobium contortisiliquum* (Borges et al., 1980), *Dalbergia nigra* (Martins & Silva, 1997), *Cnidoscylus phyllacanthus* (Silva, 2002), *Mimosa caesalpiniiifolia* (Alves et al., 2005) e *Mucuna aterrima* (Nakagawa et al., 2005).

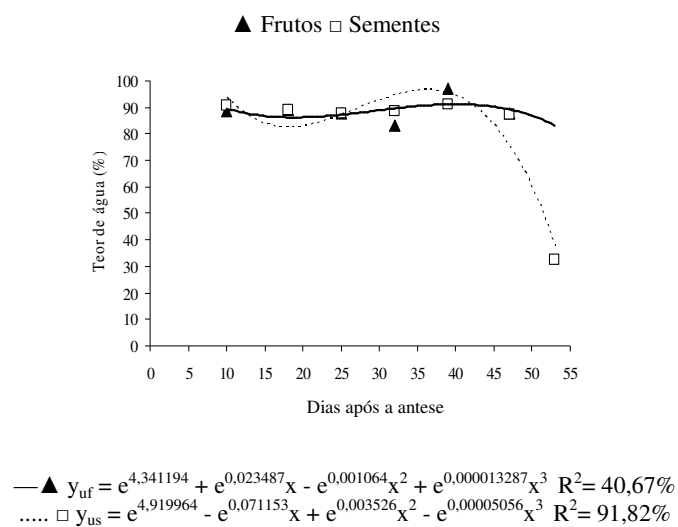


FIGURA 2. Gráficos e equações representativas das modificações ocorridas no teor de água de frutos e sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

O teor de água dos frutos e sementes é considerado, por alguns autores, como índice eficaz para auxiliar na determinação da maturidade fisiológica das sementes de espécies como *Pterogyne nitens* (Carvalho, 1980), *Anadenanthera macrocarpa* (Souza & Lima, 1985), *Podocarpus lambertii* (Ragagnin et al.,

1994), *Grevillea banksii* (Silveira, 1982), *Myroxylon balsamum* (Aguiar & Barciela, 1986), *Eucalyptus grandis* (Aguiar et al., 1988), *Tabebuia avellanedae* (Barbosa et al., 1992b), *Inga uruguensis* (Figliolia & Kageyama, 1994), *Torresia acreana* (Firmino et al., 1996), *Dalbergia nigra* (Martins & Silva, 1997), *Cedrella fissilis* (Corvello et al., 1999), *Cnidosculus phyllacanthus* (Silva, 2002) e *Mimosa caesalpiniiifolia* (Alves et al., 2005).

Os dados referentes ao acúmulo de matéria seca nos frutos ajustaram-se ao modelo quadrático e, nas sementes, ao modelo cúbico (Figura 3). Verificaram-se valores máximos de matéria seca nos frutos aos 47 DAA e nas sementes aos 53 DAA.

Tal comportamento foi semelhante ao descrito por Carvalho & Nakagawa (2000), ou seja, o acúmulo de matéria seca em uma semente em formação, inicialmente, ocorre de maneira lenta, seguida de uma fase de rápido e constante acúmulo. No final do processo, a matéria seca pode apresentar um pequeno decréscimo, como resultado de perdas pela respiração.

A utilização da matéria seca como índice de maturação foi eficaz para a determinação do ponto de maturidade fisiológica de sementes de diferentes espécies, como *Grevillea banksii* (Silveira, 1982), *Anadenanthera macrocarpa* (Souza & Lima, 1985), *Myroxylon balsamum* (Aguiar & Barciela, 1986), *Eucalyptus grandis* (Aguiar et al., 1988), *Tabebuia avellanedae* (Barbosa et al., 1992b), *Inga uruguensis* (Figliolia & Kageyama, 1994), *Torresia acreana* (Firmino et al., 1996), *Dalbergia nigra* (Martins & Silva, 1997), *Cedrella fissilis* (Corvello et al., 1999), *Cnidosculus phyllacanthus* (Silva, 2002) e *Mimosa caesalpiniiifolia* (Alves et al., 2005). No entanto, Barbosa et al. (1992a) observaram que o acúmulo de massa seca nos frutos e nas sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. não foi um bom indicador de maturidade fisiológica. A discussão sobre os parâmetros mais adequados para avaliação da maturidade fisiológica de sementes evoluiu nos últimos anos, com a evidência de que nem

sempre todos os parâmetros avaliados atingem o máximo de matéria seca em períodos coincidentes.

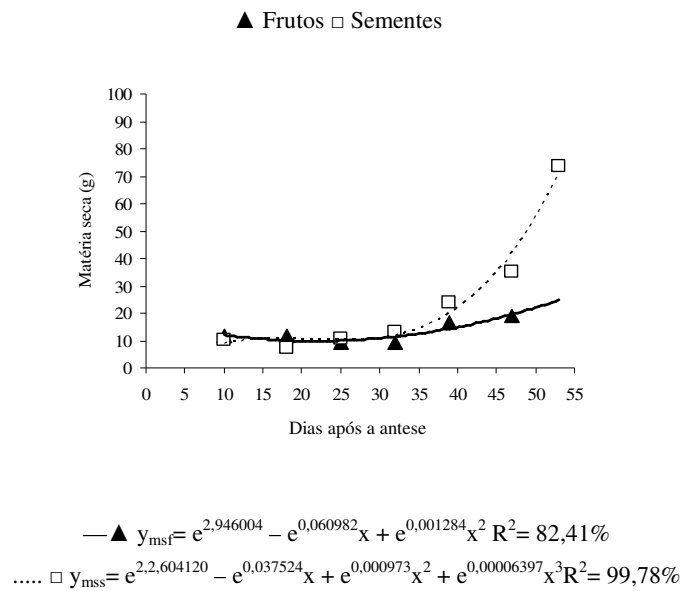


FIGURA 3. Gráficos e equações representativas das modificações ocorridas no acúmulo de matéria seca de frutos e sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

As sementes de *T. serratifolia* foram visualizadas internamente pela análise radiográfica (Figura 3). Aos 10 DAA, as sementes ainda se encontravam em formação; aos 18 DAA, suas estruturas internas não estavam totalmente formadas e sua estrutura externa (tegumentos) apresentava-se menos espessa ao observado no final do desenvolvimento. Aos 25 e 32 DAA, a estrutura interna

das sementes ainda apresentava um formato alongado horizontalmente e, só aos 39 DAA, as sementes se encontravam aparentemente formadas, gerando, inclusive, maior porcentagem de plântulas normais no cultivo *in vitro*. As estruturas internas foram melhor visualizadas aos 53 DAA, provavelmente devido ao acúmulo de matéria seca neste estágio de desenvolvimento, ao menor teor de água e à maior diferenciação dos tecidos com densidades diferentes. Segundo Carvalho (1999), o teor de água da semente e a variação da densidade de tecidos internos têm grande influência na qualidade das imagens radiográficas.

A análise radiográfica possibilita a classificação das sementes em função do estágio de desenvolvimento, da morfologia dos embriões e permite inferir sobre a qualidade fisiológica de um lote de sementes de acordo com os resultados obtidos para *Bauhinia torficata* (Mattos & Medeiros, 2000), *Lithrae molleoides* (Machado & Cicero, 2003), *Peltophorum dubium* (Oliveira et al., 2003), *Tabebuia serratifolia* e *Tabebuia impetiginosa* (Oliveira, 2004).



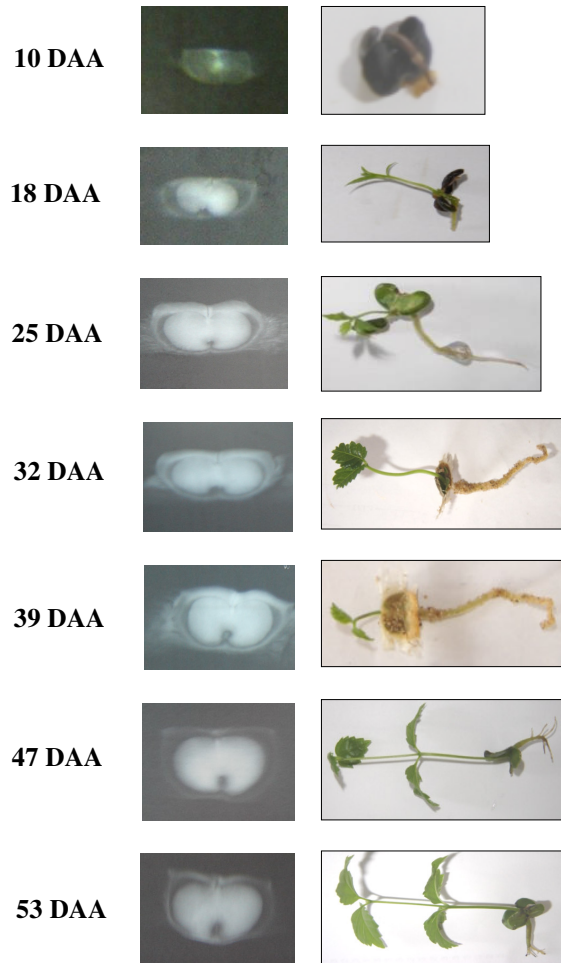


FIGURA 4. Imagens radiográficas de sementes de *Tabebuia serratifolia* com as respectivas plântulas resultantes do cultivo *in vitro*, durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Pela análise microscópica da região do eixo embrionário das sementes de *Tabebuia serratifolia* (Figura 5), observa-se, aos 10 DAA, o estágio globular

dos embriões, no qual ocorrem divisões sucessivas e aumento do tamanho das células, com a distinção do suspensor. A partir desse estágio de desenvolvimento, os embriões encontram-se no estágio torpedo, caracterizado pelo desenvolvimento e pela diferenciação do hipocótilo e da radícula. O embrião maduro é formado aos 53 DAA.

A evolução do desenvolvimento embrionário sugeriu um padrão ortodoxo como o encontrado por Estanislau (2002), para sementes de cafeeiro. O autor detectou todas as fases de desenvolvimento do embrião, constatando que o embrião maduro ocorre nos frutos no estágio cereja aos 225 dias após a antese. Porém, o estágio torpedo (embrião completamente diferenciado) ocorre já aos 150 dias após a antese.

