



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE  
SANTANA**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS  
GENÉTICOS VEGETAIS**



**IVANA OLIVEIRA VIRGENS**

**AVALIAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DA GERMINAÇÃO DE  
SEMENTES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All.  
(ANACARDIACEAE) SOB DIFERENTES CONDIÇÕES ABIÓTICAS**

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2009

**IVANA OLIVEIRA VIRGENS**

**AVALIAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DA  
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Myracrodruon  
urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) SOB  
DIFERENTES CONDIÇÕES ABIÓTICAS**

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2009

**IVANA OLIVEIRA VIRGENS**

**AVALIAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DA  
GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Myracrodruon*  
*urundeuva* Fr. Ail. (ANACARDIACEAE) SOB  
DIFERENTES CONDIÇÕES ABIÓTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: PROF<sup>a</sup> Dra. Claudinéia Regina Pelacani Cruz  
Co-orientador: PROF<sup>a</sup> Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez

FEIRA DE SANTANA - BAHIA

2009

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

V81a Virgens, Ivana Oliveira  
Avaliação fisiológica e bioquímica da germinação de sementes de *Myracrodruon Urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) sob diferentes condições abióticas / Ivana Oliveira Virgens. – Feira de Santana – Bahia, 2009.  
129 f. : il.

Orientadora: Claudinéia Regina Pelacani Cruz  
Co-orientadora: Luzimar Gonzaga Fernandez

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)–  
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais,  
Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira  
de Santana, 2009.

1. Aroeira-do-sertão. 2. *Screening* térmico e hídrico. 3. Metabolismo germinativo. I. Cruz, Claudinéia Regina Pelacani. II. Fernandez, Luzimar Gonzaga. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Departamento de Ciências Biológicas. V. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. VI. Título.

CDU: 582.765

*Á Deus e a Meishu-Sama pela força e proteção espiritual e aos meus pais pela credibilidade depositada e permanente presença durante a realização do mestrado.*

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

## AGRADECIMENTOS

À Deus e a *Meishu-Sama* pela força e proteção espiritual.

À toda minha família, em especial minha mãe e meu pai, pelo apoio, incentivo, dedicação, credibilidade, amor incondicional e respeito sempre. Sem o amor de vocês seria completamente impossível chegar até aqui.

À minha irmã Alessandra que além de todo amor e credibilidade ainda, na minha reta final, me presenteou com a chegada da minha linda sobrinha Manoella que me deu fôlego para finalizar a escrita desta dissertação. Sou a tia dinda mais feliz do mundo.

Aos meus queridos “tios” Raimundo e Leide pela aconchegante hospedagem nos momentos que estive em Feira de Santana, recebendo-me sempre em sua casa como uma filha e aos “primos” Cristina, Naisa, Paulo e André. Serei sempre grata a vocês.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Claudinéia Regina Pelacani pela sua valiosa orientação, confiança, incentivo, amizade, calma e por oportunizar meu amadurecimento e aprendizado, além da convivência muito rica e harmoniosa. Você contribuiu muito. Obrigada.

À minha co-orientadora, amiga e mãe científica Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Luzimar Gonzaga Fernandez pela inestimável dedicação, oportunidade, credibilidade e por confiar que eu seria capaz de superar minhas limitações e atender as suas expectativas. Sua contribuição foi muito importante. Te adoro sempre.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Renato Delmondez de Castro pela oportunidade de começar algo novo acreditando que eu seria capaz de prosperar. Pela amizade, ajuda e incentivo na realização dos estudos e por proporcionar meu encontro com pessoas maravilhosas.

À minha madrinha científica e amiga Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Bruno Loureiro pela paciência de me ajudar a germinar, pois sua participação na minha vida

profissional determinou e me preparou para estar aqui hoje. Obrigada pelas orientações (pessoais e profissionais) e pela maravilhosa convivência.

À Universidade Católica do Salvador por permitir a realização das análises bioquímicas no Laboratório de Estudos e Meio Ambiente (LEMA) oferecendo-me suporte técnico para a realização das atividades experimentais, assim como aos estagiários que passaram pelo LEMA e que fizeram parte do meu convívio durante este período e em especial, a Wilson (Tio Wil) e Vanice, técnicos do LEMA, pelos socorros imediatos, paciência e amizade.

Aos estagiários, hoje grandes amigos, Paulo e Clarissa pelo acompanhamento constante do trabalho me auxiliando em muitos momentos no laboratório, sempre disposto a ajudar e a aprender. A participação de vocês foi muito importante para mim. Obrigada por tudo.

À minha amiga-irmã Patrícia Campos Santos pela grande, sincera e eterna amizade e por sempre me incentivar e estar ao meu lado mesmo que virtualmente e em pensamento. Um dia estaremos juntas novamente.

Às amigas Nayra, Vânia, Cintia, Renata, Cimille a amizade sincera, companhia e ajuda durante algumas fases do trabalho e aos amigos Rafael, por tudo que me ensinou e por termos aprendido juntos, e Paulo Tadeu, eterno companheiro para todas as horas.

A todos os colegas do curso, professores e funcionários do Horto Florestal que de alguma forma contribuíram positivamente para esta conquista e em especial ao secretário do PPG-RGV. Alberto, por está sempre disponível e empenhado em buscar resolver nossas solicitações.

A Embrapa Semi-Árido especialmente na pessoa da Dr<sup>a</sup>. Bárbara Aragão pelo fornecimento do material vegetal imprescindível para a execução dos trabalhos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pela bolsa concedida; ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo auxílio financeiro através do projeto: “Projeto Bioprospecção de Plantas Nativas do Semi-Árido (CNPq - 554839/2006-7). Programa Rede Nordeste de



Biotecnologia – RENORBIO e a todas as pessoas e instituições que direta ou indiretamente também me auxiliaram, apoiaram e contribuíram para a realização deste trabalho.

A todos os que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho. Meu muito Obrigada!

*“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores; se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se não houver folhas, valeu a intenção da semente...”*

*(Henfil)*

## LISTA DE FIGURAS

## INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1.** Espécie de estudo. 4
- CAPÍTULO I: Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a fatores abióticos**
- Figura 1.** Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes e os diferentes eventos do processo germinativo. 22
- Figura 2:** Material vegetal utilizado para análises fisiológicas. 27
- Figura 3:** Parâmetros avaliados para os ensaios de germinação com sementes de *Myracrodruon urundeuva*. 31
- Figura 4.** Organograma do desenho experimental dos ensaios de germinação com combinação dos fatores abióticos em sementes de *Myracrodruon urundeuva*. 32
- Figura 5.** Gráfico representativo da germinabilidade (%) das sementes nas diferentes temperaturas testadas. 34
- Figura 6:** Polígonos de freqüências da germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, em função do tempo de incubação em diferentes temperaturas. Dados não-acumulados. 37
- Figura 7.** Médias de germinação (emissão de radícula) em sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes potenciais osmóticos. 38
- Figura 8.** Polígono de freqüência do número de plântulas normais em função do tempo de incubação nos diferentes potenciais osmóticos de *Myracrodruon urundeuva* (dados referentes ao ensaio1). Dados não-acumulados. 44
- Figura 9.** Médias de germinação (emissão de radícula) de sementes de *Myracrodruon urundeuva* recuperadas em água após restrição hídrica (dados referentes ao ensaio 2). 45
- Figura 10.** Germinação de sementes (emissão de radícula) de *Myracrodruon urundeuva* submetidas à combinação de fatores abióticos. 48

## **CAPÍTULO 2: Metabolismo germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a estresses abióticos**

- Figura 1.** Estrutura química da sacarose e reações de degradação e síntese por ação das enzimas invertase ou sacarase, sacarose sintase (SuS) e sacarose fosfato sintase (SPS) 74
- Figura 2.** Estrutura química de oligossacarídeos da série rafínosica. 74
- Figura 3.** Grânulos de amido e estrutura química do amido. Composto por unidades de glicose, organizadas em dois homopolissacarídeos, a amilose e a amilopectina. 75
- Figura 4.** Celulose. 76
- Figura 5.** Estruturas químicas dos principais polissacarídeos de reserva de parede celular que ocorrem em sementes e os monossacarídeos que os constituem. 77
- Figura 6:** Estrutura de um aminoácido típico, da uma ligação peptídica e de um tripeptídeo. 79
- Figura 7:** Estrutura de uma proteína. 80
- Figura 8:** Extração e armazenamento do material biológico para análises bioquímicas. 86
- Figura 9.** Estádios de coleta do material para as análises bioquímicas. 87
- Figura 10:** Soluções utilizadas no preparo da curva de calibração para análise de Açúcares Solúveis Totais. 90
- Figura 11:** Soluções usadas para o preparo da curva de calibração para análise de Açúcares Redutores (AR). 91
- Figura 12:** Soluções usadas para o preparo da curva de calibração para análise de proteínas totais (PT). 93
- Figura 13:** Soluções usadas para o preparo da curva de calibração para análise de Aminoácidos (AA). 94
- Figura 14.** Porcentagem de água dos cotilédones extraídos das sementes de *Myracrodruon urundeuva*. 97
- Figura 15.** Teores de Proteínas e Aminoácidos ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) em cotilédones de sementes de *M. urundeuva* nos diferentes estádios de desenvolvimento. 101

**Figura 16.** Teores Carboidratos ( $\text{mg.g}^{-1}$ ) em cotilédones de sementes de *M. urundeuva* nos diferentes estádios de desenvolvimento.

## LISTA DE TABELAS

**CAPÍTULO I: Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a fatores abióticos**

<b>Tabela 1:</b> Medidas de germinação de sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetida a diferentes temperaturas.	34
<b>Tabela 2.</b> Medidas de germinação de sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas a diferentes potenciais osmóticos durante a germinação. Ensaio de 14 dias.	41
<b>Tabela 3.</b> Medidas de germinação de sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetida a diferentes potenciais osmóticos durante a germinação. Ensaio de 9 dias.	41
<b>Tabela 4.</b> Dados médios de porcentagem de sementes com emissão de radícula, germinação de plântulas normais, anormais deformadas e deterioradas, de sementes não germinadas e mortas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas a diferentes potenciais osmóticos (dados referentes ao ensaio1).	43
<b>Tabela 5.</b> Medidas de germinação de sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> germinadas em água após condicionamento osmótico (dados referentes ao ensaio 2).	46
<b>Tabela 6.</b> Dados médios de porcentagem de sementes com emissão de radícula, germinação de plântulas normais, anormais e de sementes não germinadas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas à combinação de fatores abióticos teste de germinação. Temperatura de 33°C (T50) com os potenciais osmóticos 0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa (Ensaio 1).	49
<b>Tabela 7.</b> Dados médios de porcentagem de sementes com emissão de radícula, germinação de plântulas normais, anormais e de sementes não germinadas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> submetidas à combinação de fatores abióticos durante teste de germinação (Ensaio 2).	49

**CAPÍTULO 2: Metabolismo germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a fatores abióticos**

- Tabela 1.** Coleta do material vegetal (cotilédones) nos estádios de desenvolvimento em cada tratamento. 88
- Tabela 2:** Teores médios de proteínas e aminoácidos (mg/g massa seca) durante estádios do desenvolvimento germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a estresses abióticos. 109
- Tabela 3:** Teores médios de carboidratos (mg/g massa seca) – Amido, Açúcares Solúveis Totais (AST), Açúcares Redutores (AR), Açúcares Não Redutores (ANR) durante os estádios do desenvolvimento germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a estresses abióticos. 109

## SUMÁRIO

	Pág.
AGRADECIMENTOS .....	v
Lista de Figuras .....	ix
Lista de Tabelas .....	xii
<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>8</b>
 <b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDAS A FATORES ABIÓTICOS</b>	
<b>RESUMO .....</b>	<b>12</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>13</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
2.1 Germinação .....	19
2.2 Fatores Abióticos na Germinação .....	20
2.3 Estresse em plantas .....	23
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>26</b>
3.1. Armazenamento e caracterização do lote de sementes .....	27
3.2. Medidas utilizadas para análise da germinação .....	27
3.3. Comportamento fisiológico de sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. submetidas a diferentes fatores abióticos .....	29
3.3.1 Experimento 1: <i>Screening</i> Térmico .....	29
3.3.2. Experimento 2: <i>Screening</i> hídrico .....	30
3.3.3. Experimento 3: Combinação dos Fatores Abióticos (Térmico x Hídrico) .....	31
3.6. Delineamento estatístico .....	32
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>33</b>
4.1. Caracterização do Lote de Sementes .....	33
4.2. Comportamento Fisiológico de Sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. submetidas a diferentes fatores abióticos .....	33



4.2.1. <i>Screening</i> Térmico .....	3
4.2.2. <i>Screening</i> Estresse Hídrico .....	37
4.2.3. Combinação dos Fatores Abióticos (Térmico x Hídrico) .....	48
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	51
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	52

## CAPÍTULO 2

### **METABOLISMO GERMINATIVO DE SEMENTES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. Ail. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDAS A FATORES ABIÓTICOS**

<b>RESUMO</b> .....	65
<b>ABSTRACT</b> .....	66
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	67
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	71
2.1 Carboidratos .....	72
2.2 Aminoácidos e Proteínas .....	78
2.2.1 Aminoácidos .....	78
2.2.2 Proteínas .....	80
2.3 Mobilização das reservas em sementes .....	82
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	85
3.1 Material Vegetal .....	85
3.2 Extrações e Preparo da Amostra .....	85
3.3 Tratamentos e Estádios de Desenvolvimento para Análise .....	86
3.4 Quantificação de metabólitos primários durante a germinação .....	89
3.4.1 Carboidratos .....	89
3.4.1.1 Açúcares solúveis totais (AST) .....	89
3.4.1.2 Açúcares redutores (AR) .....	90
3.4.1.3 Açúcares não redutores (ANR) .....	91
3.4.1.4 Amido .....	92
3.4.2 Proteínas Totais (PT) .....	92
3.4.3 Aminoácidos (AA) .....	93
3.5 Delineamento Estatístico .....	95
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	96
4.1 Teor de água .....	96

4.2 Análise fisiológica .....	98
4.3 Mobilizações de Reservas Durante a Germinação de Sementes de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All submetidas a fatores abióticos .....	99
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>113</b>
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>115</b>
<b>RESUMO GERAL</b>	<b>126</b>
<b>GENERAL ABSTRACT</b>	<b>128</b>

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.

## INTRODUÇÃO GERAL

A Caatinga corresponde aproximadamente a 11% do território nacional (RIZINNI, 2003). A região Nordeste brasileira tem uma área de 1.542.246 km<sup>2</sup> (IBGE, 1998) e nesta está a Caatinga que abrange uma área aproximada de 800.000 km<sup>2</sup> da região, cobrindo a maior parte dos estados do Bahia, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas e Sergipe, além de parte Minas Gerais (polígono das secas). Sendo limitada a leste e a oeste pelas florestas Atlântica e Amazônica, respectivamente, e ao sul pelo Cerrado. Trata-se do único ecossistema exclusivamente brasileiro, composto por um mosaico de florestas secas e vegetação arbustiva (savana-estépica), com enclaves de florestas úmidas montanas e de cerrado (TABARELLI & SILVA, 2003; LEAL et al, 2003).

Dos biomas brasileiros, a Caatinga é, provavelmente, o menos conhecido em termos botânicos e ecológicos. Esta situação é decorrente da crença generalizada do bioma ser de origem secundária e não apresentar espécies endêmicas. Apesar do elevado nível de antropização (SANTOS & TABARELLI, 2002), há um número expressivo de táxons raros e/ou endêmicos (GIULIETTI et al., 2004) e uma grande variedade de tipos vegetacionais (RODAL & SAMPAIO, 2002).

O clima é dominado por uma longa estação seca, com chuvas caracterizadas como torrenciais e irregulares, havendo períodos de extrema deficiência hídrica, denominados de seca, que têm ocorrido com frequência irregular a cada 10 a 20 anos (RODAL et al., 1992). A precipitação média anual varia entre 240 e 1.500 mm, no entanto 50% da região recebe menos de 750 mm e algumas áreas centrais menos de 500 mm (PRADO, 2003). O sistema de chuvas extremamente irregular de ano para ano, resulta em secas severas e periódicas. Essas secas tornam a vida na Caatinga difícil para o sertanejo e determinam mudanças adaptativas na biota da região (LEAL et al., 2003). A vegetação da caatinga sofre influência preponderante do clima, pois se encontra sempre subordinada à elevada deficiência hídrica, que é originada pela baixa pluviosidade e grande evapotranspiração, associadas à má distribuição das

chuvas ao longo do ano e à baixa capacidade de retenção de água dos solos (FREIRE et al., 2003).

O estudo e a conservação da diversidade biológica da Caatinga constituem um dos maiores desafios da ciência brasileira. Pode-se destacar entre as razões para isso: ser a única grande região natural brasileira cujos limites estão inteiramente restritos ao território nacional; ser a região natural brasileira menos protegida, pois as unidades de conservação cobrem menos de 2% do seu território; e por continuar passando por um extenso processo de alteração e deterioração ambiental provocado pelo uso insustentável dos seus recursos naturais. Este último está levando à rápida perda de espécies únicas, à eliminação de processos ecológicos chaves e à formação de extensos núcleos de desertificação em vários setores da região (LEAL et al., 2003).

O bioma Caatinga além de ser apontado como um dos mais críticos em termos de conservação da sua biodiversidade é também considerado o mais insuficientemente conhecido em termos da distribuição da sua cobertura vegetal atual, entretanto o que dificulta o planejamento ambiental, sobretudo para o controle e o manejo da sua biodiversidade, pois informações desse tipo são consideradas imprescindíveis para tais ações (CARVALHO & JUNIOR et al., 2005).