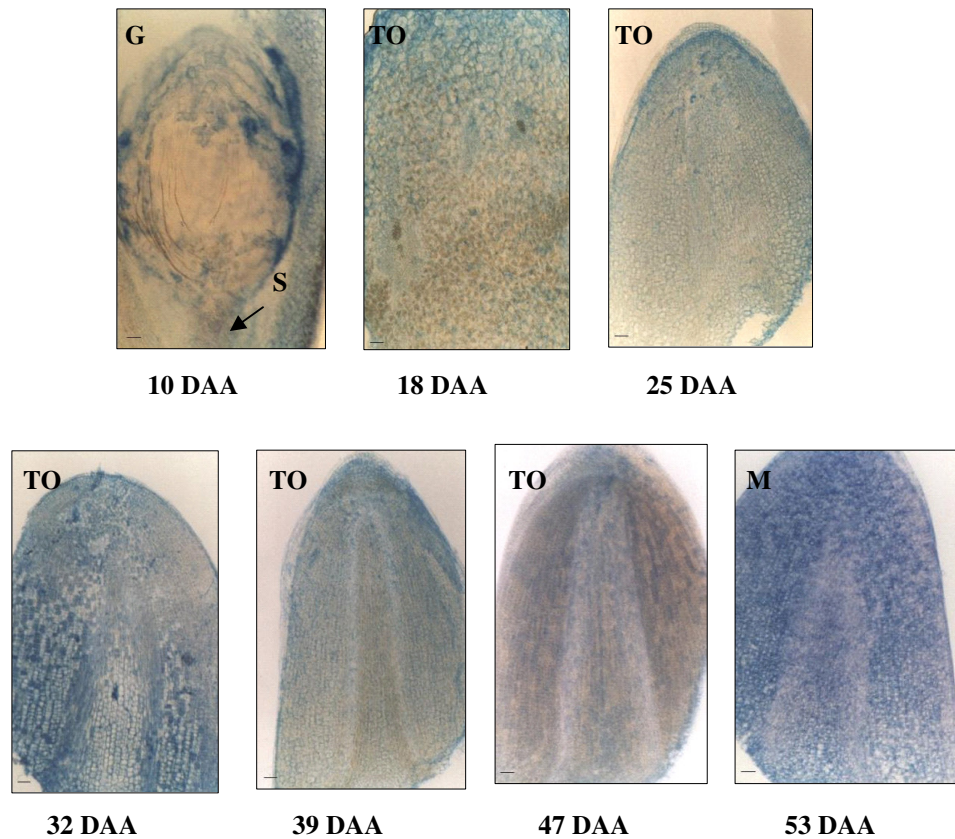
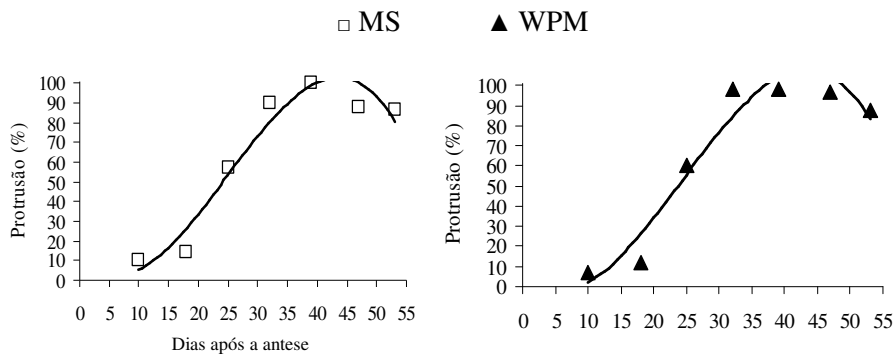


FIGURA 5. Fotomicrografias da região do eixo embrionário de sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA), obtidas pela microscopia de luz. A barra corresponde a 10µm. A seta indica o suspensor (S). Distigui-se o formato do eixo embrionário globular (G), torpedão (TO) e embrião maduro (M). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Com relação ao estabelecimento *in vitro* de embriões de *T. serratifolia* ao longo do desenvolvimento, não foram observadas diferenças significativas entre os meios de cultura MS e WPM nos diferentes estádios de desenvolvimento para todos parâmetros avaliados no cultivo *in vitro* (Anexo 10A). Incrementos na germinação dos embriões iniciaram aos 10 DAA, sendo os valores máximos de protrusão radicular, plântulas normais (primeira contagem) e germinabilidade de embriões observados aos 39 DAA, ajustando-se ao modelo cúbico. A maior velocidade de germinação ocorre aos 25 DAA, ajustando ao modelo cúbica para o meio de cultura MS e ao modelo quadrático para o meio WPM (Figuras 6, 7, 8 e 9; Anexos 7A, 8A, e 9A). Após atingirem valores máximos, foram observados decréscimos, tanto para protrusão radicular, como para plântulas normais (primeira contagem), germinabilidade dos embriões e índice de velocidade de germinação.

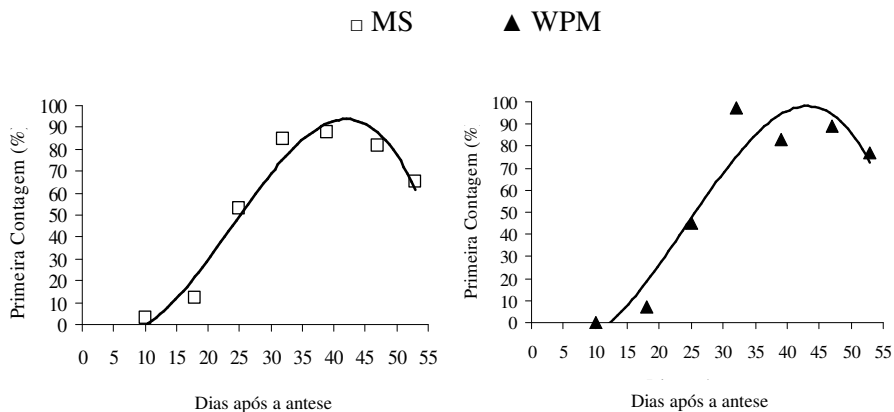
Estanislau (2002) observou, para sementes de cafeeiro, que os embriões isolados mostraram capacidade germinativa antes das sementes. De maneira geral, pode-se observar que os embriões apresentam germinabilidade em estádios imaturos do desenvolvimento das sementes.



$$y_{ms} = 12,216628 - 3,228914x + 0,292400x^2 - 0,003910x^3 \quad R^2 = 94,25 \%$$

$$y_{wpm} = 2,711632 - 2,623780x + 0,289421x^2 - 0,003985x^3 \quad R^2 = 94,36 \%$$

FIGURA 6. Protrusão radicular em meio de cultura MS e WPM de embriões de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.



$$y_{ms} = 4,042138 - 2,981525x + 0,295396x^2 - 0,004126x^3 \quad R^2 = 96,29 \%$$

$$y_{wpm} = 0,436429 - 3,117366x + 0,301780x^2 - 0,004101x^3 \quad R^2 = 91,75 \%$$

FIGURA 7. Plântulas normais (primeira contagem) da germinação em meio de cultura MS e WPM de embriões de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

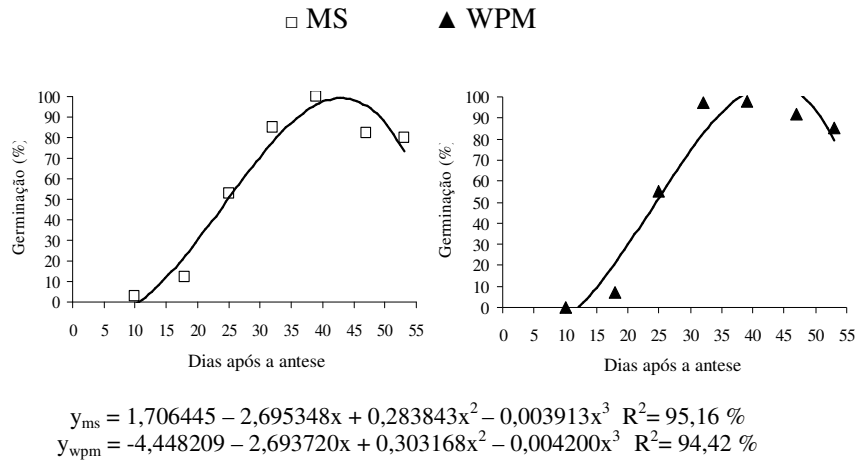


FIGURA 8. Germinabilidade em meio de cultura MS e WPM de embriões de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

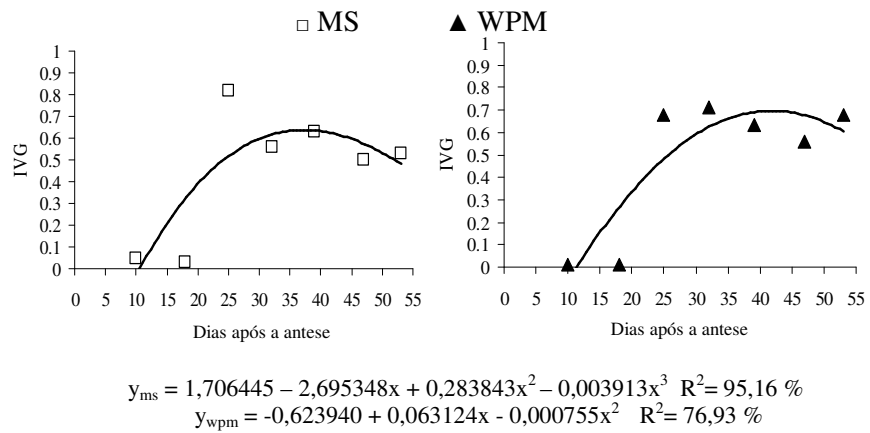


FIGURA 9. Índice de velocidade de germinação em meio de cultura MS e WPM de embriões de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Pela análise da germinação das sementes, os dados referentes à protrusão radicular, primeira contagem, contagem final e índice de velocidade de germinação se ajustaram ao modelo quadrático (Figuras 10, 11, 12 e 13). A germinação das sementes de *Tabebuia serratifolia* iniciou a partir de 32 DAA, em todos parâmetros avaliados, sendo os valores máximos de protrusão radicular, primeira contagem, contagem final e índice de velocidade de germinação, verificados para as sementes aos 53 DAA, coincidindo com o maior acúmulo de matéria seca (Figura 3) e com a abertura dos frutos. Comportamento semelhante de máxima germinação associada com o período de abertura de frutos foi registrado para sementes de *Paullinia cupana* (Carvalho et al., 1983), *Copaifera langsdorfii* (Barbosa et al., 1992a) e *Tabebuia impetiginosa* (Gemaque, 1999; 2002), as quais apresentam máximos valores de germinação e matéria seca e reduzidos valores de teor de água por ocasião da deiscência e dispersão das sementes. Guimarães (2000) relata, para sementes de cafeeiro, que a viabilidade e o vigor aumentam com o avanço da maturação das sementes, apresentando melhores resultados nos estádios mais avançados.

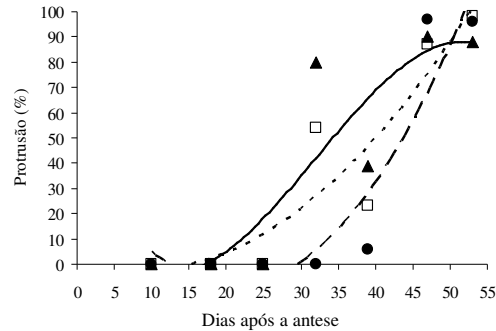
Para *Tabebuia avellanedae*, a maturidade fisiológica das sementes é obtida aos 105 dias após a antese, ocasião em que se observou uma elevação acentuada nos valores de porcentagem, índice de velocidade de germinação e matéria seca (Barbosa et al., 1992b). Para sementes de *Andeanthera macrocarpa*, a germinação máxima ocorre aos 220 dias após a frutificação (Souza & Lima, 1985); para *Myroxylon balsamum*, aos 118 dias após o florescimento (Aguilar & Barciela, 1986); para *Copaifera langsdorfii*, aos 95 dias após a antese (Barbosa et al., 1992a); para *Podocarpus lambertii*, aos 131 dias após o florescimento (Ragagnin et al., 1994); para *Dalbergia nigra*, aos 335 dias após o florescimento (Martins & Silva, 1997) e para *Mimosa caesalpinifolia*, o período de maturidade fisiológica ocorre entre 157 e 168 dias após a antese podendo ser colhida até 189 dias após a antese, uma vez que, a

partir deste período, começa a ocorrer perda de frutos e sementes, devido à dispersão natural (Alves et al., 2005).

Alterações na porcentagem de germinação das sementes não desinfestadas (testemunha) e desinfestadas com fungicida sistêmico (Carbendazim) não foram significativas; já o tratamento com hipoclorito de sódio acarretou em redução na porcentagem de germinação. Oliveira (2004) não observou diferenças significativas entre os tratamentos de hipoclorito de sódio e benomyl com relação à testemunha, quando desinfestou sementes de *Tabebuia serratifolia* e *T. impetiginosa*.

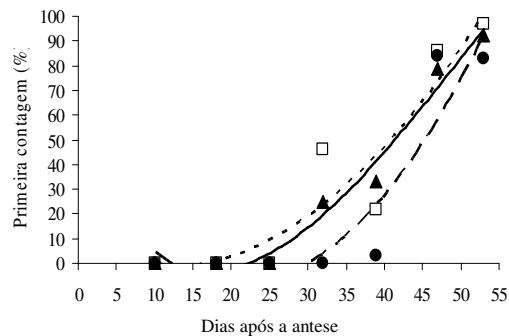
Vale salientar que, possivelmente, as variações na porcentagem de germinação decorrentes dos tratamentos de desinfestação encontradas neste trabalho não foram devido à presença de microrganismos nas sementes e, sim, devido ao efeito fitotóxico. Isso porque, as sementes, nos estádios iniciais do desenvolvimento, ainda não se encontram com suas estruturas externas formadas.





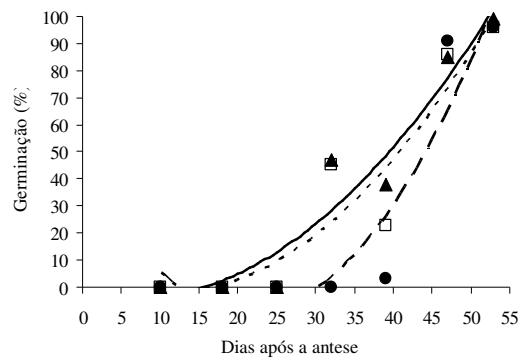
..... □ Testemunha  $y = 1,75493 - 0,928997x + 0,053044x^2$   $R^2 = 85,24 \%$   
 —▲ Fungicida  $y = 31,436553 - 6,014682x + 0,296281x^2 - 0,003072x^3$   $R^2 = 77,06 \%$   
 ---● Hipoclorito de sódio  $y = 40,753003 - 4,711828x + 0,112495x^2$   $R^2 = 87,69\%$

FIGURA 10. Protrusão radicular nos diferentes métodos de desinfestação de sementes de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.



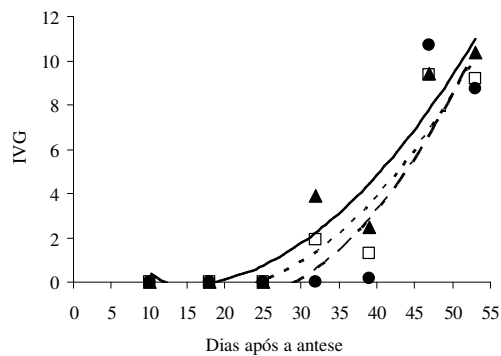
..... □ Testemunha  $y = 18,777432 - 2,588926x + 0,078825x^2$   $R^2 = 94,18 \%$   
 —▲ Fungicida  $y = 21,934247 - 3,740116x + 0,160475x^2 - 0,001221x^3$   $R^2 = 91,87 \%$   
 ---● Hipoclorito de sódio  $y = 36,467959 - 4,176250x + 0,098549x^2$   $R^2 = 86,56\%$

FIGURA 11. Primeira contagem da germinação nos diferentes métodos de desinfestação de sementes de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.



..... □ Testemunha  $y = 6,896460 - 1,428066x + 0,060742x^2$   $R^2 = 88,97 \%$   
 —▲ Fungicida  $y = -2,060985 - 0,64867x + 0,049754x^2$   $R^2 = 93,17 \%$   
 ---● Hipoclorito de sódio  $y = 49,935536 - 4,868520x + 0,113722x^2$   $R^2 = 88,05 \%$

FIGURA 12. Contagem final da germinação com diferentes métodos de desinfestação de sementes de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

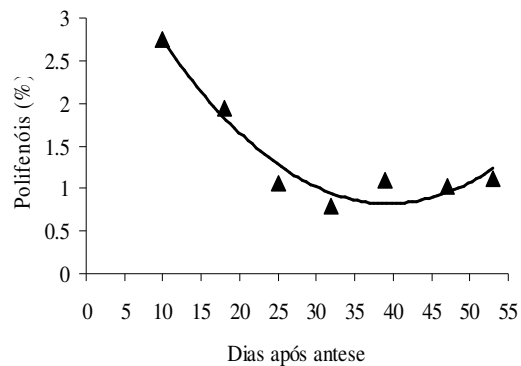


..... □ Testemunha  $y = 2,345907 - 0,03775x + 0,008526x^2$   $R^2 = 88,93 \%$   
 —▲ Fungicida  $y = 1,168130 - 0,19691x + 0,007208x^2$   $R^2 = 91,76 \%$   
 ---● Hipoclorito de sódio  $y = 3,748806 - 0,442259x + 0,0107x^2$   $R^2 = 79,60 \%$

FIGURA 13. Índice de velocidade de germinação nos diferentes métodos de desinfestação de sementes de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Em relação aos teores de polifenóis, esses foram superiores aos 10 DAA e inferiores aos 32 DAA, seguidos de acréscimo aos 39 DAA e permanecendo, a partir deste estágio, quase que constante, ajustando-se ao modelo quadrático (Figura 14; Anexo 11A). Esse resultado coincidiu com o encontrado por Santos et al. (1991), que relatam que a presença de compostos fenólicos decresce com o processo de maturação e durante os primeiros anos de armazenamento.

O teor de polifenóis inferior aos 53 DAA, comparado com os estádios iniciais do desenvolvimento, provavelmente pode ter sido propiciado pela maior atividade da enzima polifenoloxidase e, conseqüentemente, maior oxidação dos polifenóis, que constituem seu principal substrato. Pimenta & Vilela (2001) verificaram, para sementes de cafeeiro, teores de polifenóis superiores na colheita antecipada e diminuição gradativa dos mesmos com o amadurecimento dos frutos.



$$y = e^{1.799565} - e^{0.084157x} + e^{0.000981x^2} \quad R^2 = 90,66 \%$$

FIGURA 14. Teores de polifenóis de sementes de *T. serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

A comparação entre os resultados de germinação *in vitro* e os teores de polifenóis, permite observar a coincidência de menor germinação de embriões com o período de maior teor de polifenóis (Figuras 7 e 14).

Segundo Bewley & Black (1994), a oxidação fenólica é um dos problemas que podem promover alterações na germinação, já que os compostos fenólicos reduzem a disponibilidade de oxigênio no interior das sementes, restringindo o processo germinativo.

Na Figura 15 está apresentado o resultado da análise cromatográfica de açúcares nas sementes de *Tabebuia serratifolia* nos diferentes estádios de desenvolvimento. As variações quantitativas dos açúcares em porcentagem podem ser verificadas na Tabela 3. O maior teor médio encontrado para glicose foi de 8,8%, aos 10 DAA, após o que ocorreram decréscimos no teor de açúcares até 39 DAA, seguidos de posteriores acréscimos. O nível de translocação de sacarose é crescente até 32 DAA; a partir deste estágio, o teor permanece quase que constante, constituindo reserva das sementes.

Para a estaquiose, foram observados valores crescentes até 32 DAA, seguido de um decréscimo aos 39 e 47 DAA e posteriores acréscimos aos 53 DAA. Já a rafinose só foi encontrada aos 25 e 32 DAA, coincidindo, provavelmente, com o início do processo de maturação. A relação glicose:sacarose foi superior aos 18 DAA e inferior aos 32 DAA. Já a relação de sacarose:estaquiose foi superior aos 39 e 47 DAA, seguida de um brusco decréscimo aos 53 DAA. A relação rafinose:sacarose foi superior aos 32 DAA e inferior aos 25 DAA.

Segundo Vertucci & Farrant (1995), durante os últimos estádios de maturação em sementes ortodoxas, os níveis de monossacarídeos são reduzidos, possivelmente pela formação preferencial de oligossacarídeos. A redução de conteúdo de monossacarídeos resulta na redução do substrato respirável e pode impor a quiescência metabólica, limitando a fonte de radicais livres.

TABELA 3. Teores (%) de glicose (G), sacarose (S), estaquiose (E) e rafinose (R) em sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

DAA	Teores e relação de açúcares						
	Glicose	Sacarose	Estaquiose	Rafinose	Rel. G/S	Rel. S/E	Rel. R/S
10	8,828	0	0,139	0	0	0	0
18	7,648	0,274	0,221	0	27,912	1,239	0
25	5,058	1,04	0,540	0,033	4,863	1,926	0,032
32	3,270	2,801	0,454	0,191	1,167	6,169	0,068
39	1,982	0,895	0,001	0	2,215	895	0
47	2,456	0,619	0,001	0	3,968	619	0
53	2,293	0,817	0,228	0	2,801	3,583	0
<b>MÉDIA</b>	4,505	0,921	0,226	0,032			

Com relação à maturação, diversas pesquisas têm sido correlacionadas à aquisição ou perda de tolerância à dessecação com açúcares redutores, a exemplo de sementes de mostarda (Fischer et al., 1988), milho (Chen & Burris, 1990), ervilha, soja e milho (Koster & Leopold, 1988), *Brassica campestris* (Leprince, 1992; Leprince et al., 1992) e café (Guimarães, 1999; Lima, 2005). De acordo com esses dados, os tecidos formados durante a maturação e tolerantes à dessecação são caracterizados por apresentarem alta quantidade de sacarose e oligossacarídeos (estaquiose ou rafinose) (Kuo et al., 1988) e por apresentarem ausência ou, pelo menos, baixa quantidade de monossacarídeos redutores, como galactose, manose, glucose e frutose. Ao contrário, os tecidos intolerantes à dessecação são geralmente dotados de altas concentrações de monossacarídeos e baixas concentrações de dissacarídeos e sacarídeos maiores. Todavia, diversos autores relataram uma alta concentração de sacarose e oligossacarídeos, durante o desenvolvimento de sementes recalcitrantes, sensíveis à dessecação, sugerindo que a capacidade de tolerar desidratação não ocorre somente por causa da presença daqueles sacarídeos (Farrant et al., 1993).