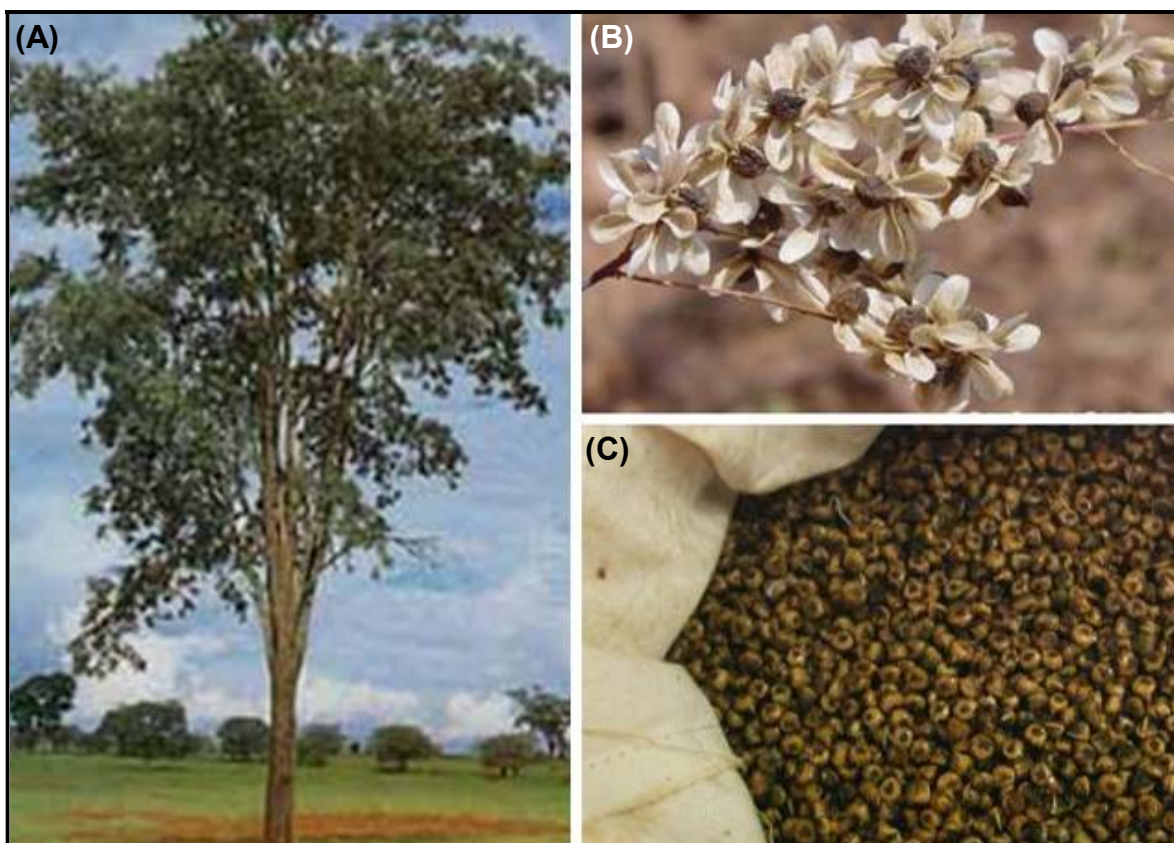
O Brasil, em cumprimento às suas obrigações junto à Convenção sobre a Biodiversidade, firmada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento – CNUMAD (Rio 92), já definiu as ações e as áreas prioritárias para todos os seus grandes ecossistemas. Para a identificação dessas ações e áreas prioritárias para a Caatinga foi desenvolvido o subprojeto “Avaliação e Ações Prioritárias para Conservação da Biodiversidade do Bioma Caatinga”. Informações detalhadas estão disponíveis através da *World Wide Web* ([WWW.biodiversitas.org/caatinga](http://WWW.biodiversitas.org/caatinga)), e no sumário executivo do subprojeto – MMA (2002) (TABARELLI & SILVA, 2003). Nas três áreas prioritárias para conservação do bioma Caatinga (Serra das Almas, CE; Curimataú, PB e Betânia, PE), para estudo da vegetação e flora fanerogâmica, foram realizados oito levantamentos florísticos e fitossociológicos em três fitofisionomias. Foram registrados 475 *taxons*, 322 identificados ao nível de espécie, 127 ao de gênero e 26 ao de

família. Leguminosae (*lato sensu*), Euphorbiaceae, Cactaceae e Rubiaceae foram às famílias com maior riqueza de espécies. Das espécies com distribuição apenas no território brasileiro, 53 são endêmicas do bioma Caatinga. Das 322 espécies registradas, quatro estão nas listas do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) e/ou IUCN (International Union for Conservation of Nature) de espécies ameaçadas. São elas: *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae), *Mimosa caesalpinifolia* Benth, *Mimosa verrucosa* Benth. (Leguminosae) e *Campomanesia aromatica* Griseb. (Myrtaceae) (RODAL et al., 2005). Dentre estas, a *Myracrodruon urundeuva* Allemão, é tema do presente estudo.

*Myracrodruon urundeuva* Fr. All. syn. *Astronium urundeuva* (Fr. All) Engl. (Figura 1) é uma espécie arbórea conhecida popularmente como aroeira-do-cerrado, aroeira-do-sertão, aroeira-preta, arendiúva, arindeúva, aroeira-da-serra, aroeira-verdadeira, aroeira-do-campo, caracuramira, urindeúva, urundeúva (LORENZI & MATOS, 2008).

Apresenta distribuição natural limitada à América do Sul, ocorrendo naturalmente desde o Ceará, e também na região chaqueana da Bolívia, Paraguai e Argentina sendo encontrada em formações vegetais de caatinga, cerrado e floresta pluvial (ANDRADE et al., 2000). É uma espécie nativa do Brasil ocorrendo desde o Ceará até o Paraná e Mato Grosso do Sul, englobando as regiões Nordeste, Sudeste e Centro-oeste (SANTIN & LEITÃO FILHO, 1991; LORENZI, 1992, 2008; CARVALHO 1994, GURGEL-GARRIDO et al., 1997, CARMELLO-GUERREIRO & PAOLI 1999).

Sendo assim, constata-se que é uma espécie distribuída numa ampla faixa de variação climática, ocorrendo em matas subcaducifólias e caducifólias, freqüentemente em agrupamentos densos, em geral associados a afloramentos calcários (FLÖRSHEIM & TOMAZELLO FILHO, 1994). Está entre as espécies indicadoras de cerradão mesotrófico, dentro da área de cerrado do Brasil Central (Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais), ocorrendo em solos com pH e teor de cálcio elevados (RATTER et al., 1977; HARIDASAN & ARAÚJO, 1988).



**Figura 1.** *Espécie de estudo.* (A) Exemplo de ***Myracrodruon urundeuva***; (B) Inflorescência mostrando o fruto com cálice acrescido; (C) Semente com exocarpe e mesocarpe. Fonte: (A) Lorenzi, 1992; (B) Tatajiba, 2007; (C) Foto do autor.

O porte que varia de acordo com a região onde é encontrada, árvore de 5 a 10 m de altura na caatinga ou até 24 m na mata decídua, com tronco que pode atingir 1 m de diâmetro. Copa ampla, com folhas compostas imparipenadas, com 5-7 pares de folíolos ovado-obtusos, pubescentes em ambas as faces quando jovem, com até 5 cm de comprimento. Caracterizada por apresentar caducifolia nos meses mais secos, coincidindo com a época de floração, geralmente, entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (LORENZI, 1992; ANDRADE et al., 2000; LORENZI & MATOS, 2008), período ainda propício a quedas de temperaturas, principalmente decorrentes de frentes frias que alcançam o cerrado.

As flores masculinas e femininas são pequenas e dispostas em grandes panículas pendentes, pardacentas e purpúreas, dispostas em pés separados. (LORENZI & MATOS, 2008). A polinização de *M. urundeuva* é realizada por abelhas, e a dispersão dos diásporos é anemocórica. Seus frutos são pequenos, do tipo drupa globosa ou ovóide, com cálice persistente em forma de estrela,

considerado um fruto-semente (BARROSO et al., 1999; FIGUEIRÔA et al., 2004; LORENZI & MATOS, 2008). A semente é única (0,2 a 0,4 cm de diâmetro) por fruto, globosa, desprovida de endosperma, com epicarpo castanho escuro, mesocarpo castanho, carnosos, resinífero, com odor característico, com tegumento membranáceo, liso, de coloração amarelo-clara com uma mancha marromescura (MEDEIROS, 1996; ALMEIDA et al., 1998). Carmello-Guerreiro e Paoli (1999) acrescentam ainda que, na semente madura além do endosperma ausente, a micrópila não é visível, o embrião, não clorofilado, é axial dobrado ou pleurorrizo, composto por dois cotilédones planos, carnosos, eixo hipocótilo-radícula longo e plúmula pouco desenvolvida. A reserva dos cotilédones consiste, principalmente, de proteínas. Martins Netto e Faiad (1995) consideram a semente de aroeira como oleaginosa, apesar de seus diásporos apresentarem em média 36,3% de proteínas e 26,5% de lipídios (ABDALA et al., 2002).

A madeira é pardo-avermelhada, muito dura e imputrescível, com sabor adstringente, sendo preferida para utilização na indústria civil. A casca é subdividida em placas nos troncos mais velhos, sendo íntegra nas árvores jovens, encerrando 15% de tanino, usado na indústria de curtume (ANDRADE et al. 2000). Pela qualidade de sua madeira, de grande resistência mecânica, alta densidade e considerável durabilidade a aroeira-do-sertão, é muito utilizada tanto na construção civil, como na marcenaria e carpintaria (LORENZI, 1992).

Além da sua exploração para o fornecimento de madeira, esta espécie é também utilizada como planta medicinal, na arborização de ruas e praças, sendo ainda de interesse na apicultura (MELO, 1991). Além disso, sua madeira, em função da durabilidade e dificuldade de putrefação, é muito usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas, na confecção de móveis de luxo e adornos torneados (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1992). A aroeira possui um crescente uso farmacológico, pois na sua entrecasca possui substâncias com propriedades antiinflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes e na qual foram constatados sete componentes, dos quais duas chalconasdiméricas naturais, que possuem propriedade de antiinflamatório e foram denominadas Urundeveína A e B (VIANA et al., 1995). As raízes são usadas no tratamento de



reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras (ALMEIDA et al., 1998).

Em decorrência dessa ampla utilidade e exploração, muitas vezes de forma predatória, a biodiversidade do semiárido vem sofrendo perdas como: o desmatamento indiscriminado, o uso agrícola e mineral de forma errônea, as secas periódicas e o super pastejo dos animais domésticos são os maiores responsáveis pela aceleração no processo de degradação ambiental, (MEDEIROS, 1996). Essas ações promovem a devastação das populações vegetais naturais, dentre elas, a *Myracrodruon urundeuva*, espécie que, por esta razão, foi incluída na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção (IBAMA, 1992) no nordeste brasileiro.

A principal demanda por sementes de espécies florestais nativas está ligada à produção de mudas para reflorestamento ambiental, com destaque para as espécies endêmicas e aquelas que ocorrem em biomas sob grande ação antrópica. Para espécies com valor comercial, a ação é mais intensa, como ocorre com a aroeira (ABDALA et al., 2002). Com relação à exploração sustentável de espécies nativas, é importante destacar que um dos objetivos do manejo florestal é garantir a continuidade da produção madeireira, por meio do estímulo à regeneração natural nas clareiras e da proteção do estoque de árvores remanescentes (AMARAL et al., 1998). Entretanto, segundo os autores, é possível que em algumas situações a regeneração natural pós-exploração seja escassa, sendo necessário fazer o plantio de mudas.

Quando se fala em obtenção de mudas para reflorestamento ou para estudos experimentais é importante buscar compreender o processo germinativo da espécie de interesse. Durante o processo germinativo, ocorrem alterações na composição química da semente e no consumo de substâncias de reservas, tais como carboidratos, lipídeos e proteínas, os quais fornecem energia e matéria prima para o desenvolvimento do embrião. Esta atividade metabólica é diretamente influenciada por condições internas (intrínsecas do órgão) e externas (do ambiente), que podem interferir na velocidade e no sucesso dos eventos. Fatores externos, como por exemplo, a disponibilidade hídrica e da temperatura afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas de diferentes formas. Os

diferentes modos de ação sobrepõem-se e o resultado final envolve o inter-relacionamento de muitos processos (LARCHER, 2000).

Considerando-se que o conhecimento sobre as alterações físicas e fisiológicas que ocorrem durante a germinação das sementes de espécies florestais nativas é deficitário, a proposta aqui apresentada visa gerar dados sobre o aspecto da fisiologia da germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, oferecendo subsídios para o entendimento das alternativas adaptativas selecionadas que permite a permanência da espécie em áreas de condições inóspitas como a caatinga e fazendo-se assim o estudo de suma importância para o entendimento e a preservação deste bioma.

Com o desenvolvimento de inúmeras ferramentas moleculares e biotecnológicas, as sementes têm sido estudadas quanto à composição química de suas reservas, onde recentemente o interesse da sociedade por aspectos relacionados ao meio ambiente fez-se tornar relevante conhecer aspectos da composição química e da fisiologia das sementes de espécies nativas das florestas tropicais, do Cerrado e de outros biomas. Tais informações são importantes para auxiliar, por exemplo, a produção de mudas de alta qualidade para tentar recuperar áreas que foram degradadas por atividades agrícolas e industriais (BUCKERIDGE et al, 2004).

Ainda é pouco o conhecimento em nível de sementes com espécies florestais em relação a aspectos bioquímicos e fisiológicos da composição das reservas e principalmente sua mobilização nas sementes durante a germinação e crescimento inicial das plântulas. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. sob condições de estresse hídrico, térmico e a combinação entre estes, visando verificar as respostas de germinação a fatores ambientais por meio do acompanhando do desenvolvimento germinativo do embrião e da plântula (capítulo 1), assim como avaliar o metabolismo germinativo de sementes de *M. urundeuva* submetidas a fatores abióticos em diferentes intensidades, visando ampliar o conhecimento sobre aspectos germinativos e do crescimento inicial e compreender bioquimicamente o efeito de agentes estressores no metabolismo desta espécie nativa do semiárido (capítulo 2).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALA, L. et al. Biochemical traits useful for the determination of genetic variation in a natural population of *Myracrodruon urundeuva*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.7, p. 909-916, 2002.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. (Ed.). **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. 464p.
- AMARAL, P., VERÍSSIMO, A., BARRETO, P., VIDAL, E. (Ed.). **Floresta para sempre: um manual para a produção de madeira na Amazônia**. Belém: Imazon, 1998. 137 p.
- ANDRADE, M. W. et al. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Ciências e Agrotecnologia**. p.174-180. 2000.
- ARAÚJO, F. S. et al. Florística da vegetação arbustivo-arbórea colonizadora de uma área degradada por mineração de caulim, Brás Pires, MG. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.107-116, 2005.
- BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. (Ed.). **Frutos e sementes: Morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV, p. 443, 1999.
- BUCKERIDGE, M.S. et al. Acúmulo de Reservas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 324 p.
- CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; PAOLI, A.A.S. Aspectos morfológicos e anatômicos da semente de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem.-Anacardiaceae), com notas sobre paquicalaza. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.21, p. 222-228, 1999.
- CARVALHO, Paulo Ernani Ramalho. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ, 1994. 640 p.
- FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.3, p.573-580. 2004.
- FLÖRSHEIM, S. M. B.; TOMAZELLO, F. M. Dendrologia e Anatomia da madeira de aroeira *Myracrodruon urundeuva* F. F. & M. F. Allemão (Anacardiaceae). **Rev. Inst. Flor.** p. 75-85, 1994.
- FREIRE, A. R. S.; MESQUITA, P. S.; LEITÃO, A. C.; FERREIRA, A. M. Fenologia de quatro espécies arbóreo-arbustivas da Caatinga do RN. In: VI Congresso de Ecologia do Brasil, Fortaleza, 2003. **Anais...** Fortaleza-CE : Editora da Universidade Federal do Ceará, 2003. p. 320-322.

- GIULIETTI, A.M., et al. 2004. **Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga**. In: J.M.C. Silva, M. Tabarelli, M.T. Fonseca & L.V. Lins (orgs.). Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. pp. 48-90. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- GURGEL-GARRIDO, L.M.A. et al. Efeitos do sombreamento no crescimento da aroeira -*Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**. v.9, p. 47-56, 1997.
- HARIDASAN, M.; ARAÚJO, G.M. Aluminium accumulating species in two forest communities in the Cerrado region of Central Brazil. **Forest Ecology and Management**. v.24, p. 15-26, 1988.
- IBAMA. Lista oficial das espécies da flora ameaçadas de extinção. **Diário Oficial**. Portaria 006/92-N de 15 de janeiro de 1992.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Mapa de vegetação do Brasil. **IBGE**, Rio de Janeiro, 1998.
- International Union For Conservation Of Nature And Natural Resources. **Iucn Red List**. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/>. Acesso em: 09 outubro de 2008.
- LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, 1983.
- LARCHER, W. 2000. **Ecofisiologia Vegetal**. São Carlos. RIMA. 2000. 531p.
- LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Ed.). **Ecologia e conservação da Caatinga. : uma introdução ao desafio**. . In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 2003.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarium, 1992. 352p.
- LORENZI, Harri; MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2ª Edição. Nova Odessa. São Paulo. Instituto Plantarium, 2008.
- MARTINS-NETTO, D.A. & FAIAD, M.G.R. Viabilidade e sanidade de sementes tropicais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília. v.17, n.1, p.75-80. 1995.
- MEDEIROS, A. C. S. **Comportamento fisiológico, conservação de germoplasma a longo prazo e previsão de longevidade de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All. (Engl.))**). Jaboticabal: UNESP, 1996. 127p. Tese (Doutorado )- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias . Universidade Estadual Paulista.

MELO, José Teodoro de. **Aroeira**: característica e aspectos silviculturais. Planaltina: Embrapa CPAC, Brasília, 1991, 10 p.