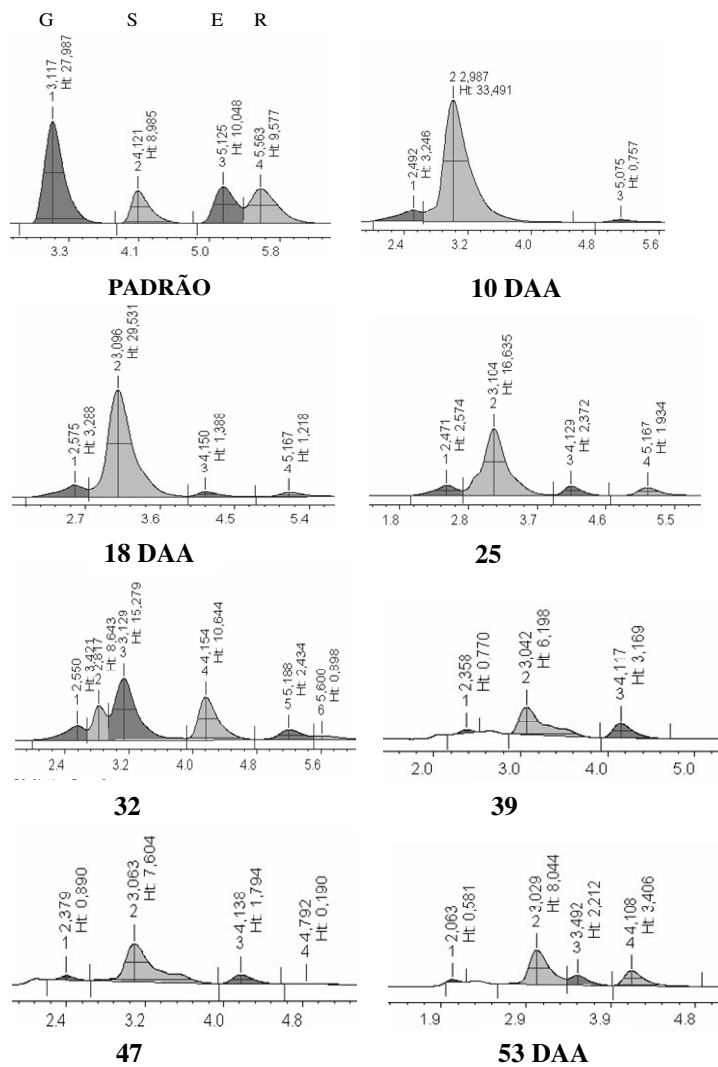


FIGURA 15 – Cromatograma da análise de açúcares (G – glicose; S – sacarose; E – estaquiose; R – rafinose), em sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). UFLA, Lavras, MG, 2005.

Foi observada, ainda, relação glicose:sacarose de 75:26 aos 53 DAA em sementes de *Tabebuia serratifolia*, coincidindo com características de sementes intolerantes à dessecação, em que a relação é de 75:25 (glicose:sacarose), segundo Koster & Leopold (1988).

Pelo perfil eletroforético de proteínas resistentes ao calor (Figura 16), pode ser observada a presença de bandas em sementes de *T. serratifolia* nos diferentes estádios de desenvolvimento. É evidente a ausência de bandas na parte superior do zimograma, quando comparado com o controle (sementes de soja) e a presença de bandas com baixos pesos moleculares, ao redor de 10KDa, apresentando alterações na intensidade com o avanço da maturação. Verifica-se maior intensidade das bandas aos 25, 32 e 53 DAA e menor intensidade aos 39 e 47 DAA.

Vale salientar ainda que a menor intensidade de bandas observadas aos 39 DAA correlacionou-se com a redução dos teores de açúcares redutores. Apesar das proteínas resistentes não apresentarem atividade catalítica, esse resultado coincide com a maior germinabilidade de embriões no cultivo *in vitro*, em que, aos 39 DAA, houve um incremento na qualidade fisiológica das sementes de *T. serratifolia*.

Segundo Walters et al. (1997), as proteínas resistentes ao calor possuem alta solubilidade em água e estabilidade mesmo na ebulição, que é atribuída à sua grande proporção de aminoácidos hidrofílicos, particularmente glutamina e glicina. Além disso, essas proteínas se armazenam nos últimos estádios do desenvolvimento das sementes, coincidindo com a tolerância à dessecação.

Em sementes de *Ranunculus sceleratus*, houveram modificações qualitativas e quantitativas nas LEA proteínas, conforme o estágio de maturação e o grau de duração do estresse hídrico (Wechsberg et al., 1994); em sementes de *Avicennia marina*, intolerantes à dessecação, não se constataram tais modificações (Farrant et al., 1992). Vieira (2005), para sementes de *Cupania*

*vernalis*, encontrou expressão de proteínas termorresistentes (HSPs) em resposta à desidratação.

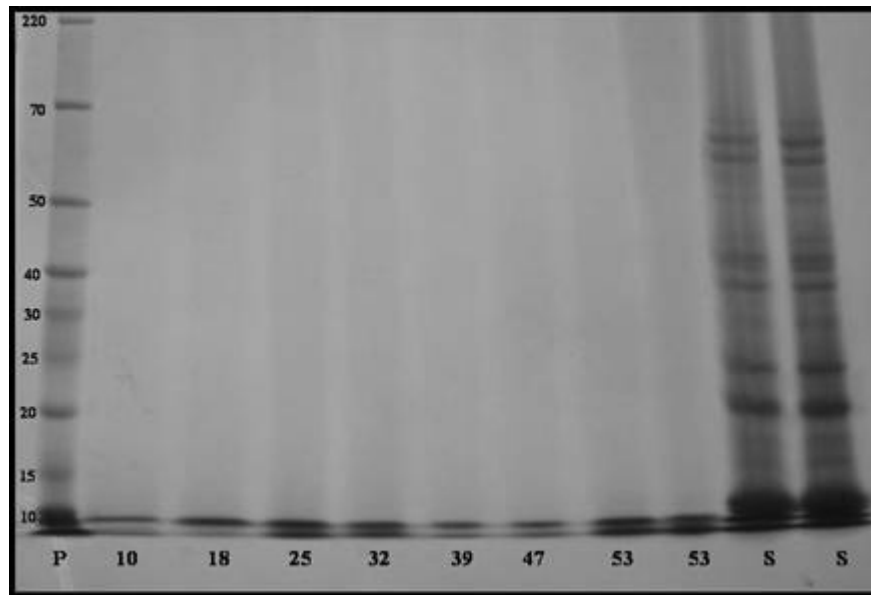


FIGURA 16. Perfil eletroforético de proteínas resistentes ao calor de sementes de *Tabebuia serratifolia* durante o desenvolvimento, em função dos dias após a antese (10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA). Padrão *Protein Ladder* (P) de 220 a 10kDa. Controle soja (S). UFLA, Lavras, MG, 2005.

O estudo dos aspectos morfofisiológicos durante o desenvolvimento das sementes de *Tabebuia serratifolia* permite a observação de resultados coincidentes em relação a vários parâmetros. Até os 25 DAA foi observada a diferenciação de tecidos que antecedeu o processo de maturação das sementes de *Tabebuia serratifolia*. Paralelamente a histodiferenciação houve um aumento



gradual do tamanho do embrião que atingiu 2,5cm, alterações na coloração dos frutos de verde para verde-azulados e evolução do estágio de desenvolvimento dos embriões de globular para torpedo. Alterações bruscas de características, como mudanças significativas na coloração de frutos e sementes e visualização de estruturas internas pela análise radiográfica, ocorreram também aos 39 DAA. Associadas a essas mudanças foram observadas alterações fisiológicas, como maior teor de água, início do acúmulo de matéria seca, incrementos rápidos na germinação e índice de velocidade de germinação, produção de plântulas mais vigorosas na germinação *in vitro*, redução de polifenóis, redução na intensidade de bandas de proteínas resistentes ao calor de baixo peso molecular e redução de açúcares com glicose, sacarose, estaquiose e rafinose.

Todas essas alterações que ocorreram aos 39 DAA, segundo Bewley & Black (1994), são indicativas do início da maturação. Já aos 53 DAA houve acúmulo de açúcares redutores e o aumento na intensidade de bandas de proteínas resistentes ao calor, que segundo o mesmo autor indicam a aquisição da tolerância à dessecação pelas espécies.

Com base nos dados obtidos nas avaliações das sementes foi proposto um modelo de desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia* (Figura 17).

A partir desse modelo, é possível identificar ou alocar eventos morfofisiológicos, durante o desenvolvimento, para que, cada vez mais, se possa entender os processos e mecanismos que regem o desenvolvimento com o intuito de obter sementes de qualidade, visando à conservação da espécie *Tabebuia serratifolia*.

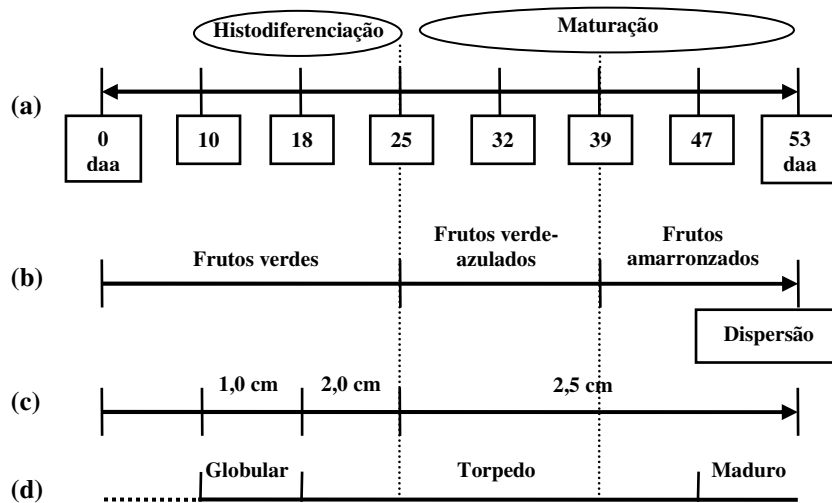


FIGURA 17. Modelo descritivo do desenvolvimento de sementes de *Tabebuia serratifolia*. (a) Identificação das fases de desenvolvimento em função dos dias após a antese 10, 18, 25, 32, 39, 47 e 53 DAA; (b) Desenvolvimento em função da coloração dos frutos; (c) Desenvolvimento em função do tamanho das sementes; (d) Embriogênese dos embriões (formato). UFLA, Lavras, MG, 2005.