PRADO, D. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M.C. (eds.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária, UFPE, Recife, Brasil, 2003, 822 p.

RATTER, J. A.; ASKEW, G. P.; MONTGOMERY, R. F.; GIFFORD, D. R. Observações adicionais sobre o cerradão de solos mesotróficos no Brasil Central. 1977. In: **IV Simpósio sobre o Cerrado**: bases para utilização agropecuária (M.G. Ferri, ed.). Livraria Itatiaia Editora Ltda, Belo Horizonte, p. 303-316.

RIZZINI, C. T. Tratado de fitogeografia do Brasil. Âmbito cultural. Edição: Ltda, RJ. 1997. In: LEAL, Inara R.; TABARELLI, Marcelo; SILVA, José Maria Cardoso. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. 2ª edição. Ed. Universitária UFPE. 2003. 804 p.

RODAL, M. J. N.; ARAÚJO, F. S.; BARBOSA, M. R. V. Vegetação e flora em áreas prioritárias para conservação da Caatinga. In: ARAÚJO, F. S.; RODAL, M. J. N.; BARBOSA, M. R. V. (Org.). **Análise das variações da biodiversidade do bioma Caatinga**: suporte a estratégias regionais de conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. 446 p.

RODAL, M. J. N.; SAMPAIO, E. V. S. B. A vegetação do bioma Caatinga. 2002. In: SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGÍNIO, J.; ROJAS, C. F. L. G. (org.). **Vegetação e Flora da Caatinga**. Ed. Recife: APNE-CNIP, v.1, 2002, 176 p.

RODAL, M. J. N.; SAMPAIO, E. V. S. B.; FIGUEIREDO, M. A. (Ed.) **Manual sobre Métodos de Estudo Florístico e Fitossociológico** – Ecossistema Caatinga – Sociedade Botânica do Brasil, 1992, 24 p.

SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**. V.14, p.133-145, 1991.

SANTOS, A. M. M.; TABARELLI, M. Distance from roads and cities as a predictor of habitat loss and fragmentation in caatinga dry forest of Brazil. **Brazilian Journal of Biology** v.62, p. 897-905, 2002.

TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. Áreas e Ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 2003. 822 p.

VIANA, G. S. B.; MATOS, J. A.; BANDEIRA, M.A. M.; RAO, V. S. N. **Aroeira-do sertão**: estudo botânico farmacognóstico, químico e farmacológico. Fortaleza: UFC, 1995. 164 p.

## CAPÍTULO 1

**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE  
*Myracrodruon urundeuva* Fr. Ail. (ANACARDIACEAE)  
SUBMETIDAS A FATORES ABIÓTICOS**

**COMPORTAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. Ail. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDAS A FATORES ABIÓTICOS**

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento germinativo de sementes de *M. urundeuva* sob diferentes temperaturas (*screening* térmico), potenciais hídricos (*screening* hídrico) e a combinação entre estes. Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Germinação da UEFS, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes/tratamento e em três etapas. Na etapa I, sementes foram dispostas em câmaras de germinação a temperaturas de 20 a 40°C, com intervalos de 5°C, ajustando-se em seguida a temperatura de 50% de germinação (T50) em 33°C. Na etapa II, sementes foram expostas a soluções de PEG 6000 em diferentes potenciais osmóticos (0,0 a -1,2 MPa), ajustando-se o potencial de 50% de germinação ( $\psi_{50}$ ) em -0,7 MPa. Na etapa III, foi combinado a T50 com diferentes potenciais osmóticos (0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa) e o  $\psi_{50}$  com as temperaturas de 25, 33 e 40°C. No *screening* térmico, foi estabelecido 25°C como temperatura ótima, 33°C como T50 e 40°C como a temperatura de estresse (germinação nula); no *screening* hídrico o potencial de -1,0 MPa foi considerado aquele que não mais permitiu as sementes germinarem, impondo um estresse às sementes de aroeira (condições de osmocondicionamento); a -0,7 MPa foi considerado como  $\psi_{50}$  (60%). No estresse combinado só germinaram as sementes do tratamento -0,2 MPa/33°C (apenas 12%), demonstrando que a combinação entre os dois estresses afetou significativamente o comportamento fisiológico das sementes e que a combinação entre altas temperatura e diminuição dos potenciais osmóticos reduz a germinação das sementes de *M. urundeuva*.

**Palavras-chave:** Aroeira-do-sertão, *screening* térmico e hídrico, estresse combinado.

**PHYSIOLOGIC BEHAVIOR OF MYRACRODRUON URUNDEUVA  
(ANACARDIACEAE) Fr. AII. SEEDS SUBMITTED TO ABIOTIC FACTORS**

**ABSTRACT** – The objective of this study was to evaluate the germinative behavior of *M. urundeuva* seeds exposed to different temperatures (thermal screening), hydric potentials (hydric screening) and the combinations between them. Experiments were performed at the State University of Feira de Santana Germination Laboratory, in a completely randomized experimental design, with four replications of 50 seeds/treatment and in three stages. On stage I, seeds were placed in chambers at the temperatures from 20 to 40°C, with intervals of 5°C, then adjusting to the temperature of 50% of germination (T50) at 33°C. On stage II, seeds were exposed to PEG 6000 solutions at different osmotic potentials (0,0 to -1,2 MPa), adjusting the potential of 50% of germination ( $\psi_{50}$ ) in -0,7 MPa. On stage III, it was combined with T50 at different osmotic potentials (0,0; -0,2; -0,7 and -1,0 MPa) and the  $\psi_{50}$  at the temperatures of 25, 33 and 40°C. On the thermal screening, it was established 25°C as great temperature, 33°C as T50 and 40°C as the stress temperature (no germination); on the hydric screening the potential of -1,0 MPa was considered the one which no longer allowed the seeds to germinate, bringing a stress to the Aroeira seeds (osmoprimed conditions); at -0,7 MPa was considered as  $\psi_{50}$  (60%). On the combined stress just the treatment seeds germinated -0,2 MPa/33°C (12% only), showing that the combination between the two stresses significantly affected the physiologic behavior of the seeds and also that the combination between high temperatures and the reduction of the osmotic potentials reduces the germination of the *M. urundeuva* seeds.

**Keywords:** Aroeira-do-sertão, thermal and osmotic *screening*, combined stress.



## 1. INTRODUÇÃO

A germinação de sementes é um fenômeno biológico que pode ser considerado botanicamente como a retomada do crescimento do embrião, com o conseqüente rompimento do tegumento pela radícula (LABOURIAU, 1983). De acordo com o critério fisiológico, a germinação é completada quando uma parte do embrião, em geral, a radícula, penetra e atravessa os tecidos que o envolvem. Além disso, existem outros critérios de germinação, como a curvatura gravitrópica da radícula ou a emergência da plântula através da superfície do solo (critério agrônômico ou tecnológico) (KERBAUY, 2004).

A retomada do crescimento do embrião ou germinação da semente é dependente de muitos fatores externos e internos (RAVEN et al., 2001). Fatores bióticos, intrínsecos à própria semente, e abióticos, como luz, temperatura, água e oxigênio, afetam diferentemente a germinação (BASKIN & BASKIN, 1998; RAVEN et al., 2001; BEWLEY & BLACK, 1994).

O gradiente e as flutuações térmicas aos quais as sementes são continuamente expostas constituem um sinal importante do ambiente no controle das diferentes etapas do desenvolvimento das plantas. Nas sementes, a temperatura atua tanto na indução e quebra da dormência quanto no crescimento embrionário. O efeito da temperatura na germinação pode ser descrito em termos de temperaturas cardinais (mínima, ótima e máxima), onde as temperaturas mínima e máxima são aquelas em que, respectivamente abaixo e acima, a semente não germina e na temperatura ótima há porcentagem máxima de germinação no menor período de tempo (BEWLEY & BLACK, 1994; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Embora muitas sementes germinem em uma faixa razoavelmente ampla de temperatura, elas normalmente não germinarão acima ou abaixo de uma determinada faixa de temperatura para a espécie. O mínimo de temperatura para muitas espécies é entre 0°C a 5°C e a máxima é de 45°C a 48°C, e a faixa ótima está entre 25°C a 30°C. (RAVEN et al., 2001). Hendricks e Taylorson (1976) explicam que altas temperaturas podem causar desnaturação de proteínas e alteração na permeabilidade das membranas, enquanto baixas temperaturas

retardam as taxas metabólicas, até o ponto em que as vias essenciais ao início da germinação não podem mais operar.

A água tem um papel-chave em todos os processos de desenvolvimento e germinação da semente, pois na medida em que a semente em desenvolvimento muda de um estado metabolicamente ativo para um estado inativo após a maturação, por efeito da dessecação, retorna depois ao estado metabolicamente ativo durante a germinação (BEWLEY & BLACK, 1994; KERMODE, 1995; DE CASTRO & HILHORST, 2000).

Sendo assim, verificando-se que a água é o fator iniciante da germinação e está envolvida direta e indiretamente em todas as demais etapas do metabolismo germinativo, sua participação é decisiva nas reações enzimáticas, na solubilização e transporte de metabólitos, como reagente na digestão hidrolítica de tecidos de reserva da semente. O aumento do potenciais osmóticos atrasa e diminuem a porcentagem de germinação. O grau mínimo de umidade a ser atingido pela semente para que a germinação ocorra, depende de sua composição química e da permeabilidade do tegumento (BRADFORD, 1995), caso esta não apresente dormência. Para Street & Öpik (1983) o *déficit* hídrico altera a permeabilidade da membrana e as propriedades do tonoplasto, permitindo a interação entre proteínas citoplasmáticas e enzimas hidrolíticas. Com o aumento do déficit hídrico verifica-se uma redução da armazenagem do ATP, desacoplamento de elétrons na fosforilação oxidativa e danos nas membranas celulares.

No estudo da germinação de sementes, o conhecimento sobre como a deficiência hídrica afeta esse processo tem importância especial na ecofisiologia para avaliação dos limites de tolerância e da capacidade de adaptação das espécies, pois os fatores abióticos interferem na germinação de sementes (LARCHER, 2000). Em condições de laboratório, são realizados estudos utilizando soluções aquosas com diferentes potenciais osmóticos para umedecer o substrato de germinação em diferentes níveis de hidratação, promovendo restrição hídrica para a semente. O controle da hidratação da semente pelo emprego de soluções diluídas até um limite que permita a realização dos

processos metabólicos pré-germinativos, sem a protrusão da radícula, é denominado pré-condicionamento osmótico (BRADFORD, 1986).

O polietileno glicol 6000 ( $\text{HOCH}_2 (\text{CH}_2\text{OCH}_2)_n \text{CH}_2\text{OH}$ ), é um dos agentes osmóticos utilizados nesses estudos, pois é quimicamente inerte e atóxico para as sementes, simulando a seca e não penetrando no tegumento devido ao tamanho de suas moléculas que apresentam alto peso molecular (VILLELA et al., 1991), propiciando assim restrição hídrica a sementes, dependendo da concentração utilizada.

A indisponibilidade de água é um dos mais importantes fatores ambientais capazes de influenciar o processo de germinação de sementes, e o estabelecimento das plântulas, já que os vegetais são geralmente mais sensíveis ao déficit hídrico nessas fases iniciais do desenvolvimento (KERMODE, 1990; BLAKE, 1993; BARBEDO & MARCOS FILHO, 1998).

A influência da deficiência hídrica na germinação se dá através do atraso no início do processo ou diminuição na germinabilidade final (HARDEGREE & EMMERICH, 1990). Potenciais muito baixos, especialmente no início da embebição das sementes, influenciam a absorção de água, retardando a seqüência dos eventos germinativos (BANSAL et al., 1980). Por outro lado, o excesso de umidade em geral provoca decréscimo na germinação, uma vez que impede a difusão do oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante (BORGES & RENA, 1993).

As plantas são submetidas freqüentemente a diferentes estresses ambientais. As plantas da Caatinga, por exemplo, enfrentam condições adversas em relação a solo, precipitação pluviométrica e, portanto de conteúdo de sais solúveis no solo e disponibilidade de água. Para realizar suas atividades metabólicas desenvolvem aptidões a essas adversidades (TROVÃO *et al.*, 2004). Temperaturas extremas, salinidade, excesso ou deficiência hídrica, crostas do solo e presença de insetos e patógenos podem afetar de forma adversa o estabelecimento das plantas no campo (VILLELA et al., 1991). Desta forma, as condições térmicas e o potencial hídrico para a germinação das sementes nessas espécies constituem um dos importantes fatores a serem estudados no

desenvolvimento dessas plantas. Esses mecanismos fisiológicos de sobrevivência à seca têm sido bastante estudados em espécies vegetais cultivadas, no entanto, pouco ainda se sabe sobre o comportamento e os mecanismos de adaptação das espécies nativas às condições de restrição hídrica e altas temperaturas, naturais da Caatinga e Semiárido nordestino.

A espécie selecionada para esta pesquisa foi a *Myracrodruon urundeuva* Fr. All syn. *Astronium urundeuva* (Fr. All) Engl., conhecida popularmente como aroeira-do-cerrado, aroeira-do-sertão, entre outros nomes. Trata-se de uma espécie arbórea, nativa da região semiárida do Nordeste brasileiro, de relevante valor sócio-econômico, não somente como planta medicinal ou madeireira, mas também, como fonte de energia (lenha) nas indústrias e nas propriedades rurais (MEDEIROS et al., 2000).

Diversos trabalhos tem sido conduzidos, procurando definir o comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, alguns com vistas à conservação a longo prazo (MEDEIROS et al., 2000; GONZAGA et al., 2003), outros sob o efeito de estresses na nutrição mineral (SILVA et al., 2000), efeito da luz e da temperatura (SILVA et al., 2002), efeito de temperaturas e substratos (PACHECO et al., 2006), influência da luz (MIRANDA et al., 2007, 2008) na germinação de sementes, estudos de armazenamento (TEOFILO et al., 2004; CALDEIRA, 2007; LUCIO et al., 2007; SOUZA et al., 2007), estudos de campo (TROVÃO et al., 2004; FIGUEIROA et al., 2004; BERGER et al., 2007; CARON et al., 2007), entre outros.

Dentre os objetivos esperados a partir de estudos com germinação de sementes está a ampliação dos conhecimentos fisiológicos, verificando as respostas de germinação a fatores ambientais por meio do acompanhamento do desenvolvimento do embrião e da plântula. Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o comportamento germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* sob diferentes condições de restrição hídrica, diferentes temperaturas, e a combinação desses fatores, visando contribuir com conhecimentos nestes aspectos.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

A vida de qualquer organismo começa por meio de um processo reprodutivo, seguido por um desenvolvimento vegetativo (crescimento e formação de órgãos), e em seguida ocorre novamente o evento da reprodução, originando a próxima geração. Todas essas fases do desenvolvimento processam-se de forma geneticamente determinadas, coordenadas pelos hormônios e induzidas e modificadas por fatores ambientais (LARCHER, 2000).

Cada fase ocupa um certo tempo do ciclo de vida da planta e tem sua característica particular quanto a forma e o funcionamento da planta regulada por diferentes atividades genéticas, as quais são afetadas pelas condições do ambiente próximo à planta. A cada estágio a planta exige determinados recursos e condições ambientais, e também responde de maneiras diferentes às influências externas. Porém cada um dos sucessivos estágios de desenvolvimento não podem ser considerados como eventos isolados, pois é claro que os eventos da fase anterior têm um efeito de pré-condicionamento sobre as fases subsequentes (LARCHER, 2000).

Dentre os estágios do ciclo de vida de uma planta (Figura 2) podemos citar: a fase embrionária (período entre a fertilização e a maturação da semente), a fase de germinação (inicia com a embebição de água e com a ativação do metabolismo do tecido embrionário), a fase vegetativa (período de crescimento tanto em extensão como em diâmetro), fase reprodutiva ( floração e frutificação) e a fase de senescência (fase de envelhecimento) (LARCHER, 2000).

Em se tratando de um ciclo, o presente trabalho pretende iniciar um estudo a partir da fase germinativa de sementes, no qual processos morfológicos e fisiológicos que culminam com a protrusão da radícula têm sido estudados a fim de se avaliar viabilidade, condições de armazenamento e vigor de sementes. Estudos sobre análise de emergência e crescimento de plantas; influência de luz, temperatura, salinidade, do potencial hídrico, além do tipo de substrato na germinação de sementes são extensivamente descritos na literatura para várias espécies nativas. Dentre elas com sementes de *Myracrodruon urundeuva*

relatados por Duarte et al. (2000), Medeiros et al., (2000), Silva et al. (2000), Silva (2002), Gonzaga et al. (2003), Figueiroa et al. (2004), Silva et al. (2004), Teófilo et al. (2004), Trovão et al. (2004), Dorneles et al. (2005), Pacheco et al. (2006), Lucio et al. (2006a),. Caldeira (2007), Berger et al. (2007), Caron et al. (2007), Carvalho et al. (2007), Miranda et al. (2007), Oliveira et al. (2007), Souza et al. (2007a), Souza et al. (2007b), SILVA et al. (2008).

## 2.1 Germinação

Entre os diferentes estágios do ciclo de vida dos vegetais superiores, a germinação das sementes é um dos pontos mais críticos para o sucesso das plantas (METIVIER, 1986). Embora muito do interesse humano por semente esteja associado, ao ponto de vista nutricional, à sua composição, a finalidade biológica de uma semente é germinar e estabelecer uma nova planta (DE CASTRO et al., 2004a).

A fase de germinação tem início com a embebição da água e com a ativação do metabolismo do tecido embrionário e está completa quando a nutrição não mais depende dos materiais de reserva e ao mesmo tempo realiza autotrofia. Neste momento, a raiz está firmemente presa ao solo, os cotilédones (no caso de germinação hipógea, as folhas primárias) estão desenvolvidos e a plântula já atingiu o estado de independência. Essa é a primeira condição para a planta se estabelecer. A duração da germinação é o tempo gasto entre a hidratação da semente e a emissão da radícula; a taxa de germinação é a porcentagem de germinação acrescida por unidade de tempo. (LARCHER, 2000).

Durante a germinação de sementes há uma seqüência de eventos fisiológicos que são influenciados por fatores intrínsecos ou internos e extrínsecos ou ambientais. Entre os fatores extrínsecos, a luz e temperatura e o potencial hídrico da água são de grande importância para a germinação de sementes, sendo esta também afetada pelos fatores intrínsecos, como: impermeabilidade do tegumento, imaturidade fisiológica e presença de substâncias inibidoras (BEWLEY e BLACK, 1982; CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). Em condições de campo, as sementes não germinam quando determinados níveis de estresse

térmico e hídrico são causados pelo clima e pelas condições de solo (KHAN, 1992; BRADFORD, 1986).

O conhecimento dos principais processos envolvidos na germinação de sementes de espécies florestais nativas, a exemplo da *Myracrodruon urundeuva* Fr. All, espécie em estudo, é de vital importância, não apenas no que se refere à preservação das comunidades vegetais, mas no que tange às pesquisas relacionadas à conservação genética e aos estudos que visam à propagação das espécies, tanto em intentos paisagísticos, como em projetos que objetivam o reflorestamento (SMIDERLE & SOUZA, 2003; KOSZO, 2006).

Como já foi dito, a retomada do crescimento do embrião ou germinação da semente é dependente de muitos fatores externos e internos. Entre os fatores externos ou ambientais, a água e a temperatura são particularmente importantes (RAVEN et al., 2001) e estes serão abordados a seguir.

## **2.2 Fatores Abióticos na Germinação**

Cada fator ambiental pode atuar por si ou em interação com os demais. No processo de germinação, a água é o fator que exerce a mais determinante influência, pois, da absorção de água resulta a reidratação dos tecidos com conseqüente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários para a retomada do crescimento, por parte do eixo embrionário. A temperatura regula as velocidades de absorção de água e das reações bioquímicas que determinam todo o processo, enquanto o oxigênio é necessário para a promoção da maioria destas reações, especialmente a respiração (NASSIF et al., 1998).

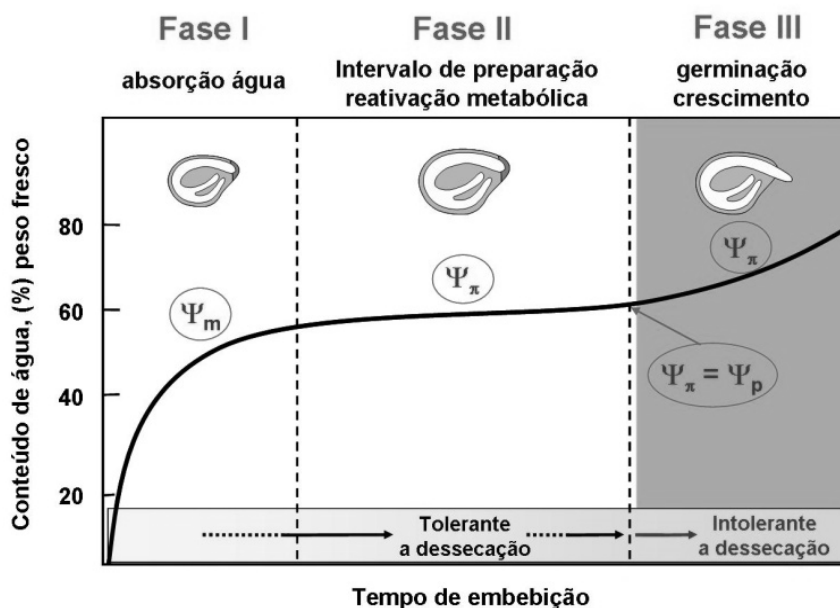
A disponibilidade de água é um dos mais importantes fatores ambientais capazes de influenciar o processo germinativo. Durante o período de formação e maturação de sementes, a água assume papel crucial e seu teor permanece elevado até o final do desenvolvimento em sementes ortodoxas (BEWLEY & BLACK, 1994).

A absorção de água desempenha outros papéis que contribuem para o sucesso da germinação, como o aumento de volume da semente, resultante da entrada de água na semente e provocando o rompimento da casca, o que facilita a emergência do eixo hipocótilo-radicular do interior da semente (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Ao monitorar o conteúdo de água de sementes secas submetidas a embebição em água, muito frequentemente se observa um padrão típico trifásico de absorção de água e hidratação. A fase I, denominada embebição, é consequência de potencial matricial e, portanto, processo físico, que ocorre independentemente da viabilidade ou dormência das sementes, desde que não relacionada a impedimentos físicos à entrada de água; a fase II é denominada de fase estacionária e ocorre em função do balanço entre o potencial osmótico e o potencial pressão. Nesta fase, a semente absorve água lentamente e o eixo embrionário ainda não consegue crescer; e por último a fase III, onde ocorre novo aumento no grau de umidade das sementes e observa-se a emissão de raiz primária (BEWLEY & BLACK, 1994).

Entre os eventos do processo germinativo que ocorrem em relação aos conteúdos aproximados de água que a semente absorve durante a embebição estão: a respiração e o acúmulo de ATP, síntese de mRNA e reparo de DNA, ativação de polissomos e síntese de proteínas a partir de mRNAs recentemente produzidos, eventos que ocorrem durante a fase I de embebição; Síntese e duplicação de DNA, início da degradação de reservas, alongamento das células da radícula, eventos que ocorrem na fase II, culminado com a protrusão da radícula que dá início a fase III juntamente com os eventos relacionados a mitose (DE CASTRO et al., 2004b) (Figura 1).





**Figura 1.** Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes e os diferentes eventos do processo germinativo. Fonte: De Castro et al. (2004b).

As sementes germinam quando as condições para o crescimento são favoráveis e elas não apresentam algum tipo de dormência. Obviamente, a primeira exigência para a germinação é a água, mas, além disso, a germinação ocorre em determinada faixa de temperatura. Existem temperaturas mais apropriadas para a germinação, assim como temperaturas limitantes, dependendo da espécie (LABOURIAU, 1983; BASKIN & BASKIN, 1998). Temperaturas extremas marcam o limite de ocorrência da germinação, sendo que acima do limite superior e abaixo do limite inferior pode ocorrer a morte das sementes (BORGES & RENA, 1993).

A germinação de uma semente não-dormente é balizada pelas chamadas temperaturas cardinais, ou seja, as temperaturas máxima ( $T_M$ ), mínima ( $T_n$ ) e ótima ( $T_{ot}$ ). As temperaturas mínima e máxima são, respectivamente, a menor e a maior temperatura cuja germinação é estatisticamente diferente de zero. A temperatura (ou faixa térmica) ótima é aquela que resulta no maior número de sementes germinadas em menor tempo, ou seja, a que produz maior germinabilidade e velocidade de germinação (KERBAUY, 2004).

A temperatura afeta o processo germinativo de três maneiras distintas: sobre o total de germinação, sobre a velocidade de germinação e sobre a

uniformidade de germinação. A germinação só ocorrerá dentro de certos limites de temperatura acima ou abaixo dos quais a germinação não ocorrerá. Dentro desses limites, existe uma faixa de temperaturas na qual o processo ocorre com a máxima eficiência, ou seja, obtém-se o máximo de germinação no menor período de tempo possível (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). O mínimo de temperatura para muitas espécies é de 0°C a 5°C e a máxima é de 45°C a 48°C, e a faixa ótima está entre 25°C a 30°C (RAVEN et al., 2001).

### **2.3 Estresse em plantas**

As espécies diferem entre si com relação às exigências de água, temperatura e oxigênio para germinação, existindo uma combinação ótima que promove o maior sucesso das mesmas nos diversos ambientes a serem colonizados. Desta forma, sementes postas para germinar em condições cada vez mais distantes deste ótimo estarão submetidas à situação crescente de estresse. Por sua vez, vale ressaltar que, experimentalmente não medimos o estresse nas sementes, apenas aplicamos condições adversas do ótimo. Para a água, por exemplo, restringimos a disponibilidade, assim o melhor termo seria deficiência ou restrição hídrica ao invés de estresse hídrico.

Estresse é em geral definido como um fator externo, que exerce uma influência desvantajosa sobre a planta. O conceito de estresse está relacionado ao de tolerância ao estresse, que é a aptidão da planta para enfrentar um ambiente desfavorável. Um ambiente estressante para uma planta pode não o ser para outra, ou seja, a tolerância à seca varia de espécie para espécie (KERBAUY, 2004). Partindo-se de uma terminologia física, o termo “estresse” foi gradualmente adotado para descrever qualquer situação imposta que desvie de uma situação ótima, e para indicar um evento ou um estado induzido no organismo (LARCHER, 2000).

Em qualquer lugar que as plantas cresçam, elas estarão sujeitas às condições de múltiplos estresses, os quais limitarão seu desenvolvimento e suas chances de sobrevivência. As múltiplas, mas não necessariamente letais condições desfavoráveis que ocorrem tanto permanentemente como

esporadicamente em uma localidade são conhecidas como “estresses” (LARCHER, 2000).

Sob o aspecto do desenvolvimento germinativo, a condição de umidade abaixo do exigido pela cultura resulta na redução da atividade enzimática, sendo, portanto uma das causas da baixa germinação de sementes e da velocidade em que ela ocorre (BEWLEY & BLACK, 1994). Por outro lado, o excesso de umidade em geral provoca decréscimo na germinação, uma vez que impede a difusão do oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante (BORGES & RENA, 1993).

O estresse hídrico pode afetar a germinação, provocando além do atraso no início do processo ou a diminuição no estande final de plântulas. Portanto, a capacidade das sementes de algumas espécies em germinar sob estresse hídrico confere vantagens ecológicas em relação a outras que são sensíveis à seca (ROSA et al., 2005). Potenciais muito baixos, especialmente no início da embebição, influenciam a absorção de água, inviabilizando a seqüência dos eventos germinativos (BANSAL et al., 1980).

O período que vai da germinação até a época em que a plântula se torna estabelecida como um organismo independente constitui a fase mais crucial da história da vida da planta. Durante este período, a planta é mais susceptível à injúrias por uma grande diversidade de insetos herbívoros e fungos parasitas, e estresse hídrico pode muito rapidamente tornar-se fatal (RAVEN et al., 2001). A deficiência hídrica é o fator limitante de maior significância na sobrevivência e crescimento inicial de plantas (BLAKE, 1993).

Nas regiões semiáridas do Brasil ocorre com freqüência períodos de estiagem por ocasião da implantação de culturas, o que resulta em baixos percentuais de germinação e emergência das plântulas em campo. Diante desses problemas torna-se necessário a utilização de procedimentos adequados para determinação do potencial fisiológico dos lotes de sementes. Diversos testes são executados com essa finalidade como, por exemplo, o de envelhecimento acelerado, de frio, de condutividade elétrica e de estresse osmótico. Com esses

testes é possível detectar lotes com desempenho superior, capazes de germinar em condições de estresse ambiental, tal como estiagem na época da sementeira.

Experimentalmente é possível conduzir testes de germinação simulando-se ambiente com restrição hídrica através do uso de diferentes concentrações de solução com polietileno glicol (PEG 6000), sendo este considerado um procedimento promissor, como também são o envelhecimento acelerado e o teste de frio (DA SILVA et al., 2006)

O estresse provocado por altas temperaturas merece destaque, principalmente devido os efeitos deletérios em processos vitais para o desenvolvimento vegetal e conseqüentemente diminuição dos níveis de produtividade (ARAÚJO et al., 1998). Sob temperaturas acima do ponto de compensação térmica, a fotossíntese não pode repor o carbono usado como substrato para a respiração, por consequência, as reservas de carboidratos diminuem e os frutos e verduras perdem açúcares. Tal desequilíbrio entre fotossíntese e respiração é uma das principais razões do efeito deletério de temperaturas altas (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Outro aspecto a ser elucidado é que, a combinação de fatores de estresse ou uma série de eventos estressantes podem reforçar, diminuir, mascarar, ou mesmo, reverter a resposta da planta a um simples fator de estresse (LARCHER, 2000).

O estresse desempenha um papel importante na determinação de como o solo e o clima limitam a distribuição de espécies vegetais. Assim, a compreensão dos processos fisiológicos subjacentes aos danos provocados por estresse e dos mecanismos de adaptação e aclimatação de plantas aos fatores estresses ambientais é de grande importância para a agricultura e o meio-ambiente.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios fisiológicos foram conduzidos no Laboratório de Germinação da Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS. Foram utilizadas diásporos de aroeira-do-sertão, *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., coletados em plantas matrizes localizadas em área do Campo Experimental da Caatinga, da Embrapa Semiárido (cpatsa), entre agosto e setembro de 2007, na região de Jutaí, no município de Petrolina – PE, região semiárida do Nordeste.

Segundo a classificação de Köppen o clima nesta área apresenta-se como tropical semiárido, tipo BshW, seco e quente na parte norte e semiárido quente estépico na parte sul, caracterizado pela escassez e irregularidade das precipitações com chuvas no verão e forte evaporação em consequência das altas temperaturas (KOTTEK et al., 2006).

Vale salientar, que conforme resultados observados em ensaios de germinação preliminares (dados não publicados), onde foram utilizados os diásporos sem um pré-tratamento, foi verificada a incidência de muitos fungos durante a condução dos ensaios de germinação, comprometendo os percentuais reais de sementes germinadas. Porém, quando conduzidos ensaios após remoção das camadas de exocarpo e mesocarpo seguida de tratamento de desinfestação obteve-se uma germinabilidade melhor do que quando utilizou-se o diásporo sem o pré-tratamento (Figura 2). Sendo assim, em todos os ensaios, inicialmente o exocarpo e mesocarpo dos diásporos foram retirados manualmente em água corrente e as sementes então desinfestadas superficialmente por um minuto em fungicida de aerossol (1mL/1L), posteriormente com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 5% (água sanitária comercial) durante três minutos e em seguida lavadas com água destilada.



**Figura 2:** Material vegetal utilizado para análises fisiológicas. À esquerda, diásporos de *M. urundeuva*; à direita, sementes de *Myracrodruon urundeuva* após remoção das camadas de exocarpo e mesocarpo. (Foto do autor).

A metodologia específica para cada ensaio é descrita a seguir.

### 3.1 Armazenamento e caracterização do lote de sementes

O lote dos diásporos de *Myracrodruon urundeuva*, recebido em setembro de 2007, foi acondicionado em sacos plásticos devidamente identificado e armazenado em geladeira e mantida assim até o início dos testes. Para a caracterização do lote realizou-se a pesagem total do lote, seguido do peso de 100 sementes e determinação da massa média de mil sementes, teste de germinação para verificação inicial da germinabilidade do lote e o teor de água das sementes de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 1992). As pesagens foram feitas em balança analítica, o teste de germinação em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições de 50 sementes sob temperatura de 25°C e a determinação do grau de umidade (teor de água) dos diásporos foi calculada com base na massa fresca, pelo método de estufa 105 ± 3°C, por 24 horas, sendo os resultados expressos em porcentagem.

### 3.2 Medidas utilizadas para análise da germinação

Algumas medidas utilizadas para caracterizar o comportamento de unidades de dispersão durante o processo de germinação foram calculadas a partir dos parâmetros avaliados nos ensaios de germinação deste trabalho conforme metodologia proposta por Santana e Ranal (2004), utilizando-se como ponto de

partida os trabalhos de Labouriau e colaboradores e revisão de trabalhos de outros autores. Dentre elas estão: a Germinabilidade ou Porcentagem de Germinação (%G), o Tempo médio de Germinação (Tm), a Velocidade Média de Germinação (Vm), o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), o Coeficiente de Uniformidade de Germinação (CUG) e Curvas de Germinação.

Germinabilidade ou Porcentagem de Germinação (%G) - corresponde ao número de sementes nas quais o processo de germinação pode ir até o fim, nas condições do ensaio, mediante o crescimento intra-seminal, que conduz à emergência de um embrião vivo (LABOURIAU, 1983b). Essa medida expressa a homogeneidade fisiológica das sementes de uma amostra (LABOURIAU, 1983a). Será apresentada como porcentagem média do número total de sementes germinadas ao final da avaliação calculada a partir da expressão: **G (%) = N/A \* 100**, em que: N = número de sementes germinadas; A= número total de sementes colocadas para germinar.

Tempo médio de Germinação (Tm): Corresponde à média de tempo necessário para um conjunto de sementes germinar, dando ao processo um caráter cinético. É calculado como a média ponderada dos tempos de germinação, utilizando-se como pesos de ponderação o número de sementes germinadas nos intervalos de tempo estabelecidos para a coleta de dados no experimento (LABOURIAU, 1983b) a partir da expressão: **Tm = (Σn<sub>i</sub>.t<sub>i</sub>) / Σn<sub>i</sub>**, em que: n<sub>i</sub> o número de sementes germinadas dentro de determinado intervalo de tempo t<sub>i-1</sub> e t<sub>i</sub> (dia ou hora);

Velocidade Média de Germinação (Vm): é definida como o inverso do tempo médio de germinação, uma vez que a velocidade média de germinação cresce e decresce com 1/Tm e não com Tm (LABOURIAU, 1983b). Sendo então calculada a partir da expressão: **Vm = 1/Tm**.