## 5 CONCLUSÕES

Em sementes de *Tabebuia serratifolia*, a fase de histodiferenciação se encerra em torno dos 25 DAA, quando então se inicia a maturação das sementes até os 53 DAA.

As alterações iniciais indicativas da maturação de sementes de *Tabebuia serratifolia* ocorrem a partir dos 39 DAA, quando são observadas variações na coloração e no tamanho de frutos e sementes, visualização das estruturas internas pela análise radiográfica, aumento no teor de água, matéria seca e porcentagem de germinação de sementes e embriões, além de redução dos açúcares redutores e das proteínas resistentes ao calor.

A maturidade fisiológica das sementes de *Tabebuia serratifolia* é alcançada aos 53 DAA, coincidindo com o acúmulo máximo de matéria seca, germinação e índice de velocidade de germinação, além de decréscimo no teor de polifenóis, maior intensidade de bandas de proteínas resistentes ao calor e início da abertura dos frutos.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, A. C.; FJERSTAD, M. C.; RINNE, R. W. Characteristics of soybean seed maturation: necessity for slow dehydration. **Crop Science**, Madison, v. 23, n. 2, p. 265-267, Mar./Apr. 1983.

AGUIAR, I. B.; BARCIELA, F. J. P. Maturação de sementes de abreúva. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 8, n. 3, p. 63-71, 1986.

AGUIAR, I. B.; KAGEYAMA, P. Y. - Desenvolvimento floral de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden em Mogi Guaçu-SP. **IPEF**, Piracicaba, v. 37, p. 5-11, dez. 1987.

AGUIAR, I. B.; PERECIN, D., KAGEYAMA, P. Y. Maturação fisiológica de sementes de *Eucalyptos grandis* Hill Ex Maiden. **IPEF**, Piracicaba, v. 38, p. 41-49, abr. 1988.

AJAYI, S. A.; FAKOREDE, M. A. B. Physiological maturity effects on seed quality, seedling vigour and mature plant characteristics of maize in a tropical environment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 2, p. 301-319, 2000.

ALFENAS, A. C.; PETERS, I.; BRUCE, W.; PASSADOS, G. C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: UFV, 1991. 242 p.

ALVES, E. U.; SADER, R.; BRUNO, R. L. A.; ALVES, A. U. Maturação de sementes de sabiá. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 01-08, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS OFFICIAL **Methods of the association of official analitical chemists**. 15. ed. Washington, 1990. 684 p.

BAJAJ, Y. P. S.; URMANOWA, M.; OLSZOWSKA, E. O. Biotechnology of the micropropagatin of medicinal and aromatic plants. **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, Berlin, v. 4, n. 1, p. 60-103, 1998.

BAKER, J.; STEELE, C.; DURS, L. III. Sequence and characterization of 6 Lea proteins and their genes from cotton. **Plant Molecular Biology**, Drechit, v. 11, n. 3, p. 277-291, 1988.

BARBEDO, C. J.; CICERO, S. M. Effects of initial quality, low temperature and ABA on the storage of seeds of *Inga uruguensis*, a tropical species with recalcitrant seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, p. 793-808, 2000.

BARBOSA, J. M.; AGUIAR, I. B. de; SANTOS, S. R. G. dos. Maturação de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2., 1992, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1992a. p. 665-673.

BARBOSA, J. M.; SANTOS, S. R. G.; BARBOSA, L. M.; SILVA, T. S.; VISCIOTTANO, W. A.; ASPERTI, L. M. Desenvolvimento foliar e maturação de sementes de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb. **Ecosistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 17, n. 1, p. 5-11, 1992b.

BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECCI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus sempervirens* L., in Italy. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3. p. 729-738, 2000.

BERJAK, P. The role of microorganisms in deterioration during storage of recalcitrant and intermediate seeds. In: OUÉDRAOGO, A. S.; POULSEN, K.; STUBSGAARD, F. **Intermediate/Recalcitrant Tropical Forest Tree Seeds: Proceedings of a working on improved methods for handling and storage of intermediate/recalcitrant tropical forest tree seeds**. Italia: IPGRI; Denmark, DANIDA, 1995. p. 121-126.

BERJAK, P.; DINI, M.; PAMMENTER, N. W. Possible mechanisms underlying responses in recalcitrant and orthodox seeds: desiccation-associated subcellular changes in propagules of *avicennia marina*. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 12, n. 3, p. 365-384, 1984.

BERNAL-LUGO, I.; LEOLPOLD, A. C. Changes in soluble carbohydrates during seed storage. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, n. 3, p. 1207-1210, Mar. 1992.

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

BLACK, M.; CORBINEAU, F.; GEE, H.; CÔME, D. Water content reffinose, and dehydrins in the induction of desiccation tolerance inimmature wheat embryos. **Plant Physiology**, Rockville, v. 120, n. 2, p. 463-472, June 1999.

BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, n. 3, p. 868-874, July 1991.

BOCHICCHIO, A.; VERNIERI, P.; PULIGA, S.; BALDUCCI, F.; VAZZANA, C. Acquisition of deseccation tolerance by isolated maize embryos exposed to different conditions: the questionable role endogenous abscisic acid. **Physiologia-Plantarum**, Copenhagen, v. 91, n. 4, p. 615-622, Aug. 1994.

BONGA, J. M.; VON ADERKAS, P. **In vitro culture of trees**. Nertherlands: Kluwer Academic Publishers, 1992. 236 p.

BORBA, C. A.; ANDRADE, R. V. de.; AZEVEDO, J. T.; OLIVEIRA, A. C. de. Maturidade fisiológica de sementes do híbrido simples fêmea do milho BR201 (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 63-67, 1994.

BORGES, E. E. L.; BORGES, R. C. G.; TELES, F. F. F. Avaliação da maturação e dormência de sementes de orelha de negro. **Revista brasileira de sementes**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 29- 32, 1980.

BORISJUK, L.; WEBER, H.; PANITZ, R.; MANTEUFFEL, R. E WOBUS, U. Embryogenesis of *Vicia faba* L. : Histodifferentiation in relation to starch and storage protein synthesis. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 147, n. 2, 203-218, Nov. 1995.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, 1976.

BRANDÃO JUNIOR, D. E. **marcadores de Tolerância à dessecação de sementes de cafeeiro**. 2000. 144 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Normas climatológicas 1961-1990**. Brasília, 1992a. 84 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Vegetal. **Regras para Análises de Sementes**: Divisão de sementes e mudas. Brasília: 365p. 1992b.

BUITINK, J.; HOEKSTRA, O.; LEPRINCE, O. Biochemistry and biophysics of tolerance systems. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. **Desiccation and survival on plants**: drying without dying. Wallingford: CABI, 2002. p. 293-318.

BUITINK, J.; LEPRINCE, O.; HEMMINGA, M. A.; HOEKSTRA, F. A. Molecular mobility in the cytoplasm: an approach to describe and predict lifespan of dry germplasm. **Proceedings of national Academy of Sciences USA**, Washington, v. 97, n. 5, p. 2385-2390, Feb. 2000.

BUKATSH, F. Beneskenngem zeir doppeifarbeing astrablau-safranina. **Microkosmos**, Stuttgart, v. 61, p. 225, 1972.

CALDAS, L. S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M. E. Meios nutritivos. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformações genéticas de plantas**. Brasília: EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPQ, 1998. v. 2, p. 679-736.

CAMARGO, M. L. P.; MORI, E. S.; MELLO, E. J.; ODA, S.; LIMA, G. P. Atividade enzimática em plântulas de *Eucalyptus grandis* provenientes de sementes envelhecidas artificialmente e naturalmente. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 10, n. 2, p. 113-122, dez. 2000.

CANNY, M. J.; HUANG, C. X. What is in the intercellular spaces of roots? Evidence from the cryo-analytical-scanning electron microscope. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 87, n. 4, p. 561-568, Apr. 1993.

CARVALHO, J. E. U. de; KATO, A. K.; FIGUEIREDO, F. J. C. **Efeito do estágio de maturação do fruto sobre a qualidade da semente do guaranazeiro**. Belém: EMBRAPA-CPATU, 1983. 11 p. (Circular Técnica, 43).

CARVALHO, L. R. **Classificação fisiológica de sementes de espécies florestais quanto à capacidade de armazenamento**. 2000. 97 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade federal de Lavras, Lavras, MG.

CARVALHO, M. L. M.; AELST, A. C. V.; ECK, J. W. V.; HOEKSTRA, F. A. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 227-236, Sept. 1999.

CARVALHO, M. L. M.; VON PINHO, E. V. R. **Armazenamento de sementes**. Lavras: UFLA, 1997. (Curso de Tutoria a Distância).

CARVALHO, N. M. Maturação fisiológica de sementes de amendoim do campo. **Revista brasileira de sementes**, Brasília, v. 2, n. 2, p. 23-8, 1980.

CARVALHO, N. M.; GOES, M. de; AGUIAR, I. B.; FERNANDES, P. D. Armazenamento de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha*). **Científica**, Botucatu, v. 4, n. 3, p. 315-319, 1976.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CARVALHO, P. C. B.; BORGHETTI, F.; BUCKERIDGE, M. S.; MORHY, L.; FERREIRA-FILHO, E. X. Temperature dependent germination and endo-B-mannase activity in sesame seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 13, n. 2, p. 139-148, maio/ago. 2001.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras. Recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA/CNPQ, 1994. 640 p.

CHEN, Y.; BURRIS, J. S. Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. **Crop Science**, Madison, v. 30, n. 4, p. 971-975, July/Aug. 1990.

CHUNJIE, L.; YANRONG, W.; TINGHENG, Z.; LING, Y. Response of alfalfa seed to stress storage conditions. **Yingyong-Shengtai-Xuebao**, Lanzhou, v. 13, n. 8, p. 957-961, 2002.

CLARKE, R. J.; MACRAE, R. **Coffee**. Essex: Elsevier Science Publishers, 1985. v. 1, 306 p.

COCUCCI, A. E.; MARIATH, J. E. A. Gametogênese, fecundação, seleção do gametófito mais apto, embriogênese e diásporo maduro. In: FERREIRA, A. G.;



BORGHETTI, F. (Org.) **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo, 2000. p. 15-30.