Índice de Velocidade de Germinação (IVG) - representa também uma medida de velocidade de germinação. Quanto maior for o valor numérico da expressão, maior será o vigor da amostra de sementes analisadas O valor obtido é influenciado pelo tempo médio de germinação e, conseqüentemente, pela velocidade de germinação, ou seja, se a germinação ocorrer logo no início da

semeadura, o valor do índice será maior do que se isso ocorrer mais tardiamente (SANTANA & RANAL, 2004). Quando se considera o critério agrônomo o IVG é substituído por IVE (índice de velocidade de emergência), entretanto o cálculo permanece o mesmo (BORGHETTI & FERREIRA, 2004). Seu cálculo corresponde ao somatório da razão do número de sementes germinadas a cada dia (G), pelo número de dias transcorridos desde a data de semeadura (N). A expressão é dada por:  $IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$ ;

Coefficiente de Uniformidade de Germinação (CUG): mede a variabilidade do tempo de germinação de cada semente em torno do tempo médio de germinação da amostra da qual faz parte e foi apresentada inicialmente por Heydecker (1973).

Curvas de Germinação – expressam o comportamento da semente em processo de germinação ao longo do tempo de duração do experimento, apresentando um detalhamento que pode ser explorado pelo pesquisador para entender melhor a germinação das sementes da espécie. Neste trabalho utilizou-se a curva de germinação por meio de análise de regressão com os dados referentes a germinabilidade obtendo-se o modelo que melhor retratasse o comportamento da espécie dentro das condições do ensaio. Utilizou-se também curvas de Frequência Relativa da Germinação (Fr), na qual se pode representar a quantidade total de sementes germinadas por dia. As curvas de germinação podem se apresentar sob as mais diversas formas, entretanto, elas podem ser identificadas por modelos de curvas já existentes.

### **3.3 Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. submetidas a diferentes fatores abióticos**

Foram testados alguns fatores abióticos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva*. Para tanto foram conduzidos separadamente três experimentos de germinação.

#### **3.3.1 Experimento 1: *Screening* Térmico**

Visando estabelecer a temperatura ótima de germinação, a temperatura de 50 % (T50) e a temperatura máxima de germinação (temperatura acima da qual a semente não germina), as sementes foram semeadas a temperaturas constantes



de 20, 25, 30, 35 e 40°C, e posteriormente 33°C buscando-se ajustar a temperatura de 50% de germinação (T50). Inicialmente, as sementes foram desinfestadas como descrito anteriormente e dispostas uniformemente sobre substrato composto por três folhas de papel de germinação estéril em placas de petri, embebidas com 7 mL de água destilada. Os experimentos foram conduzidos em germinador sob fotoperíodo de 12 horas de luz e ajustado nas temperaturas pré-estabelecidas. Os experimentos foram avaliados diariamente durante 15 dias e o substrato trocado a cada dois dias, a fim de evitar a contaminação por fungos. Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (emissão de radícula), sementes mortas e não germinadas e as medidas de germinação calculadas conforme descrito no item 3.2.

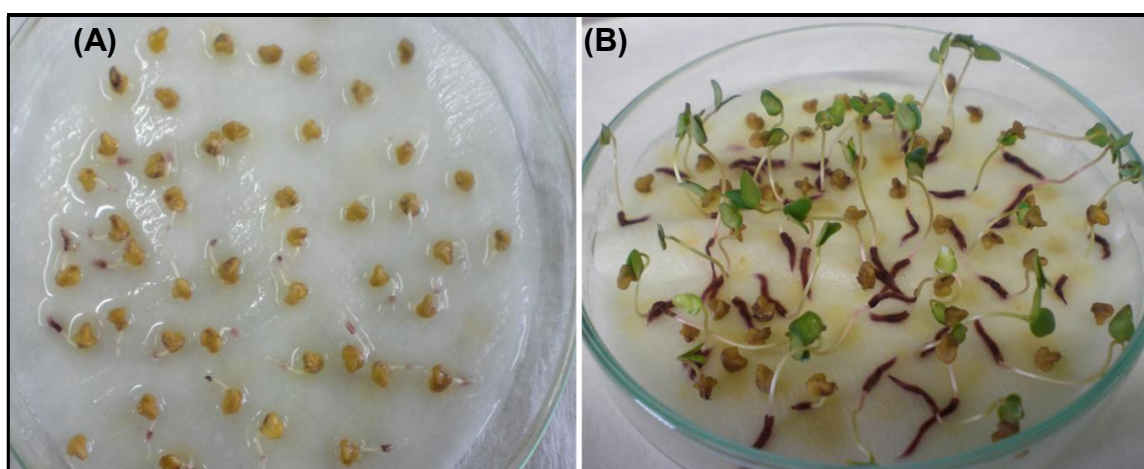
### **3.3.2 Experimento 2: *Screening* hídrico**

Visando estabelecer o potencial mínimo de germinação, o potencial de 50% ( $\Psi_{50}$ ) e o potencial de estresse (potencial de germinabilidade nula), as sementes foram semeadas nos potenciais osmóticos de 0,0 (testemunha); -0,2; -0,4; -0,6, -0,8, -0,9; -1,0; -1,2 e -1,4 MPa utilizando como agente osmótico soluções de polietilenoglicol (PEG 6000). As soluções foram preparadas para a temperatura de 25°C, temperatura ótima de germinação para a espécie (estabelecida no experimento 1), a partir da diluição do PEG 6000 em água destilada de acordo com Villela et al. (1991) e metodologia de Michel & Kaufmann (1973). Inicialmente, as sementes foram desinfestadas como descrito anteriormente e dispostas uniformemente sobre substrato composto por três folhas de papel de germinação estéril em placas de petri, embebidas com 7 mL de solução. Os ensaios foram conduzidos em germinador sob fotoperíodo de 12 horas ajustado a temperatura de 25°C. Os experimentos foram avaliados diariamente durante 15 dias e a solução trocada a cada dois dias, a fim de evitar a contaminação do substrato e a manutenção dos potenciais.

Os parâmetros avaliados para este experimento foram: porcentagem de germinação (emissão de radícula) (Figura 3A) e porcentagem de plântulas normais (Figura 3B), plântulas anormais deformadas e deterioradas, sementes mortas e não germinadas. Foram consideradas plântulas normais as que atingiram comprimento mínimo de 10,0 mm até o final do teste e com raiz,

hipocótilo e cotilédones aparentes e fora do tegumento da semente. As medidas de germinação foram calculadas conforme descrito no item 3.2.

Ao final do período de avaliação foi realizada uma averiguação da capacidade de envigoreamento das sementes não germinadas em cada potencial osmótico testado. Para tanto, as sementes não germinadas nas soluções em diferentes potenciais osmóticos foram lavadas com água destilada para retirada do excesso da solução de PEG 6000, sendo as mesmas contadas e transferidas para placas de petri umedecidas com a mesma quantidade inicial (7 ml) de água destilada e mantidas nas mesmas condições de germinação. As sementes permaneceram nessas condições por um período de 10 dias onde foram contabilizadas diariamente o número de sementes germinadas (emissão de radícula) e os valores expressos em porcentagem de acordo com o número de sementes transferidas para a água. Nos resultados, as sementes germinadas foram denominadas de "sementes germinadas em água após condicionamento osmótico".

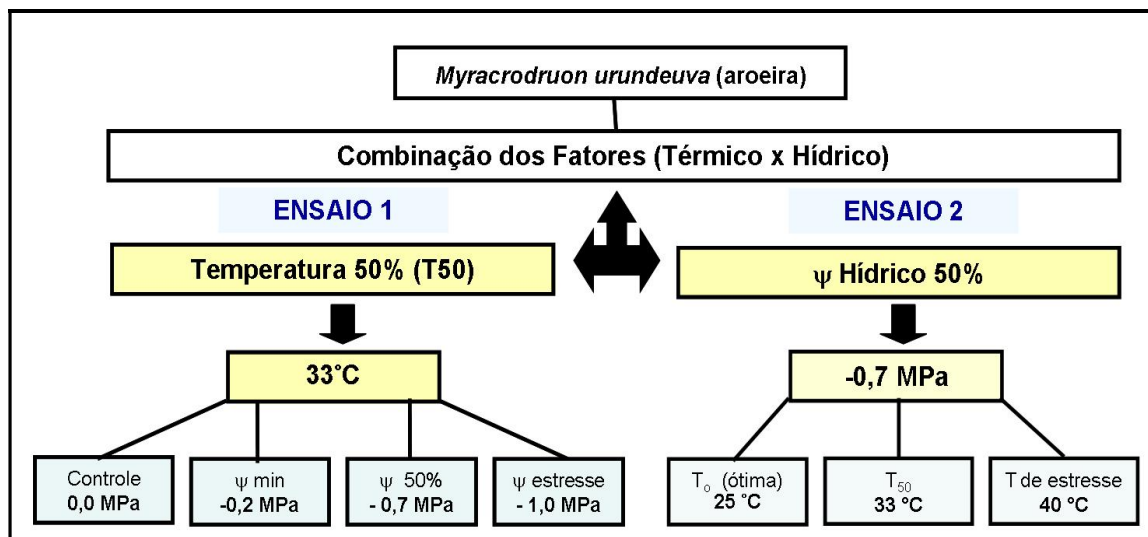


**Figura 3:** *Parâmetros avaliados para os ensaios de germinação com sementes de Myracrodruon urundeuva. (A) emissão de raiz primária (critério botânico), (B) plântulas normais (critério agrônômico). (Foto do autor).*

### **3.3.3 Experimento 3: Combinação dos Fatores Abióticos (Térmico x Hídrico)**

Conforme o esquema da figura 4, a partir dos dados obtidos dos experimentos 1 e 2 foi combinada a temperatura de 33° C (T50) com diferentes potenciais osmóticos (0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa), o qual denominaremos de

ensaio 1 e o potencial osmótico -0,7 MPa ( $\psi_{50}$ ) com as temperaturas: ótima (25°C), a T<sub>50</sub> (33°C) e a temperatura de germinabilidade nula (40°C), sendo esta considerada a temperatura de estresse.



**Figura 4.** Organograma do desenho experimental dos ensaios de germinação com combinação dos fatores abióticos em sementes de *Myracrodruon urundeuva*.

As condições de assepsia das sementes e da semeadura foram semelhantes aos descritos nos itens 3.3.1 e 3.3.2. Os experimentos foram avaliados diariamente durante 10 dias. Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de germinação (emissão de radícula), de sementes mortas e não germinadas e as medidas de germinação foram calculadas conforme descrito no item 3.2..

### 3.4. Delineamento estatístico

Em todos os experimentos o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. Os dados de todas as medidas calculadas foram transformados pela função  $(x + 0,5)^{0,5}$  e submetidos à análise de variância (ANOVA) e com os dados referentes às porcentagens de germinação efetuou-se análise de regressão polinomial, ao passo que os percentuais de sementes mortas e não germinadas não foram analisados estatisticamente. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa estatístico Sisvar (versão 5.0) da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Caracterização do Lote de Sementes

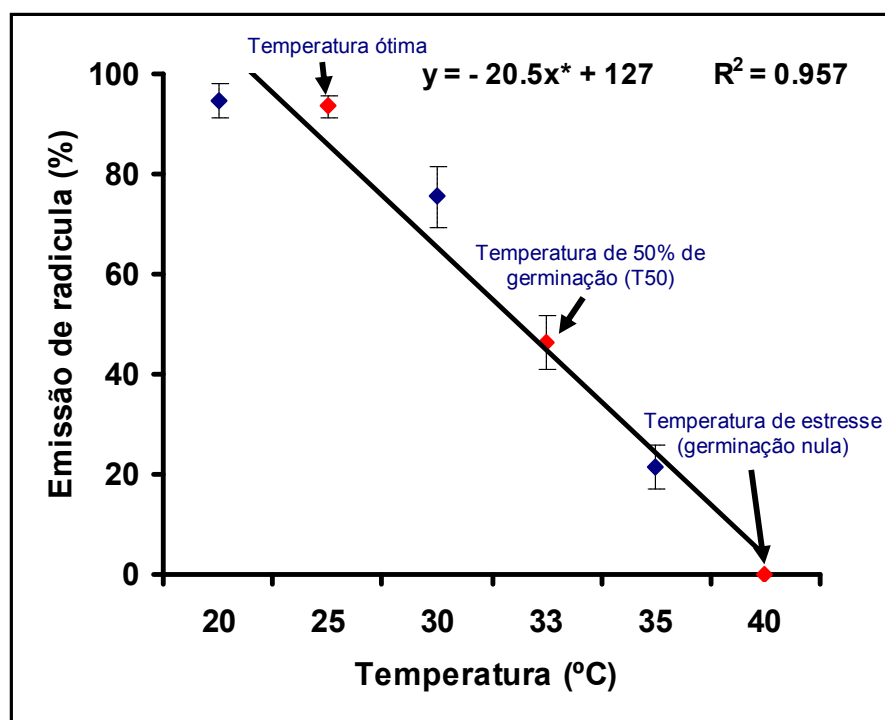
As sementes apresentaram uma germinabilidade inicial de 93%. O peso médio de 1000 diásporos foi de 14,82 g e o de 100 diásporos 1,357 g. O teor de água dos diásporos foi de 10,17%. Duarte et al. (2000) verificaram para diferentes lotes de *M. urundeuva* pesos de 13,08; 17,38 e 17,40 g para 1000 diásporos e teores de água de 9,49; 8,79 e 8,87%. Lucio et al. (2007) registraram 9,62% e Caldeira (2007) verificou 9,7% no teor de água inicial dos diásporos para a mesma espécie.

### 4.2 Comportamento Fisiológico de Sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. submetidas a diferentes fatores abióticos

#### 4.2.1 *Screening* Térmico

A análise de variância demonstrou haver diferença significativa, ao nível de 5% de probabilidade, entre as temperaturas testadas para todas as variáveis analisadas.

O efeito das temperaturas entre 20 e 40°C na germinação de *Myracrodruon urundeuva*, considerando a emissão da raiz primária, são apresentados na Figura 6. Verificou-se que a faixa de temperatura entre 20 e 30°C mostrou-se bastante favorável à germinação das sementes de *M. urundeuva*, porém, apesar da porcentagem de germinação das sementes submetidas a 20°C (95%) ter sido um pouco maior que em 25°C (94%), a temperatura de 25°C foi considerada como ótima e mais favorável para a germinação das sementes, uma vez que nesta temperatura, as sementes apresentaram menor tempo médio de germinação (2,212 dias<sup>-1</sup>) e maior valor de IVG (23,238 sem. dia<sup>-1</sup>) e CUG (2,506 dias<sup>-2</sup>). Esses dados podem ser visualizados na Figura 5 e na Tabela 1.



**Figura 5.** Gráfico representativo da germinabilidade (emissão de radícula) das sementes nas diferentes temperaturas testadas.

**Tabela 1:** Medidas de germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetida a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	n <sub>i</sub>	G (%)	T <sub>m</sub> (dias)	V <sub>m</sub> (dias <sup>-1</sup> )	IVG (sem. dia <sup>-1</sup> )	CUG (dias <sup>-2</sup> )
20	189	95	2, 590	0, 392	19, 792	1, 093
25	187	94	2, 212	0, 453	23, 238	2, 506
30	151	76	2, 399	0, 418	17, 583	2, 083
33	93	47	2, 272	0, 444	11, 454	2, 133
35	43	22	2, 713	0, 410	5, 570	0, 773
40	00	0	----	----	----	----
CV (%) <sup>1</sup>		9.02*	8.76*	3.70*	9.07*	17.99*

n<sub>i</sub>: número de sementes germinadas (emissão de radícula); **G**: Dados médios de germinabilidade; **T<sub>m</sub>**: tempo médio de germinação; **V<sub>m</sub>**: velocidade média de germinação; **IVG**: Índice de Velocidade de Germinação; **CUG**: coeficiente de uniformidade de germinação.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação para os dados transformados em raiz quadrada de Y + 0.5.

Pacheco et al. (2006), estudando o efeito de temperatura e substrato em *M. urundeuva*, encontraram às maiores taxas de germinação (variando entre 79 e 93%) para as temperaturas constantes de 25 e 27°C, respectivamente, em todos os substratos testados. Silva et al. 2002, avaliando uma faixa de temperatura entre 15 e 35°C, na presença e na ausência de luz, observaram que as sementes de *M. urundeuva* apresentaram as maiores germinabilidades entre 20 e 30°C, confirmando assim os dados encontrados no presente estudo. A mesma faixa de

temperatura foi encontrada por Silva et al. (2001), para a espécie *Schinus terebenthifolius* Raddi., outra espécie de aroeira.

Lucio et al. (2006), trabalhando com a mesma espécie verificaram que a temperatura de 20°C foi mais favorável à germinação de aroeira (94%), bem como foi a que propiciou maior IVG, quando comparados aos resultados sob a temperatura de 25°C (89%). Considerando-se que estes autores utilizaram para análise uma amostragem de 100 sementes e que no presente estudo foram utilizadas uma amostragem de 200 sementes, assim, representando melhor a população da espécie, fato que juntamente com a diferença fisiológica que cada lote de semente pode apresentar, possivelmente justifica a diferença nos dados obtidos entre um experimento e outro, porém não os invalida, pois ambos estão dentro da amplitude registrada por outros autores. A temperatura ótima de germinação de sementes está diretamente associada à característica ecológica da espécie (PROBERT, 2000). A faixa de temperatura entre 20 e 30°C tem sido indicada para a germinação de inúmeras espécies florestais (BORGES & RENA 1993).