COELHO, M. C. F. **Germinação de sementes e propagação *in vitro* de sucupira branca [*Pterodon pubescens* (Benth.) Benth. ]**. 1999. 119 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CORBINEAU, F.; CÔME, D. Control of seed germination and dormancy by the gaseous environment. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 397-424.

CORDEIRO, A. T. **Embriogênese somática indireta e fusão interespecífica de protoplasto em *Coffea***. 1999. 110 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CORVELLO, W. B. V.; VILLELA, F. A.; NEDEL, J. L.; PESKE, S. T. Maturação fisiológica de sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 23-27, 1999.

COSTA, M. E. **Morfo-anatomia da semente e plântula de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Bignoniaceae)**. Curitiba: UFPR, 1995. 152 p.

CUNHA, M. C.; ARAÚJO, F. C. A. W. Maturação e colheita de sementes de *Tabebuia caraíba* Burr. In: SIMPÓSIO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2., 1989, Atibaia. **Anais...** São Paulo: Secretária do Meio Ambiente, 1989. 198 p. (Série Documento).

DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R.; BOTELHO, S. A. **Propagação de espécies florestais**. Belo Horizonte: CEMIG; Lavras: UFLA, 1995. 41 p.

DE CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J. HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.) **Germinação: do básico ao aplicado**. São Paulo, 2004. p. 51-67.

DE CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Dormancy, germination and the cell cycle in developing and imbibing tomato seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 12, n. 2, p. 105-136, maio/ago. 2000.

DEC CETI, S. F. C. **Propagação in vitro de *Annona glabra* L.** 2000. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DEGAN, P.; AGUIAR, I. B.; SADER, R.; PINTO, L. R. Composição química, sanidade, secagem e germinação de sementes de ipê-branco (*Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand. – Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 41-47, 1997.

DELOUCHE, J. C. Seed maturation. In: **Handbook of seed technology**. Mississippi State University, State College, Mississippi. P. 17-21, 1971.

EGLI, D. B. **Seed biology and the yield of grain crops**. New York: CABI International, 1998. 178 p.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. The development of desiccation-tolerance and maximum seed quality during seed maturation in six grain legumes. **Annals of Botany**, New York, v. 59, n. 1, p. 23-29, Jan. 1987.

ESTANISLAU, W. T. **Modelo funcional de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2002. 125 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FAGIOLI, M.; VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; CASAGRANDE, J. R. R. Efeito de genótipo e dos estádios de maturação na qualidade de sementes de milho. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 9, n. 1/2, p. 32, jul./ago. 1999.

FARIA, R. V. A. M. **Maturação de sementes de milho: aspectos físicos, bioquímicos e fisiológicos**. 2003. 129 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Development of the recalcitrant (homoiohydrous) seeds of *Avicennia marina*: Anatomical, ultrastructural and biochemical events associated with development from histodifferentiation to maturation. **Annals of Botany**, London, v. 70, n. 1, p. 75-86, July 1992.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Seed development in relation to desiccation tolerance: a comparison between desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* and desiccation-tolerant types. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 1, p. 1-13, Mar. 1993.

FERREIRA, F. A. **Patologia florestal: principais doenças florestais no Brasil.** Viçosa: Sociedade de Investigações Florestais, 1989. 570 p.

FIGLIOLIA, M. B. Conservação de sementes de essências florestais. **Boletim Técnico do Instituto Florestal de São Paulo**, São Paulo, v. 42, p. 1-18, 1988.

FIGLIOLIA, M. B.; KAGEYAMA, P. Y. Maturação de sementes de *Inga uruguensis* Hook et Arn em floresta ripária do rio Moji Guaçu, Município de Moji Guaçu, SP. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 6, p. 13-52, dez. 1994. Único.

FIGLIOLIA, M. B.; SILVA, A.; JARDIM, D. C. P.; IWANE, M. S. S. Viabilidade de sementes liofilizadas de essências florestais nativas. **Silvicultura em São Paulo**, São Paulo, v. 20/22, p. 47-55, jan./dez. 1988.

FIRMINO, J. L.; SANTOS, D. S. B.; SANTOS FILHO, B. G. Características físicas e fisiológicas de sementes de cerejeira (*Torresia acreana* Ducke) quando as sementes foram coletadas do chão ou do interior dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 18, n. 1, p. 28-32, 1996.

FISCHER, W.; BERGFELD, R.; PLACHY, C.; SCHAFER, R.; SCHPFER, P. Accumulation of storage materials, precocious germination and development of desiccation tolerance during seed maturation in mustard (*Sinapis alba* L.). **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 101, n. 4, p. 344-354, Nov. 1988.

FRANZEN, J.; HAAS, M. M. Vitamin E content during development of some seedlings. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, n. 9, p. 2911-2913, Sept. 1991.

FREITAS, S. C.; CANDIDO, J. F.; CONDE, A. R.; HARA, T. Determinação de equilíbrio higroscópico e viabilidade de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols) armazenadas em diferentes umidades relativas. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 3, n. 2, p. 135-144. jul./dez. 1979.

GALAU, G. A.; HUGHES, D. W.; DURE, L. III Abscisic acid induction of cloned late embryogenesis-abundant (Lea) mRNAs. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v. 7, n. 3, p. 155-170, 1986.

GEMAQUE, R. C. R. **Maturação, tolerância à dessecação e alterações na qualidade fisiológica em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.) envelhecidas artificialmente.** 1999. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GEMAQUE, R. C. R.; DAVIDE, A. C.; FARIA, J. M. R. Indicadores de maturidade fisiológica de sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Marts.) Standl.). **CERNE**, Lavras, v. 8, n. 2, p. 087-094, 2002.

GENTRY, A. H. The cultivated species of *Tabebuia* with notes on other cultivated Bignoniaceae. In: FLOWERING TREE CONFERENCE, 3., 1982.

**Proceedings...** [S. 1.: s. n. ], 1982. p. 52-79.

GOLDSTEIN, J. L.; WAIL, T. Changes in tannin in ripening fruits.

**Phytochemistry**, Oxford, v. 2, n. 4, p. 371-382, 1963.

GÓRECKI, R. J.; PIOTROWICZ-CIESLAK, A.; OBENDORF, R. L. Soluble sugars and flatulence-producing oligosaccharides in maturing yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) seeds. **Seed Science Research**, Wallington, v. 7, n. 2, 185-193, June 1997.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CBAB, 1998. v. 1, p. 183-260.

GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, M. G. G. C.; FRAGA, A. C.; VON PINHO, E. V. R.; FERRAZ, V. P. Tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 128-139, jan./fev. 2002.

GUIMARÃES, R. M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 129 p.

GURUSINGHE, S.; BRADFORD, K. J. Galactosyl-sucrose oligosaccharides and potencial longevity of primed seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 2, p. 121-133, June 2001.

HALLIWELL, B. Oxidative damage, lipid preoxidation and antioxidant protection in chloroplasts. **Chemistry and Physics of Lipids**, Limerick, v. 44, n. 2/4, p. 327-340, July/Sept. 1987.

HAN, Y. J.; BOWERS, S. V.; DODD, R. B. Nondestructive detection of split-pit peaches. **Transactions of ASAE**, St. Joseph, v. 35, n. 6, p. 2063-2067, Nov./Dec. 1992.

HISIEH, M. H.; CHEN, J. T.; JINN, T. L.; CHEN, Y. M.; LIN, C. Y. A class of soybean low molecular weight heat shock proteins, immunological study and quantification. **Plant Physiology**, Rockville, v. 99, n. 4, p. 1279-1284, Aug. 1992.

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

HONG, T. D.; GEBEDO, A.; ELLIS, R. H. Accumulation of sugars during the onset and development of desiccation tolerance in immature seeds of Norway maple (*Acer platanoides* L.) stored moist. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 10, n. 2, p. 147-152, June 2000.

HUANG, C. X.; CANNY, M. J.; OATES, K.; McCULLY, M. E. Planning frozen hydrated plant specimens for SEM observation and EDX microanalysis. **Microscopy Research and Technique**, New York, v. 28, n. 1, p. 67-74, May 1994.

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

JOHRI, B. M. (Ed.) **Embryology of angiosperms**. Berlin: Springer Verlag, 1984.

KAGEYAMA, P. Y.; SANCHEZ, S. P. A.; FERRAZ, E. M.; SOUZA, L. M. C. Armazenamento de sementes de três espécies nativas (*Tabebuia heptaphylla*, *Erythrina verna* e *Chorisia speciosa*). **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 4, pt. 2, p. 435-439, maio 1992.

KANO, N. K.; MARQUÉZ, F. C. M.; KAGEYAMA, P. Y. Armazenamento de sementes de ipê-dourado (*Tabebuia* sp). **IPEF**, Piracicaba, n. 17, p. 13-23, dez. 1978.

KERMODE, A. R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 2, p. 75-95, June 1997.

KERMODE, A. R. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interactions between the embryo and the seed environment. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination** (Ed.). New York: Marcel Dekker, 1995. p. 273-332.

KERMODE, A. R.; BEWLEY, J. D. The role of maturation drying in the transition from seed development to germination. II. Acquisition of desiccation-tolerance and germinability during development of *Ricinus communis* L. seeds. **Journal of Experimental Botany**, Cambridge, v. 36, n. 173, p. 1906-1915, 1985.

KNITTLE, K. H.; BURRIS, J. S. Effect of kernel maturation on subsequent seedling vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 16, n. 6, p. 851-854, Nov./Dec. 1976.

KOSTER, K. L.; LEOPOLD, A. C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, n. 4, p. 829-832, Dec. 1988.

KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997. 198 p.

KUO, T. M.; VANMIDDLESWORTH, J. F.; WOLF, W. J. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 36, n. 1, p. 32-36, Jan./Feb. 1988.

LEOPOLD, A. C. Coping with desiccation. In: ALSCHER, R. G.; CUMMING, J. R. (Ed.). **Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms**. New York: Wiley-Liss, 1990. p. 57-86.

LEOPOLD, A. C.; SUN, W. Q.; BERNAL-LUGO, I. The glassy state in seeds: analysis and function. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 4, n. 3, p. 267-274, Sept. 1994.

LEPRINCE, O. **Etude des mécanismes de la résistance à la déshydratation dans les embryos des plantes supérieures**. 1992. Thesis (PhD) - University of Liège, Liège.

LEPRINCE, O.; DELTOUR, R.; THORPE, P. C.; ATHERTON, N. M.; HENDRY, G. A. F. The role of free radicals and radical processing systems in loss of desiccation tolerance in germinating maize (*Zea mays* L.). **New Phytologist**, London, v. 116, n. 4, p. 573-580, Dec. 1990.

LEPRINCE, O.; HENDRY, G. A. F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 3, p. 231-246, Sept. 1993.

LEPRINCE, O.; VAN DER WERF, A.; DELTOUR, R.; LAMBERS, H. Respiratory pathways in germinating maize radicles correlated with desiccation tolerance and soluble sugars. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 84, n. 4, p. 581-588, Apr. 1992.