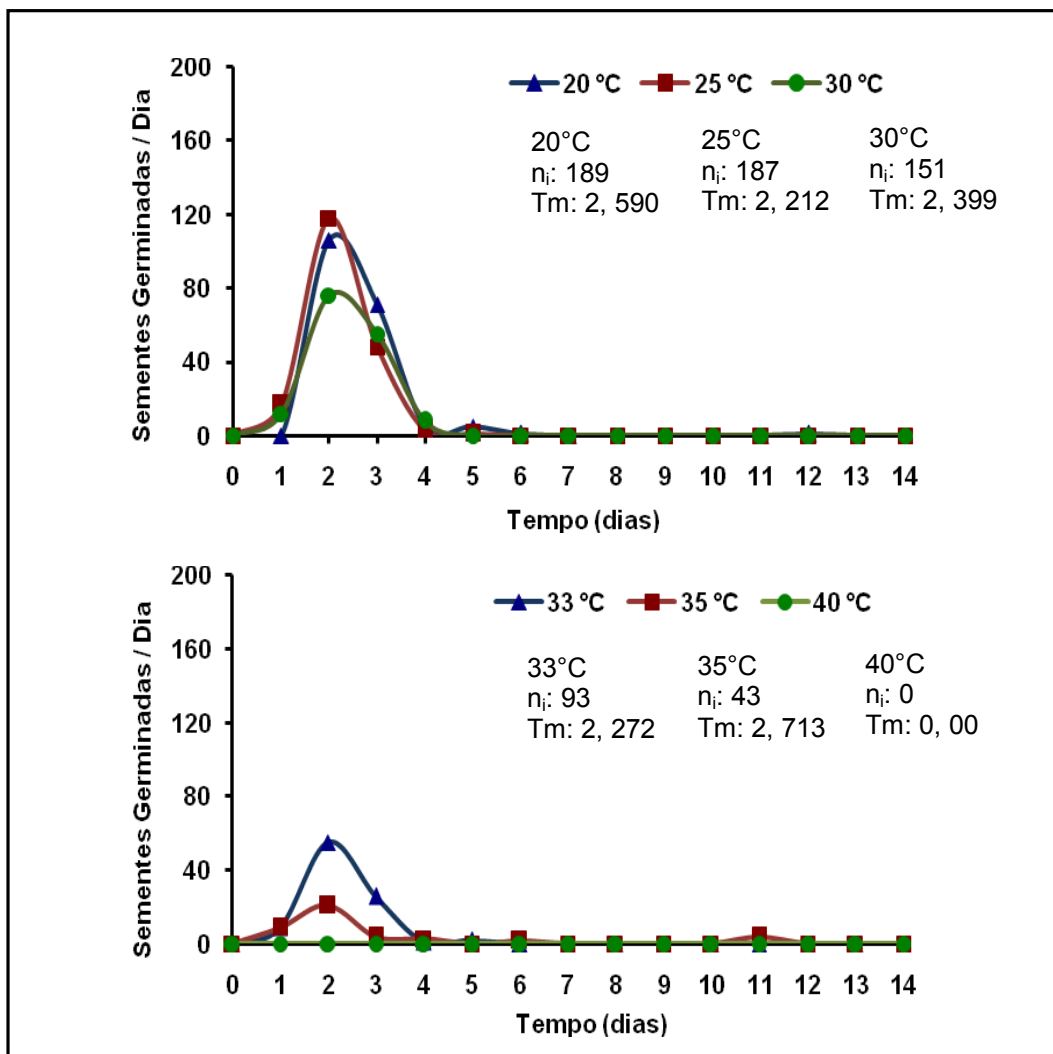
A temperatura de 33°C foi estabelecida no presente estudo como a T50 (Figura 5), que é aquela cuja germinação é próxima de 50%. É importante destacar que, nas temperaturas de 33 e 35°C, apesar do tempo médio de germinação, da velocidade média e o CUG terem apresentado valores próximos aos obtidos para as mesmas medidas nas temperaturas de 25 e 30°C verificou-se que os valores de IVG foram inferiores, pois estas medidas são dependentes do número total de sementes germinadas, o que nessas temperaturas foram baixas (47 e 22%, respectivamente) (Tabela 1).

Não houve emergência de raiz primária na temperatura de 40°C, sendo assim, considerou-se esta como a temperatura de estresse e em função da taxa nula de germinação, nenhum parâmetro foi avaliado. Este resultado também foi encontrado por Silva et al. (2002) para a mesma espécie. Essa sensibilidade à variação da temperatura é caracterizada como termoinibição (SOUSA et al, 2008). Borges & Rena (1993) afirmam que temperaturas extremas marcam o limite de ocorrência da germinação, sendo que acima do limite superior e abaixo do limite inferior pode ocorrer a morte das sementes. Acredita-se que este fenômeno possa

ter ocorrido em sementes de *M. urundeuva*, pois ao final dos 14 dias de avaliação do experimento as sementes encubadas a 40°C, apresentavam-se escurecidas e com incidência de muitos fungos. Mesmo após terem sido lavadas e transferidas para sua temperatura ótima de germinação (25°C), as sementes não germinaram, inferindo-se assim que a perda da germinabilidade tenha se dado por morte do embrião.

Na Figura 6, pode-se acompanhar a partir dos gráficos de frequência absoluta, a distribuição da germinação ao longo do tempo de duração do experimento, nos quais se verificou que com o aumento da temperatura houve um aumento no tempo médio para iniciar o processo de germinação das sementes de aroeira. Nas temperaturas de 20, 25 e 30°C o pico de germinação se deu em torno do 2º dia após a sementeira, sendo o menor tempo registrado para as sementes semeadas a 25°C. Nas temperaturas de 30 e 35°C este pico aproximou-se do 3º dia após a sementeira. Nas temperaturas de 20 a 35°C, apesar das diferenças no número de sementes germinadas, as curvas de germinação apresentaram um padrão normal (ou gaussiano) na distribuição temporal. Este padrão também foi observado por Rosa e Ferreira (1998) em sementes de brêdo (*Talinum patens*) sob temperatura de 25°C.

Verifica-se assim que os diásporos de *Myracrodruon urundeuva*, em temperaturas ótimas, apresentam alta porcentagem de germinação, superior a 60%, em tempo relativamente curto, em torno de 2 a 3 dias. Resultados também confirmados por outros autores (FIGUEIROA, 2002; SILVA et al., 2002; TEÓFILO et al., 2004; DORNELES et al., 2005; PACHECO et al., 2006). Em geral, os resultados encontrados neste trabalho corroboram com outros autores, onde também estudando a germinação de diásporos de aroeira, inicialmente as temperaturas alternadas utilizadas foram de 20°C e 30°C, em períodos diferentes, e associados à alternância de luz na maior temperatura (MEDEIROS & CAVALLARI, 1992; MARTINS NETTO & FAIAD, 1995); e de 19°C e 33°C a cada 12 horas (MEDEIROS, 1996; MEDEIROS et al., 2000). À temperatura constante a mais usual foi a de 25°C (FRAYHA, 1999; SALOMÃO e ALLEM, 2001; TEÓFILO et al., 2004; DUARTE et al., 2006) ou de 26 a 26,5°C (DORNELES et al., 2005).

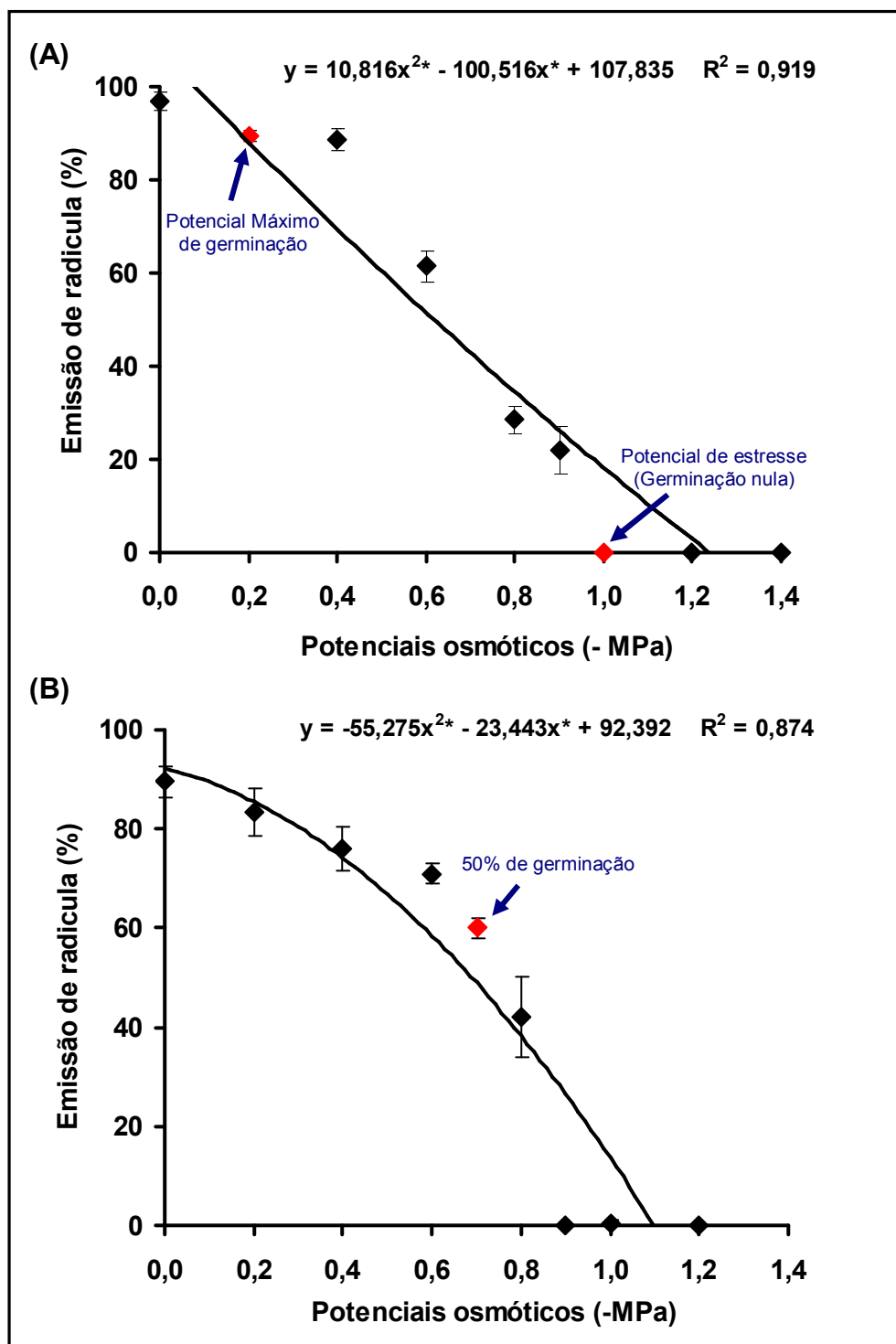


**Figura 6:** Polígonos de freqüências da germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, em função do tempo de incubação em diferentes temperaturas. Dados não-acumulados.  $n_i$ : número de sementes germinadas;  $T_m$ : tempo médio de germinação (dias);

#### 4.2.2 Screening Hídrico

Houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) entre os potenciais osmóticos testados para todas as variáveis analisadas. Os valores médios de porcentagens de germinação, para os nove diferentes níveis de potenciais osmóticos testados em sementes de *M. urundeuva*, nos dois ensaios realizados, estão representados na Figura 7, onde os gráficos de regressão apresentam um declínio da germinação à medida que diminuiu o potencial osmótico (aumento da restrição hídrica no meio de germinação).





**Figura 7.** Médias de germinação (emissão de radícula) em sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes potenciais osmóticos. (A) Ensaio 1 e (B) Ensaio 2.

Visando determinar os potenciais osmóticos que restringiam a germinação das sementes e aquele em que a germinação fosse máxima e de 50%, foram montados dois ensaios. No primeiro ensaio foi possível detectar os potenciais osmóticos máximo e o que verificou-se germinabilidade nula, considerado este como potencial de estresse (Figura 7A). Já no segundo ensaio, que teve a

duração de nove dias, obteve-se o potencial osmótico de 50% de germinação (Figura 7B), bem como resultados da capacidade de recuperação da germinação das sementes pós-estresse, obtidos após transferência das sementes não germinadas para a água. Vale ressaltar que estes dados complementares foram de grande importância para estabelecer os tratamentos para o ensaio de combinação dos fatores abióticos (térmico X hídrico) e as análises bioquímicas subsequentes (capítulo 2), além de embasamento para futuros ensaios de osmocondicionamento com a espécie.

A partir dos potenciais testados, nos ensaios 1 e 2 foi possível estabelecer o potencial osmótico de -0,2 MPa como o potencial mínimo de germinação (90%) para sementes de *M. urundeuva* (Figura 7A), o potencial de -0,7 MPa ficou definido como o potencial de 50% de germinação (Figura 7B) e o de -1,0 MPa como o de estresse (germinabilidade nula).

De modo geral as maiores taxas de germinação foram verificadas nos potenciais zero (97%), -0,2 (90%) e -0,4 (89%). A partir do potencial -0,6 MPa houve uma redução maior na germinabilidade (62%); nos potenciais osmóticos inferiores a -0,8 MPa ocorreu redução acentuada da porcentagem de germinação até sua nulidade, a partir de -1,0 MPa. Carvalho, et al. (2007) encontraram resultados semelhantes para a mesma espécie. Santos, et al. (1992) afirmaram que a embebição depende do gradiente hídrico existente entre a semente e o meio externo; sendo assim, se o potencial osmótico da solução for mais negativo do que aquele apresentado pelas células do embrião esta dificultará a absorção da água necessária para a germinação de semente.

Na germinação de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis*), espécie nativa da caatinga, Antunes (2008) registrou a manutenção da capacidade germinativa das sementes nos maiores potenciais osmóticos (-0,2, -0,4, -0,6 MPa) e em níveis altos (88; 90 e 87,33% respectivamente) e queda bastante significativa da germinação nos potenciais de -0,8 e -1,0 MPa (53,33 e 1,33%, respectivamente), sendo a mesma nula a -1,2 MPa. Em se tratando de espécies de caatinga, é provável que sob condições hídricas muito desfavoráveis as sementes evitem a germinação como estratégia de sobrevivência, a fim de

garantir o estabelecimento das futuras plântulas (BEWLEY & BLACK, 1982; FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

Ribeiro (2008) estudando a influência da restrição hídrica imposto por PEG 6000 na germinação de sementes de glirícidia (*Gliricidia sepium*), espécie também ocorrente no semiárido nordestino, verificou que em potenciais inferiores a -1,0 MPa, a germinação das sementes foi significativamente reduzida, chegando a taxa nula a -1,4 MPa. Sefora (2008), também estudando *Gliricidia sepium*, utilizando apenas os potenciais 0,0; -0,5; -1,0 e -2,0 MPa, verificou que a porcentagem de germinação foi reduzida pela metade quando o potencial osmótico baixou de 0,0 MPa para -0,5 MPa, chegando a valores nulos no potencial osmótico de -2,0 MPa.

Jeller e Perez (2001) verificaram a inibição completa da germinação de sementes de *Senna spectabilis* a partir de -0,8 MPa. Já Silva et al (2005), estudando o efeito do estresse hídrico sobre a germinação de sementes de faveleira (*Cnidoscolus juercifolius*), uma espécie endêmica do semiárido nordestino, observaram a inibição completa da germinação a partir de -0,9 MPa. Para Bewley & Black (1994) a inibição na emergência da raiz principal decorrente de uma disponibilidade menor de água relaciona-se freqüentemente a reduções na atividade de algumas enzimas com prejuízo ao metabolismo geral das sementes.

Nas Tabelas 2 e 3, são apresentadas as medidas de germinação calculadas durante o *screening* hídrico. Verificou-se uma redução na germinabilidade das sementes de *M. urundeuva* à medida que o potencial osmótico da solução foi reduzido. Esse decréscimo também pode ser verificado para outros parâmetros como o índice de velocidade de germinação (IVG) e o coeficiente de uniformidade (CUG); para o tempo médio de germinação (Tm), a restrição hídrica, promoveu um atraso na expansão e divisão das células, conseqüentemente na emissão da raiz.

**Tabela 2.** Medidas de germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes potenciais osmóticos durante a germinação. Ensaio de 14 dias.

PO (MPa)	n <sub>i</sub>	G (%)	Tm (dias)	Vm (dias <sup>-1</sup> )	IVG (sem. dia <sup>-1</sup> )	CUG (dias <sup>-2</sup> )
0,0	194	97	1,985	0,504	25,875	6,286
-0,2	179	90	2,419	0,414	19,840	1,698
-0,4	177	89	2,990	0,335	15,663	2,096
-0,6	123	62	5,283	0,190	6,320	0,379
-0,8	57	29	9,423	0,106	1,554	0,613
-0,9	43	22	8,243	0,121	1,331	0,629
-1,0	00	00	----	----	----	----
-1,2	00	00	----	----	----	----
-1,4	00	00	----	----	----	----
<b>CV (%)<sup>1</sup></b>		8.67*	2.08*	0.60*	5.65*	17.73*

n<sub>i</sub>: número de sementes germinadas (emissão de radícula); **G**: Dados médios de germinabilidade; **Tm**: tempo médio de germinação; **Vm**: velocidade média de germinação; **IVG**: Índice de Velocidade de Germinação; **CUG**: coeficiente de uniformidade de germinação.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação para os dados transformados em raiz quadrada de Y + 0.5

**Tabela 3.** Medidas de germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a diferentes potenciais osmóticos durante a germinação. Ensaio de 9 dias.

PO (MPa)	n <sub>i</sub>	G (%)	Tm (dias)	Vm (dias <sup>-1</sup> )	IVG (sem. dia <sup>-1</sup> )	CUG (dias <sup>-2</sup> )
0,0	179	90	2,112	0,474	21,708	11,513
-0,2	167	84	2,670	0,375	16,740	1,917
-0,4	152	76	3,205	0,313	12,830	1,366
-0,6	142	71	4,813	0,209	8,108	0,446
-0,7	120	60	5,103	0,196	6,317	0,494
-0,8	84	42	7,319	0,137	3,050	0,536
-0,9	00	00	----	----	----	----
-1,0	01	01	----	----	----	----
-1,2	00	00	----	----	----	----
<b>CV (%)<sup>1</sup></b>		9.87*	2.63*	0.80*	7.80*	33.16*

n<sub>i</sub>: número de sementes germinadas (emissão de radícula); **G**: Dados médios de germinabilidade; **Tm**: tempo médio de germinação; **Vm**: velocidade média de germinação; **IVG**: Índice de Velocidade de Germinação; **CUG**: coeficiente de uniformidade de germinação.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação para os dados transformados em raiz quadrada de y + 0.5

Porém vale ressaltar que o IVG é influenciado pelo número total de sementes que germinam nas condições do ensaio e, portanto, é adequado para comparações somente quando as amostras ou os tratamentos apresentarem o mesmo número de sementes germinadas (SANTANA & RANAL, 2004).