LIMA, D. M. **Armazenabilidade de sementes de *Coffea arábica* L. de *Coffea canephora* Pierre, submetidas a diferentes métodos de desmucilagem e de secagem.** 2005. 106 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

LIMA, Jr., M. de J. V.; ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; FERRAZ, I. D. K. Drying method and subsequent desiccation tolerance and longevity of immature seeds of cedro (*Cedrela odorata* L. – Meliaceae). **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 26, n. 3, p. 813-822, 1998.

LIN, S. S. Efeito do tamanho e maturidade sobre a viabilidade, germinação e vigor do fruto de palmeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 8, n. 1, p. 37-66, 1986.

LIU, T.; BURG, W. J. van der; AARTSE, J. W.; ZWOL, R. A.; van JALINK, H.; BINO, R. J. X-ray studied in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 171-178, June 1993.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. **Combined Proceedings of International Plant Propagators' Society**, Seattle, v. 30, p. 421-427, 1980.

LOPES, D. F.; MATOS, de M.; PESSANHA, G. G. Maturação fisiológica de *Anadenathera peregrina* (L.) Speg. I. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 1, n. 4, p. 31, Sept. 1991.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Nova Odessa: Editora plantarum, 1992. 368 p.  
MACHADO, C. F. **Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.).** 2002. 51 p. Dissertação (Mestrado

em Ciências Florestais) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

MACHADO, C. F.; CICERO, S. M. Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. – Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 393-397, abr./jun. 2003.

MACIEL, A. L. de R. **Embriogênese somática indireta em *Coffea arabica* L.** 2001. 60 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MAEDA, J. A.; MATTHES, L. A. F. Conservação de sementes de ipê. **Bragantia**, Campinas, v. 43 n. 1, p. 45-50, 1984.

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

MANSFIELD, M. A.; KEY, J. L. Synthesis of the low molecular weight heat shock proteins in plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 84, n. 4, p. 1007-1017, Aug. 1987.

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

MARTINS, S. S.; SILVA, D. D. Maturação e época de colheita de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 96-99, 1997.

MATTOS, P. P.; MEDEIROS, A. C. S. **Uso de raios-x na avaliação de sementes de pata-de-vaca (*Bauhinia forticata*) e erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. Colombo: EMBRAPA, 2000. 3 p. (Pesquisa em Andamento, n. 88).

MELO, N. F. de; OKASAKI, W. Y.; LEITE, C. B., FÁRI, M. Estabelecimento do cultivo *in vitro* da aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 1, p. 102-107, jan./mar. 1999.

MENEZES, M. **Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e de proteínas resistentes ao calor**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.



MURASSHIGE, T.; SKOOG, F. A revised médium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, Mar. 1962.

MYCOCK, D. J.; BERJAK, P. The implication of seed-associated mycoflora during storage. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 747-766.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C.; ZUCARELI, C. Maturação, formas de secagem e qualidade fisiológica de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 45-53, 2005.

NOBRE, S. A. M. **Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de Ipê roxo (*Tabebuia impetiginosa*) e Angico vermelho (*Anadenanthera macrocarpa*) em função de tratamentos diferenciados de frutos e sementes**. 1994. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OBENDORF, R. L. Oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seed desiccation tolerance. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 7, n. 1, p. 63-74, Mar. 1997.

OLIVEIRA, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl. Nich. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A. P. De Candolle Standley) envelhecidas natural e artificialmente**. 2004. 160 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 1, p. 13-37, Mar. 1999.

PASQUAL, M. **Textos acadêmicos: meios de cultura**. Lavras: FAEPE/UFLA, 2001. 127 p.

PASQUAL, M.; RAMOS, J. D.; HOFFMAN, A.; CARVALHO, G. R. Componentes e Propriedades dos meios de cultura. **Meio de Cultura**. Lavras. UFLA/FAEPE, 1998. 127 p.

PEREIRA, A. R. **Embriogênese Somática direta em *Coffea arabica* L. Acaiaí Cerrado**. 2005. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEREIRA, R. C. A. **Microprogação, indução de calos, características anatômicas e monitoramento dos biomarcadores de *Uncaria tomentosa* Willdenow Ex Roemer & Schultes Dc e *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmelin (Unha de Gato)**. UFLA, 2004. 186 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PETERBAUER, T.; RICHTER, A. Biochemistry and physiology of raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, n. 3, p. 185-197, Sept. 2001.

PIERIK, R. L. M. ***In vitro* culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1987. 345 p.

PIMENTA, C. J.; VILELA, E. R. Compostos fenólicos, atividade da polifenoloxidase, qualidade de bebida e porcentagem de queda do café (*Coffea arabica* L.) colhido em diferentes épocas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 2001, Vitória. **Anais...** Brasília: EMBRAPA CAFÉ, 2001. p. 832-841.

PIÑA RODRIGUES, F. C. M. **Modificações nas características dos cones e sementes de *Pinus oocarpa* Schiede durante a maturação fisiológica**. 1984. 142 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

PUNTARULO, S.; GALLEANO, M.; SANCHEZ, R. A.; BOVERIS, A. Superoxide anion and hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes during germination. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1074, n. 2, p. 277-283, July 1991.

RAGAGNIN, L. I. M.; COSTA, E. C.; HOPPE, J. M. Maturidade fisiológica de sementes *Podocarpus lambertii* Klotzsch. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 4, n. 1, p. 23-41, nov. 1994.

REZENDE, J. C. **Desenvolvimento de embriões e plântulas de *Coffea arabica* L. oriunda de embriogênese somática direta**. 2005. 58 p. Dissertação

(Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RIBEIRO, L. S. **Cultura *in vitro* de embriões e segmentos nodais do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2001. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RIZZINI, C. T. **Árvores e madeiras úteis do Brasil**. São Paulo: Edgard Blucher, 1971. 294 p.

ROGERS, W. J.; MICHAUX, S.; BASTIN, M.; BUCHELI, P. Changes to the content of sugars, sugars alcohols, myoinositol, carboxylic acids and inorganic anions in development grains from different varieties of Robusta (*Coffea canephora*) and arabica (*C. arabica*) coffees. **Plant Science**, London, v. 149, n. 2, p. 115-123, Dec. 1999.

SALES, N. L. P.; CASTRO, H. A. Efeito da população fúngica sobre a germinação das sementes e o desenvolvimento inicial de plântulas de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich. e barbartimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Couville). **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, n. 1, p. 83-89, jan./mar. 1994.

SANTOS, D. S. B.; TILLMANN, M. A. A.; PETERS, J. A. Presença de inibidores e efeito de glumas na embebição de sementes de sorgo sacarino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 7. p. 989-993, jul. 1991.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT user guide**. 4. ed. Cary, 1990.

SATO, A. Y.; DIAS, H. C. T.; ANDRADE, L. A.; SOUZA, V. C. Micropropagação de *Celtis* sp: controle da contaminação e oxidação. **CERNE**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 117-123, 2001.

SCHMIDT, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**.

Humlebaek, Denmark: Danida Forest Seed Centre, 2000. 511 p.

SENARATNA, T.; MCKERSIE, B. D. Loss of desiccation tolerance during seed germination: a free radical mechanism of injury. In: LEOPOLD, A. C. (Ed.) **Membranes, metabolism and dry organisms**. Ithaca: Cornell University Press, 1986. p. 85-101.

SHEARER, R. C. **Maturation of western larch cones and seeds**. New York: USAD, 1977. 189 p.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; MIZOGUCHI, T.; URAO, T.; KATAGIRI, T.; NAKASHIMA, K.; ABE, H.; ICHIMURA, K.; LIU, Q.; NANJYO, T.; UNO, Y.; IUCHI, S.; SEKI, M.; ITO.; HIRAYAMA, T.; MIKAMI, K. Molecular responses to water stress in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Research**, Tokyo, v. 111, n. 1102, p. 345-351, June 1998.

SILVA, S. R.; ROSARIO, S. L.; AZZEI, J. L.; D'AVILA, L. A.; SIANI, A. C.; VALENTE, L. M. M. Estudo comparativo da extração e caracterização do perfil em CLAE dso alcalóides de espécies do gênero *Uncaria*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 25, 2002, Poços de Caldas. **Anais...** Poços de Caldas: SBQ, 2002.

SILVEIRA, R. B. A. **Maturação fisiológica de sementes de *Grevillea banksii*** **R. BR.** 1982. 55 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

SOARES, F. P. **Aspectos do cultivo *in vitro* da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes)**. 2005. 120 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOUZA, S. M.; LIMA, P. C. F. Maturação de sementes de angico (*Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brensn). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 2, p. 93-99, 1985.

STEIN, W. I.; SLABAUGH, P. E.; PLUMMER, A. P. Harvesting processing and stroge of frutis and seed. In: United States, department of Agriculture. **Seed of woody plants in United States**, Washington: Forest Service, 1974. p. 98-125.

SUN, W.; MONTAGU, M. V.; VERBRUGGEN, N. Small heat shock protein and stress tolerance in plants. **Biochimica at Biophysica Acta**, Paris, v. 1577, n. 1, p. 1-9, Aug. 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TEKRONY, D. M.; HUNTER, J. L. Effect of seed maturation and genotype on seed vigor in maize. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 857-862, May/June 1995.

THOMAS, E.; DAVEY, M. R. **From single cells to plants**. London: Wykeham Publications, 1975. 171 p.

VANDEUSEN, J. L.; BEAGLE, L. D. **Judging ripeness of seeds in black hills poderosa pine cones**. Colorado: USDA, 1973. p. 4.

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

VIDAL-TESSIER, A. M. Sur de Quiñónez lipophiles du bois de tronc de *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nichols. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, Paris, v. 46, n. 1, p. 55-57, 1988.

VIEIRA, C. V. **Sensibilidade à dessecação, armazenamento, germinação e morfologia de sementes de *Cupania vernalis* Camb.** 2005. 65 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VIERLING, E. The role of heat shock proteins in plants. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 42, p. 579-620, 1991.

VIERLING, E. The small heat shock proteins inplant are members of an ancient family of heat induced proteins. **ACTA Physiologia Plantarum**, Krakou, v. 19, n. 4, p. 539-547, 1997.

VON PINHO, E. V. de R. **Tecnologia e produção de sementes**. Lavras: UFPAEPE, 1997. 75 p. (Curso de Especialização Pós-graduação “Latu Sensu” por Tutoria à Distância).

WALTERS, C.; RIED, J. L.; SIMMONS, M. K. W. Heat-soluble proteins extractes from wheat embryos have tightly bound sugars and unusual hydration properties. **Seed Science Research**. Wallingford, v. 7, n. 2, p. 125-134, June 1997.

WALTERS, E. R.; LEE, G. J.; VIERLING, E. Evolution, structure and function of the small heat shock proteins in plants. **Journal of experimental Botany**, Combridge, v. 47, n. 296, p. 325-338, Mar. 1996.

WANG, W. X.; VINO CUR, B.; ALTMAN, A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, Berlin, v. 218, n. 1, p. 1-14, Nov. 2003.

WECHSBERG, G. E.; PROBERT, R. J.; BRAY, C. M. The relationship between 'dehydrin-like' proteins and seed longevity in *Ranunculus sceleratus* L. **Journal of Experimental Botany**, Cambridge, v. 45, n. 276, p. 1027-1030, July 1994.

WISE, M. J. Leaping to conclusions: a computational reanalysis of late embryogenesis abundant proteins and their possible roles. **BMC Bioinformatics**, London, v. 4, p. 52, Oct. 2003.

YIN, K. B.; PARK, H. S.; LEE, D. K. **Seed viability of some conifers examined by X-ray contrast method and tetrazolium method.** 1984.

## ANEXOS

	<b>Pág.</b>
TABELA 1A. Quadrado médio e nível de significância para análise de variância e regressão a 5% de probabilidade para os parâmetros de grau de umidade (U%) e matéria seca (MS%) das sementes (S) e frutos (F) e teores de polifenóis para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005 .....	85
TABELA 2A. Resumo da análise de variância para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	86
TABELA 3A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese - Testemunha. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	87
TABELA 4A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese desinfestadas com fungicida. UFLA, Lavras, MG,2005.....	88
TABELA 5A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese desinfestadas com hipoclorito. UFLA, Lavras, MG,2005.....	89

TABELA 6A.	Quadro de médias dos resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) nos tratamentos de desinfestação para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , em diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	90
TABELA 7A.	Resumo da análise de variância para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese no cultivo <i>in vitro</i> . UFLA, Lavras, MG, 2005.....	91
TABELA 8A .	Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese no meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	92
TABELA 9A.	Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese no meio de cultura WPM. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	93



TABELA 10A.	Quadro de médias dos resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) nos meios de cultura MS e WPM de <i>T. serratifolia</i> , em diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.....	94
TABELA 11A.	Teores de médios (%) de polifenóis para sementes de <i>T. serratifolia</i> , nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras – MG, 2005.....	95

TABELA 1A. Quadrado médio e nível de significância para análise de variância e regressão a 5% de probabilidade para os parâmetros de grau de umidade (U%) e matéria seca (MS%) das sementes (S) e frutos (F), teores de polifenóis para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM					
		US	MSS	UF	MSF	Polifenóis	
Estádio	3	599,61*	681,59*	7,71 NS	58,83*	227,40*	
Reg. Linear	1	0,03 NS	0,04 NS	0,02 NS	0,06*	0,02*	
Reg. Quadrática	1	0,01 NS	0,00 NS	0,00 NS	0,00*	0,00*	
Reg. Cúbica	1	0,00*	0,00*	0,00*	-	-	
Desvio	3	25,56	1,36	3,60	0,27	7,55	
Erro	6						
CV(%)		112,72	8,66	42,35	12,82	463,41	

\* Significativo a 5% de probabilidade. NS - não significativo

TABELA 2A. Resumo da análise de variância para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.

	FV	GL	QM			
			PC	TG	PR	IVG
Estádio		6	37246,22*	42191,63*	42162,44*	474,22*
Tratamentos		2	2034,67*	1991,90*	2780,48*	12,75*
Estádio*Tratamentos		12	764,22*	1040,57*	21,73,62*	6,43*
Erro		147	64,42	92,22	161,99	1,41
CV(%)			26,03	28,88	35,37	36,94
<b>MÉDIA GERAL</b>			<b>30,83</b>	<b>33,79</b>	<b>35,98</b>	<b>3,22</b>

\* - significativo a 5% de probabilidade. NS - não significativo

TABELA 3A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese - Testemunha. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM			
		PC	TG	PR	IVG
Estádio	6	13823,90*	13993,62*	14413,24*	146,50*
Reg. Linear	1	66997,26*	68080,50*	68664,38*	651,223*
Reg. Quadrática	1	11121,32*	6620,86*	5048,93*	130,45*
Reg. Cúbica	1	6,59 NS	31,19 NS	61,51 NS	0,20 NS
Desvio	3	1606,08	3076,39	4234,87	32,38
Erro	147	64,42	95,22	161,99	1,41
CV(%)		26,03	28,88	35,37	36,94

\* - significativo a 5% de probabilidade. NS - não significativo

TABELA 4A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), prostrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese desinfestadas com fungicida sistêmico (Carbendazim). UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM			
		PC	TG	PR	IVG
Estádio	6	11979,14*	13808,98*	114826,57*	159,43*
Reg. Linear	1	61970,53*	72751,05*	66324,65*	784,52*
Reg. Quadrática	1	3726,80*	4442,09*	89,36 NS	93,22*
Reg. Cúbica	1	337,54*	546,68*	2138,64*	0,81 NS
Desvio	3	1946,66	1704,68	6802,26	26,02
Erro	147	64,42	95,22	161,99	1,41
CV(%)		26,03	28,88	35,37	36,94

\* - significativo a 5% de probabilidade NS - não significativo

TABELA 5A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese desinfestadas com hipoclorito de sódio. UFFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM			
		PC	TG	PR	IVG
Estádio	6	12971,62*	16470,16*	17269,88*	181,15*
Reg. Quadrática	1	17427,65*	23207,26*	22708,97*	206,56*
Reg. Linear	1	49944,63*	63804,38*	68153,35*	658,60*
Reg. Cúbica	1	107,85 NS	318,30 NS	76,31 NS	0,39 NS
Desvio	3	3449,86*	3830,34*	4226,87	73,77
Erro	147	64,42	95,22	161,99	1,41
CV(%)		26,03	28,88	35,37	36,94

\* - significativo a 5% de probabilidade. NS - não significativo

TABELA 6A. Quadro de médias dos resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) nos tratamentos de desinfestação para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese. UFPA, Lavras, MG, 2005.

Estádios	Testes				
	Tratamentos	PC	TG	PR	IVG
10	Água	0 a	0 a	0 a	0 a
	Fungicida	0 a	0 a	0 a	0 a
	Hipoclorito	0 a	0 a	0 a	0 a
18	Água	0 a	0 a	0 a	0 a
	Fungicida	0 a	0 a	0 a	0 a
	Hipoclorito	0 a	0 a	0 a	0 a
25	Água	0 a	0 a	0 a	0 a
	Fungicida	0 a	0 a	0 a	0 a
	Hipoclorito	0 a	0 a	0 a	0 a
32	Água	46 a	45 a	54 b	1,94 b
	Fungicida	25 b	47 a	80 a	3,87 a
	Hipoclorito	0 c	0 b	0 c	0 c
39	Água	22 b	23 b	23 b	1,30 ab
	Fungicida	33 a	38 a	39 a	2,49 a
	Hipoclorito	3 c	3 c	6 c	0,15 b
47	Água	86 a	86 a	87 a	9,35 a
	Fungicida	79 a	85 a	90 a	9,40 a
	Hipoclorito	84 a	91 a	97 a	10,69 a
53	Água	97 a	96 a	98 a	9,21 ab
	Fungicida	92 ab	99 a	88 a	10,37 a
	Hipoclorito	83 b	96 a	96 a	8,73 b

\* As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 7A. Resumo da análise de variância para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese nos meios de cultura MS e WPM. UFLA, Lavras, MG, 2005.

	GL		QM			
	FV	GL	PC	TG	PR	IVG
Estádio	6	6	56086,32*	65125,98*	61992,89*	3,664623*
Tratamentos	1	1	181,76 NS	616,75 NS	493,48 NS	0,024962 NS
Estádio*Tratamentos	6	6	709,90 NS	390,13 NS	225,24 NS	0,099789 NS
Erro	266	266	727,38	523,34	526,71	0,087943
CV(%)			47,98	37,67	35,50	64,75
MÉDIA GERAL			56	61	65	0,46

\* - significativo a 5% de probabilidade NS - não significativo



TABELA 8A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese no meio de cultura MS. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM			
		PC	TG	PR	IVG
Estádio	6	24608,78*	28987,66*	28518,08*	1,767263*
Reg. Linear	1	93715,63*	124402,07*	126514,80*	3,692784*
Reg. Quadrática	1	38516,93*	31767,24*	25506,46*	2,898676*
Reg. Cúbica	1	9570,18*	8605,52*	8595,13*	0,055695 NS
Desvio	3	1822,61	2794,39	3267,72	1,293226
Erro	266	727,38	523,34	526,71	0,087943
CV(%)		47,98	37,67	35,50	64,75

\* - significativo a 5% de probabilidade NS - não significativo

TABELA 9A. Resumo da análise de variância e regressão para os resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), protrusão radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) para as sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese no meio de cultura WPM. UFLA, Lavras, MG, 2005.

FV	GL	QM			
		PC	TG	PR	IVG
Estádio	6	32187,44*	36528,46*	337000,05*	1,997149*
Reg. Linear	1	135747,70*	159045,90*	148933,80*	6,698854*
Reg. Quadrática	1	32107,22*	38402,16*	33192,95*	2,577049*
Reg. Cúbica	1	9592,92*	10059,79*	9056,73*	0,009086 NS
Desvio	3	5321,58	4085,90*	3811,34	0,923991
Erro	266	727,38	523,34	526,71	0,087943
CV(%)		47,98	37,67	35,50	64,75

\* - significativo a 5% de probabilidade NS - não significativo

TABELA 10A. Quadro de médias dos resultados (%) dos testes de primeira contagem da germinação (PC), teste de germinação (TG), prostração radicular (PR) e índice de velocidade de germinação (IVG) nos meios de cultura MS e WPM para embriões de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Estádios	Meio	Testes			
		PC	TG	PR	IVG
10	MS	3 a	3 a	10 a	0,05 a
	WPM	0 a	0 a	7 a	0,01 a
18	MS	12 a	12 a	14 a	0,03 a
	WPM	7 a	7 a	12 a	0,01 a
25	MS	53 a	53 a	57 a	0,82 a
	WPM	45 a	55 a	60 a	0,68 a
32	MS	85 a	85 a	90 a	0,56 a
	WPM	97 a	97 a	98 a	0,71 a
39	MS	88 a	100 a	100 a	0,63 a
	WPM	83 a	98 a	98 a	0,63 a
47	MS	82 a	82 a	88 a	0,50 a
	WPM	89 a	92 a	97 a	0,56 a
53	MS	65 a	80 a	87 a	0,53 a
	WPM	77 a	85 a	88 a	0,68 a

\* As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 11A. Teores de médios (%) de polifenóis para sementes de *T. serratifolia*, nos diferentes dias após a antese. UFLA, Lavras, MG, 2005.

Dias após a antese	Teor de polifenóis (%)
10	2,75
18	1,93
25	1,06
32	0,79
39	1,10
47	1,03
53	1,11