Isto é nitidamente observado nos resultados obtidos, onde se verifica que, nos potenciais -0,2 e -0,4 MPa, apesar de as sementes apresentarem uma germinabilidade alta, seus valores foram semelhantes (90 e 89%, respectivamente no ensaio 1 e 84 e 76%, respectivamente no ensaio 2), porém por já haver um efeito da restrição hídrica provocando um retardo no início do processo germinativo, os valores de IVG no potencial de -0,2 MPa apresentaram-se maiores que o do potencial -0,4 MPa (19,840 e 15,663, respectivamente no ensaio 1 e 16, 740 e 12, 830, respectivamente no ensaio 2), verificando assim que com o aumento do estresse hídrico, as sementes apesar de germinarem, o processo ocorre mais lentamente. Em condições naturais, esse aumento do tempo poderia estar atuando de forma positiva no estabelecimento das plântulas, pois desta forma a germinação das sementes que permanecem viáveis pode ser distribuída no tempo e no espaço, aumentando a probabilidade das plântulas encontrarem condições ambientais adequadas para seu crescimento e desenvolvimento (BEWLEY & BLACK, 1994).

Esses dados demonstram que na germinação de sementes de *M. urundeuva*, uma restrição hídrica moderada permite que as sementes completem o processo germinativo de maneira eficiente, porém num maior espaço de tempo. Por outro lado, em condições de deficiência hídrica mais elevada, como verificado nos potenciais de -0,6 a -0,8 MPa, as sementes levaram muito mais tempo para germinar ou evitaram a germinação como verificado nos potenciais de -0,9 MPa em diante).

Os resultados deste trabalho corroboram com os obtidos por Fonseca e Perez (2003) que verificaram maior tempo requerido para a germinação quando o potencial osmótico foi reduzido da testemunha até -0,5 MPa, para a espécie *Adenantha pavonina* (olho-de-dragão). O mesmo foi observado para as espécies *Bowdichia virgilioides* (sucupira) (SILVA et al., 2001), *Peltophorum dubium* (canafístula) (PEREZ et al., 2001), *Senna occidentalis* (fedegoso) (DELACHIAVE e PINHO, 2003) *Chorisia speciosa* (paineira) (FANTI e PEREZ, 2003).

Na Tabela 4 são mostrados os dados complementares coletados durante o experimento. É importante verificar que nem todas as sementes que emitiram raiz

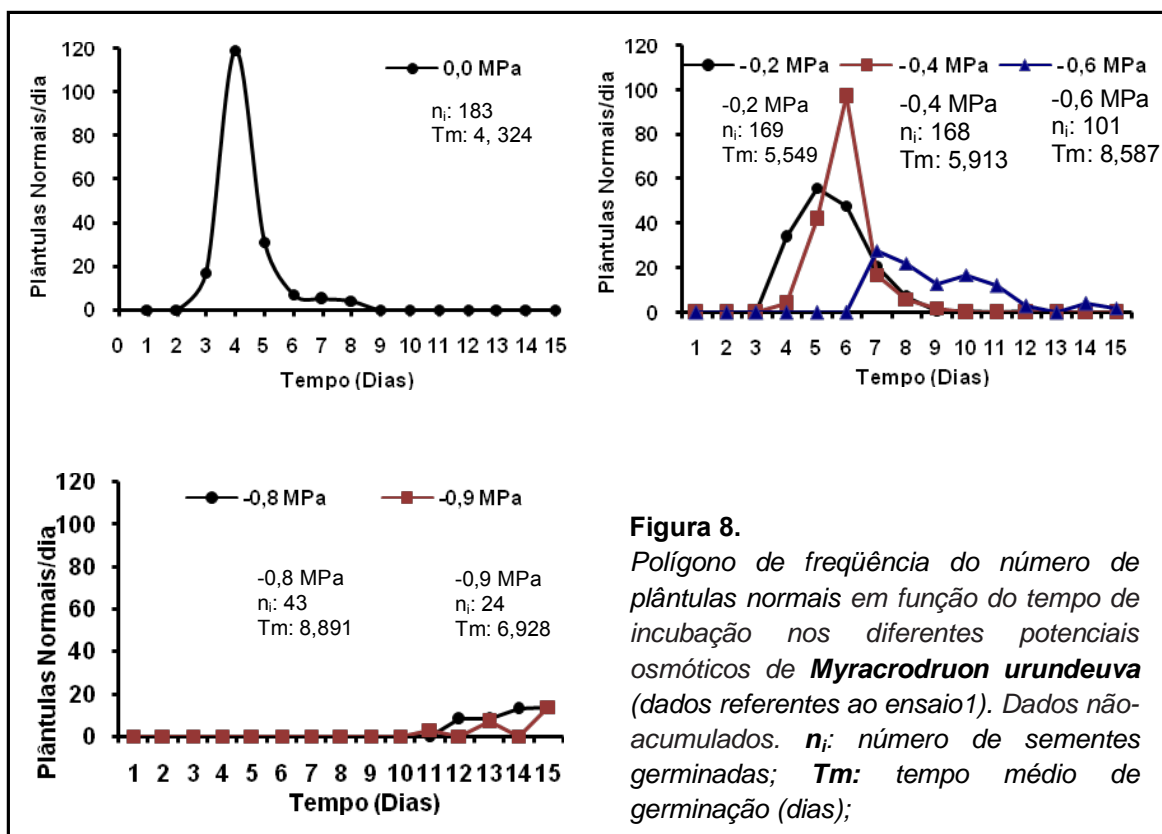
conseguiram ao longo do experimento estabelecer-se como plântula, porém a análise fisiológica da influência do estresse hídrico aplicado não mudou em termos de porcentagem de germinação quando tomado como parâmetro o número de plântulas normais germinadas (critério agrônômico).

**Tabela 4.** *Dados médios de porcentagem de sementes com emissão de radícula, germinação de plântulas normais, anormais deformadas e deterioradas, de sementes não germinadas e mortas de **Myracrodruon urundeuva** submetidas a diferentes potenciais osmóticos (dados referentes ao ensaio1).*

PO (MPa)	Emissão de radícula		Plântulas Normais		Plântulas anormais		Não Germ.	Sementes Mortas
	%	IVG	%	IVG	Det.	Def.	%	%
0,0	97	25, 875	92	10, 999	00	05	03	0,5
-0,2	90	19, 840	85	7, 967	00	06	10	01
-0,4	89	15, 663	84	7, 242	00	01	11	00
-0,6	62	6, 320	51	2, 862	05	06	35	04
-0,8	29	1, 554	22	0, 553	01	03	69	03
-0,9	22	1, 331	12	0, 203	00	03	80	0,5
-1,0	00	0, 000	00	0, 000	00	00	99	01
-1,2	00	0, 000	00	0, 000	00	00	100	00
-1,4	00	0, 000	00	0, 000	00	00	100	0,5

Em estudos fisiológicos, o termo germinação restringe-se à emergência da radícula e indica o final da germinação, sendo o desenvolvimento subsequente considerado pós-germinativo (BEWLEY & BLACK 1994), porém em estudos ecológicos, silviculturais e de tecnologia de sementes, a emergência da radícula não constitui indício capaz de prever o estabelecimento da plântula, principalmente quando se visa à produção de mudas. Portanto, as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992) recomendam o uso dos parâmetros plântula normal, anormal entre outros. A formação da plântula normal é critério fundamental e deve ser considerada na determinação de condições ótimas de germinação das espécies florestais, considerando que as exigências para o subsequente desenvolvimento pós emergência da radícula podem mudar, conforme o desenvolvimento das diversas partes da plântula.

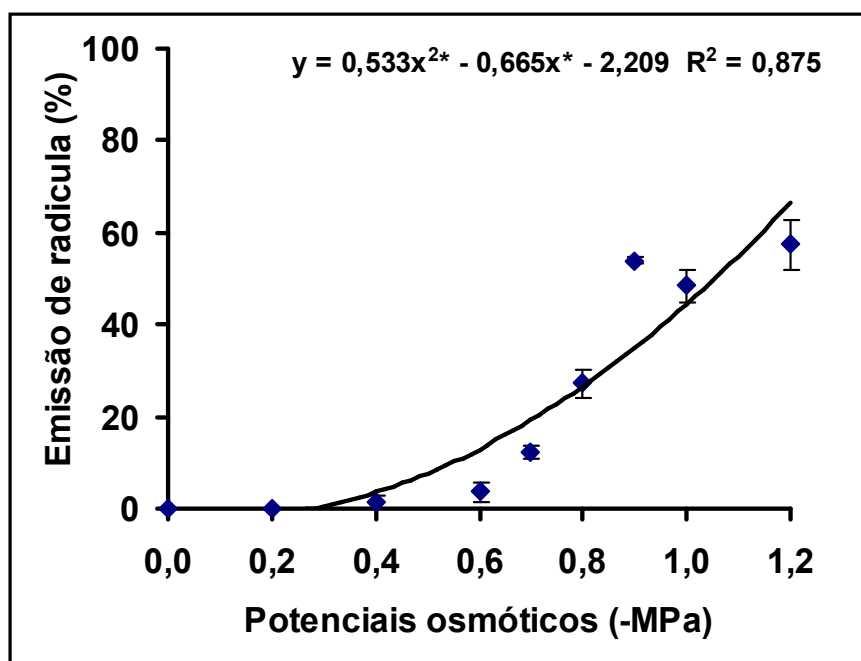
Reforçando-se a análise, na figura 8, pode-se verificar que à medida que o potencial osmótico tornou-se mais negativo, as plântulas, por consequência, também levaram mais tempo para se desenvolver.



Silva et al. (2005) analisando comportamento germinativo, através da frequência relativa na germinação de sementes de faveleira (*Cnidoscylus juercifolius*) verificaram que o tempo médio e o primeiro dia de ocorrência de germinação foram deslocados para a direita, à medida que o potencial hídrico do meio foi reduzido. Este comportamento germinativo, analisado através da frequência relativa, foi também verificado em sementes de orelha-de-dragão (*Adenantha pavonina*) (FANTI & PEREZ, 1998) e de barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum*) (TAMBELINE & PEREZ, 1998).

Os dados referentes à avaliação das sementes germinadas em água após condicionamento osmótico estão expressos no gráfico de regressão da figura 9. A partir desses dados, pode-se verificar que as maiores porcentagens de germinação (54, 48 e 58%, respectivamente), assim como o IVG (Tabela 5), foram registradas para as sementes condicionadas inicialmente nos potenciais mais negativos (-0,9; -1,0 e -1,2 MPa, respectivamente). Os dados demonstram que a capacidade germinativa das sementes foi mantida após exposição à restrição hídrica induzida. Por esta razão, estes potenciais osmóticos, podem ser

considerados como potenciais adequados para aplicação da técnica de osmocondicionamento para a espécie.



**Figura 9.** Médias de germinação (emissão de radícula) de sementes de *Myracrodruon urundeuva* germinadas em água após condicionamento osmótico (sementes do ensaio 2).

Virgens et al. (2008), verificaram que sementes de *M. urundeuva*, submetidas a -1,0 MPa, após transferência para água apresentaram 85% de germinação, sugerindo também este potencial para o pré-condicionamento de sementes desta espécie. Borges et al. (2002) estudando o osmocondicionamento em sementes de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens*), espécie florestal de ocorrência no cerrado, quando mantidas em solução -0,4 MPa de PEG 6000 por 120 horas, tiveram 66% de germinação quando transferidas para água.

Importante sinalizar também que apesar de as sementes terem apresentado capacidade germinativa após o condicionamento osmótico este só se deu na faixa de 50%, diferente do que foi encontrado por Virgens et al. (2008) para a mesma espécie. Esse resultado pode ter sido influenciado pelo tempo de exposição das sementes à solução osmótica, assim como deve-se considerar também a possibilidade de perda da viabilidade do lote, o grau de maturidade das sementes ou até mesmo do aparecimento de uma dormência secundária, mas para isso,



estudos mais aprofundados necessitam ser feito para possibilitar uma análise mais conclusiva.

A partir das medidas de germinação calculadas (Tabela 5), pode-se verificar também que as sementes que estiveram em contato com as soluções osmóticas, após transferência para água atingiram sua germinabilidade máxima em menos tempo ( $T_m$ ) e em maior velocidade ( $V_m$ ) que as sementes do tratamento controle (0,0 MPa) do *screening* hídrico (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 5.** Medidas de germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* germinadas em água após condicionamento osmótico (sementes do ensaio 2). 9 dias

PO (MPa)	$n_t$	$n_i$	G (%)	$T_m$ (dias)	$V_m$ (dias <sup>-1</sup> )	IVG (sem. dia <sup>-1</sup> )	CUG (dias <sup>-2</sup> )
0	18	0	00	----	----	----	----
-0,2	33	0	00	----	----	----	----
-0,4	49	1	01	0,500	0,125	0,125	0,250
-0,6	61	2	04	0,750	0,375	0,375	0,000
-0,7	81	10	12	1,625	0,629	1,750	3,338
-0,8	124	33	27	1,333	0,752	6,875	4,496
-0,9	200	109	54	1,627	0,615	19,229	2,616
-1,0	198	95	48	1,503	0,672	19,156	2,669
-1,2	200	114	58	1,527	0,672	22,446	1,503
<b>CV (%)<sup>1</sup></b>			16.89*	18.01*	10.71*	11.21*	19.65*

$n_t$ : número total de sementes não germinadas por tratamento durante o *screening* hídrico;  $n_i$ : o número total de sementes germinadas após transferência para água; **G**: Dados médios de germinabilidade; **T<sub>m</sub>**: tempo médio de germinação; **V<sub>m</sub>**: velocidade média de germinação; **IVG**: Índice de Velocidade de Germinação; **CUG**: coeficiente de uniformidade de germinação.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação para os dados transformados em raiz quadrada de  $Y + 0.5$

Quanto à germinação das sementes em água após o condicionamento osmótico, pode-se assumir que as sementes mesmo quando submetidas a potenciais osmóticos negativos tornam-se fisiologicamente ativas, mobilizam reservas e iniciam seu processo germinativo sem atingir a fase de alongamento celular, mesmo após alguns dias de contato com a solução osmótica. Isto ocorre porque o efeito da embebição das sementes em uma solução osmótica é a hidratação, porém de forma restrita, limitada, permitindo que alguns eventos metabólicos do processo germinativo aconteçam sem que a germinação seja completada (De CASTRO et al., 2004a).

A partir dos dados obtidos, outro aspecto a ser discutido é a necessidade de se testar diferentes tempos de exposição à solução osmótica a fim de se estabelecer o tempo ideal para o condicionamento, caso se queira conduzir futuros estudos de osmocondicionamento com a espécie. Isso porque a depender do tempo de exposição à solução osmótica a semente pode perder sua capacidade germinativa, como foi verificado no ensaio 1 quando as sementes que ficaram expostas a solução osmótica por 14 dias não germinaram quando transferidas para água (dados não apresentados). Pode-se associar este fenômeno ao fato de que, embora o PEG 6000 não seja absorvido em virtude do seu alto peso molecular, as soluções preparadas com tal substância podem apresentar alta viscosidade, que somada à baixa difusão de oxigênio ( $O_2$ ), podem comprometer a disponibilidade de oxigênio para as sementes, durante o processo germinativo, o que pode ocasionar a perda da viabilidade da semente em virtude da morte do embrião (BRACCINI et al., 1996).

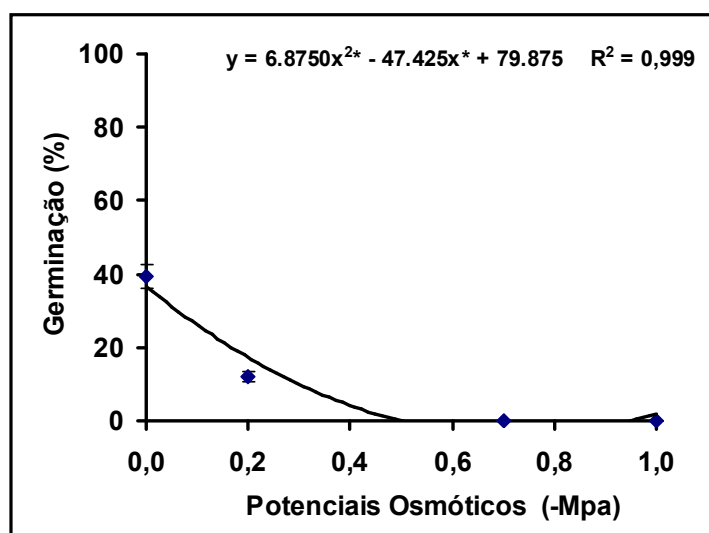
Sob condicionamento osmótico, Os eventos do processo de germinação são iniciados mesmo em limitada disponibilidade de água para a semente, pois o que ocorre fisiologicamente é que, em geral, a fase I (absorção de água) ocorre normalmente, entretanto, a fase II quando o potencial osmótico da solução é aproximado ao potencial osmótico do embrião, esta torna-se relativamente mais extensa, de modo que o início da fase III é atrasada. Em outra situação, quando o potencial osmótico da solução é mais negativo que o do embrião, a fase III então não ocorrerá, sendo o processo germinativo mantido continuamente na fase II. Neste caso, o processo de germinação não é completado devido ao requerimento de absorção de água adicional para iniciar a fase III do processo metabólico, que volta a ocorrer em condições favoráveis (DE CASTRO et al., 2004a). Isto explica o que foi verificado a partir do experimento conduzido.

Antunes (2008) em estudo sobre o comportamento germinativo de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis*) sob efeito de estresse hídrico durante armazenamento, registrou, que quando as sementes embebidas na solução osmótica de -1,2 MPa (potencial de germinabilidade nula) foram transferidas para a água, também houve excelente recuperação da germinação (no mês zero (86%), e após o três (82%) e seis meses (84%) de armazenamento).

Sementes “(pré-) iniciadas” com o método de *priming* (ou osmocondicionamento) germinam mais rapidamente, de modo mais simultâneo e uniforme, do que as sementes sem o tratamento; por isso podem também ser chamadas (inconclusivamente) de sementes envigoradas (DE CASTRO et al., 2004b). Os dados referentes às sementes de aroeira germinadas em água após o condicionamento osmótico corroboram com esta teoria, porém vale salientar, que o procedimento efetuado com as sementes de aroeira neste experimento, foi apenas uma averiguação da capacidade germinativa das sementes em água após o período de exposição a solução osmótica. Não se tratando exatamente do método de osmocondicionamento executado comercialmente, o qual envolve outros procedimentos, que no momento não é o enfoque do trabalho proposto.

#### 4.2.3 Combinação dos Fatores Abióticos (Térmico x Hídrico)

As análises de variância para os dois ensaios demonstraram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para todas as variáveis analisadas. No ensaio 1 (Figura 10), onde foi combinada a temperatura de 33°C (T50) com os potenciais osmóticos 0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa, pode-se verificar que só germinaram as sementes do tratamento -0,2 MPa/33°C, porém apresentando uma germinabilidade muito baixa (apenas 12%).



**Figura 10.** Germinação de sementes (emissão de radícula) de *Myracrodruon urundeuva* submetidas à combinação de fatores abióticos. Temperatura de 33° C (T50) com os potenciais osmóticos 0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa (Ensaio 1).

Avaliando-se os dados de formação de plântulas (Tabela 6) pode-se destacar que os valores obtidos nos tratamento 0,0 MPa/33 °C, onde dos 40% das sementes que emitiram raiz, apenas 17 % se tornaram plântulas normais, 21% anormais deterioradas e os 2% restante morreram. Esses resultados indicam que altas temperatura e diminuição dos potenciais osmóticos reduzem a germinabilidade e o vigor das sementes e que estas não toleram o estresse combinado nas fases iniciais do seu desenvolvimento.

**Tabela 6.** Dados médios de porcentagem de sementes com emissão de radícula, germinação de plântulas normais, anormais e de sementes não germinadas de *Myracrodruon urundeuva* submetidas à combinação de fatores abióticos teste de germinação . Temperatura de 33° C (T50) com os potenciais osmóticos 0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa (**Ensaio 1**).

Tratamentos	Emissão de radícula (%)	Plântulas (%)		Sementes não germinadas (%)
		normais	anormais	
0,0 / 33 °C	40	17	21	60
- 0,2 / 33 °C	12	4	8,5	88
- 0,7 / 33 °C	0	0	0	100
- 1,0 / 33 °C	0	0	0	100

No ensaio 2 (Tabela 7), onde foram combinados o potenciais hídrico de -0,7 MPa ( $\psi_{50}$ ) com as temperaturas de 25°C (ótima), de 33 °C (T50) e a máxima de germinação (40°C), verificou-se que somente no tratamento controle (0,0 MPa / 33°C) houve as maiores taxas de germinabilidade das sementes; a combinação dos fatores influenciaram negativamente no processo germinativo das sementes de aroeira

**Tabela 7.** Dados médios de porcentagem de sementes com emissão de radícula, germinação de plântulas normais, anormais e de sementes não germinadas de *Myracrodruon urundeuva* submetidas à combinação de fatores abióticos durante teste de germinação (**Ensaio 2**).

Tratamentos	Emissão de radícula (%)	Plântulas (%)		Sementes não germinadas (%)
		normais	anormais	
0,0 / 25 °C	90	84	08	10
- 0,7 / 25 °C	01	00	00	99
0,0 / 33 °C	40	17	21	60
- 0,7 / 33 °C	00	00	00	100
0,0 / 40 °C	00	00	00	100
- 0,7 / 40 °C	00	00	00	100

Poucos estudos têm sido desenvolvidos para investigar o efeito da combinação de fatores abióticos na germinação de sementes, porém os dados obtidos neste trabalho corroboram com Souza et al. (2008), que estudando o

efeito da interação de estresses abióticos (hídrico x térmico) sobre a germinação de *Physalis angulata* comprovaram que a combinação dos fatores em níveis estressantes para a espécie influenciou negativamente a germinação. O mesmo foi verificado por Ribeiro et al. (2008) em sementes de espécies ocorrentes na caatinga sob efeito de estresse combinado (seca x calor) e Antunes et al. (2008) em sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.).

## 5 CONCLUSÕES

A partir do estudo realizado foi possível compreender o comportamento fisiológico das sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All quando submetidas a diferentes intensidades dos fatores abióticos essenciais para o início do processo germinativo (água e temperatura), de forma que diante dos objetivos previstos e para as condições experimentais nas quais foram conduzidas o estudo foi possível estabelecer que sob condições ótimas (temperatura e disponibilidade hídrica), os diásporos de *Myracrodruon urundeuva* apresentam, além de rápida germinação, uma alta porcentagem (superior a 60%), em tempo relativamente curto (em torno de 2 a 3 dias), podendo-se desta forma, enquadrar a aroeira-do-sertão entre as espécies lenhosas pioneiras, estrategicamente permitindo a esta a rápida exploração das condições favoráveis para a germinação no ambiente. Por outro lado, em condições de deficiência hídrica mais elevada e nas temperaturas entre 30 e 40°C as sementes apresentam menores taxas de germinação além de levarem muito mais tempo para germinar ou evitaram a germinação, constituindo assim condições de estresse para a espécie. A combinação dos fatores (térmico x hídrico) resultou em baixas ou nulas porcentagens de germinação, indicando que altas temperatura e diminuição dos potenciais osmóticos reduzem a germinação e o vigor das sementes e que estas não toleram a combinação de fatores intermediários e limitantes. Verifica-se com isto que a restrição hídrica e altas temperaturas constituem uma condição desfavorável para o desenvolvimento germinativo inicial e o estabelecimento de *M. urundeuva* quando submetida a longos períodos de estiagem, o que ocorre nas regiões semi-áridas do Brasil, onde a espécie é amplamente distribuída. Outro aspecto a ser considerado é que para sementes de *M. urundeuva* condicionadas em potenciais baixos (-0,9; -1,0 e -1,2 MPa), estes podem ser considerados ótimos potenciais para condicionamento osmótico que visem futuros ensaios de osmocondicionamento com a espécie, recomendando-se apenas alguns estudos complementares para se testar diferentes tempos de exposição a solução osmótica a fim de estabelecer o tempo ideal para o condicionamento, assim como avaliar a viabilidade, vigor ou a possível de existência de dormência secundária da semente quando submetida ao tratamento.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, P., VERÍSSIMO, A., BARRETO, P., VIDAL, E. (Ed.). **Floresta para sempre: um manual para a produção de madeira na Amazônia**. Belém: Imazon, 1998. 137 p.

ANTUNES, C. G. C.; SOUZA, C. L. M.; RIBEIRO, R. C.; GOMES, H. L. R.; SOUZA, J. V.; PELACANI, C. R. Estresse combinado (secaxcalor) na germinação de sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. In: Workshop Bioprospecção de Plantas Nativas do Semi-Árido, 2008, Aracaju. **Anais** do II Workshop Bioprospecção de Plantas Nativas do Semi-Árido, 2008.

ANTUNES, cimille gabrielle Cardoso. ***Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leguminosae-Caesalpinioideae): longevidade, caracterização fisiológica da germinação de sementes e crescimento inicial**. 2008. 101 p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – UEFS, Feira de Santana, Bahia.

ARAÚJO, F. S. et al. Florística da vegetação arbustivo-arbórea colonizadora de uma área degradada por mineração de caulim, Brás Pires, MG. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.107-116, 2005.

BANSAL, R.P.; BHATI, P.R.; SEN, D.N. Differential specificity in water inhibition of Indian arid zone. **Biologia Plantarum**, Praha, v.22, p.327-331, 1980.

BARBEDO, C. J.; MARCOS-FILHO, J. Tolerância à dessecação de sementes. **Acta Botânica Brasílica**, São Paulo, v.12, n.2, p.145-164, 1998.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. Academic Press. London, 1998. 666 p.

BEAL, B. H.; MANFREDINI, R. C.; VOIGT, E. L. Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). In: Congresso Brasileiro de Botânica, 2003, Belém - PA. **Anais** Congresso Brasileiro de Botânica, 2003.

BERGER, A. P. A. et al. Emergência de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) do Vale do Rio Araguari, MG. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p. 1029-1031, 2007.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**: development, germination and growth. London: Springer, 1982.

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

BLAKE, T. J. Transplanting shock in white spruce: Effect of cold storage and root pruning on water relations and stomatal conditioning. **Plant Physiology**. Lancaster, v.57, p.210-216, 1993

BLAKE, T.J. Transplanting shock in white spruce: Effect of cold storage and root pruning on water relations and stomatal conditioning. **Plant Physiology**, Lancaster, v.57, p.210-216, 1993.

BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. 350 p.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑARODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes de espécies florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p. 133-135.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.). **Germinação: Do Básico ao Aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 2004. 324 p.

BRACCINI, A.L. et al. Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietilenoglicol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.18, n.1, p.10-16, 1996.

BRACCINI, A.L. et al. Influência do potencial hídrico induzido por polietilenoglicol na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.33, n.9, p.1451-1459, 1998.



- BRADFORD, K. J. A water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiol.** v.94, p.840-849. 1990
- BRADFORD, K.J. Water relations on seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination.** New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA, DNDV, CLAV, 1992. 365p.
- CALDEIRA, S.F. **Conservação, viabilidade e vigor de diásporo e crescimento inicial de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem.).** 2007. 183p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos: UFSCar, São Paulo.
- CARON, B. O. et al. Análise de crescimento de plantas de aroeira vermelha no município de Ji-Paraná, RO. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.14, n.1, p.1-13, 2007.
- CARVALHO, D. M.; VIRGENS, I. O.; TEIXEIRA, N. C.; FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D.; LOUREIRO, M. B. Avaliação do Estresse Hídrico na Germinação de Sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007, Caxambu - MG. **Anais...** VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. p.129-164.
- DA SILVA, J.B.; RODRIGUES, T. J. D.; VIEIRA, R. D.. Desempenho de sementes de soja submetidas a diferentes potenciais osmóticos em polietilenoglicol. **Ciência Rural**, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1634-1637, 2006.
- 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**, v. 12, p. 105-136, 2000.

DE CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.).

**Germinação: Do Básico ao Aplicado.** Porto Alegre: Artmed. 2004a. p.51-67.

DE CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.).

**Germinação: Do Básico ao Aplicado.** Porto Alegre: Artmed. 2004b. p.149-162.

DELACHIAVE, M. E. A.; PINHO, S. Z. Germination of *Senna occidentalis* Link: seed at different osmotic potential levels. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Botucatu, v. 46, p.163-166, 2003.

DORNELES, M.C.; RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.28, n.2, p.399-408, 2005.

DUARTE, E.F.; MORAIS, O.M.; NAKAGAWA, J. Avaliação da germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem.) Anacardiaceae, em diferentes substratos, com e sem exo e mesocarpo. In: XIII Congresso Da Sociedade Botânica De São Paulo, 2000, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: USP, 2000.

DUARTE, N. F. et al. Seletividade de herbicidas sobre *Myracrodruon urundeuva* (aroeira). **Planta Daninha**, v. 24, n. 2, p. 329-337, 2006.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Efeito do estresse hídrico e envelhecimento precoce na viabilidade de sementes osmocondicionadas de paineira (*Chorisia speciosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 537-543, 2003.

FANTI, S.C.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos do estresse hídrico, salino e térmico no processo germinativo de sementes de *Adenantha pavonina* L. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.167-177, 1998.

FERREIRA, A. G. et al. Germinação de sementes de Asteraceae nativas no Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Botânico Brasileiro**. vol.15, n.2, p. 231-242, 2001.

FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. 2004. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 323p.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: **45<sup>a</sup> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria**. UFSCar, São Carlos, SP, Julho de 2000. p.255-258.

FIGUEIRÔA, J. M. **Efeitos de diferentes níveis de água na germinação e no crescimento de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae)**.

Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2002

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botanica Brasilica**, v.18, n.3, p.573-580. 2004.

FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Ação do polietileno glicol na germinação de sementes de *Adenantha payonina* L. e o uso de poliaminas na atenuação do estresse hídrico sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p.1-6, 2003.

FRAYHA, I.M.V.M. **A germinação da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.): armazenamento, viabilidade dos propágulos e variabilidade intrapopulacional na germinação**. 1999. 84f. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1999.

GONZAGA, T.W.C. et al. Crioconservação de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* Engl.), e baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.5, n.2, p.145-154, 2003.

HARDEGREE, S.P.; EMMERICH, W.E. Effect of polyethylene glycol exclusion on the water potential of solution saturated filter paper. **Plant Physiology**, Lancaster, v.92, p.462-466, 1990.

HENDRICKS, S.B., TAYLORSON, R.B. Variation in germination and amino acid leakage of seeds with temperature related to membrane phase change. **Plant Physiology**, v.581, p.7-11, 1976.

HEYDECKER, W. Glossary of terms. In: HEYDECKER, W. (Ed.). **Seed ecology**, London: Butterworths, 1973, 578 p.

JELLER, H; PEREZ, S. C. J. A. Efeito dos estresses hídrico e salino e da ação de giberilina em sementes de *Senna spectabilis*. **Ciências Florestais**. Santa Maria, v.11,n.1, p.93-104. 2001.

KERBAUY, Gilberto Barbante. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. 45 p.

KERMODE, A.R. Regulatory mechanisms in the transition from seed development to germination: interaction between the embryo and the seed environment. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.) **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.

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

KOSZO, C. R. R. **Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr. e *Eugenia brasiliensis* Lam. em meio ácido**. 2006. 84f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo.

KOTTEK, M.; GRIESER, J.; BECK, C.; RUDOLF, B.; RUBEL, F. 2006: **World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated**. *Meteorol. Z.*, 15, 259-263. DOI: 10.1127/0941-2948/2006/0130. Disponível em: <<http://koeppen-geiger.vu-wien.ac.at/index.htm>>. Acesso em: 03/07/09

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

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, 1983.

LABOURIAU, L.G., **Some effects of deuterium oxide on the isothermal germination of tomato seeds**. Boletim de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, n.38 (141), p. 153-166, 1983a.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Rima Artes e Textos, São Carlos, 2000. 531 p.

LUCIO, A. A. ; SILVA, F.F.S. ; RIBEIRO, L. S. ; DANTAS, B. F. ; KIILL, L. H. P. Comportamento fisiológico de sementes de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Anacardiaceae) submetidas a diferentes temperaturas de germinação. In: XX Seminário Panamericano de Sementes, 2006, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: ABRASEM, 2006.

LÚCIO, A. A.; LOPES, A. P.; DA SILVA, F. F. S.; PEREIRA, M. S.; DANTAS, B. F. **Efeito do Armazenamento em Diferentes Temperaturas e de Embalagens na Germinação de Sementes de Aroeira-do-Sertão**. In: I Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Semi-Árido. **Anais...** Petrolina PE, 2006a.

LUCIO, A. DC. et al. Relações entre variáveis nas análises de sementes de espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p. 697-704, 2007.

MARTINS-NETTO, D.A. & FAIAD, M.G.R. Viabilidade e sanidade de sementes tropicais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília. v.17, n.1, p.75-80. 1995.

MEDEIROS, A. C. S. **Comportamento fisiológico, conservação de germoplasma a longo prazo e previsão de longevidade de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All. (Engl.))**). Jaboticabal: UNESP, 1996.

127p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.  
Universidade Estadual Paulista.

MEDEIROS, A.C.S.; CAVALLARI, D.A.N. Conservação de germoplasma de aroeira (*Astronium urundeuva* (FR.ALL.) ENG.). **Revista Brasileira de Sementes**. v.14, p. 73-75, 1992.

MEDEIROS, A.C.S.; SMITH, R.; PROBERT, R.; SADER, R. Comportamento fisiológico de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) em condições de armazenamento. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 40, p. 85-98, 2000.

METIVIER, J. R. Citocininas e giberelinas. In: FERRI, M. G. **Fisiologia vegetal**. 2ed. São Paulo: EDUSP, 1986. v.2, 392 p.

MICHEL, B. E.; KAUFMANN, M. R. The osmotic potencial of poliethylene glycol 6000. **Plant Physiology**, Rockville, v. 51, n. 5, p. 914-916, 1973.

MIRANDA, W. O.; BRANDÃO, D.O ; NUNES, Y. R. F.; VELOSO, M. D. M.; ARRUDA, D. M. Influência da luz na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) ocorrentes em dois fragmentos de Floresta Estacional Decidual no norte de Minas Gerais. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 2007, Caxambú-MG. **Anais... VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, 2007.

NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. **Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes. Informativo Sementes IPEF - Abril 1998**. Disponível em:  
<<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>>acesso em: 27.03.2007

OLIVEIRA, F.Q. et al. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Rev Bras Farmacogn**, v.17, p.466-476, 2007.

PACHECO, M. V. et al. Efeito da temperatura e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.

PEREZ, S. C. J. G. de A.; FANTI, S. C.; CASALI, C. A. Influência da luz na germinação de sementes de canafístula submetidas ao estresse hídrico. *Bragantia*, Campinas, v. 3, n. 60, p. 155-166, 2001.

PEREZ, S.C.J.G.A. Crescimento e resistência à seca da algarobeira (*Prosopis juliflora* Sw. D.C.) cultivada em solo de cerrado, com ou sem adubo orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.5, p.595-604, 1995.

PROBERT, R.J. The role of temperature in germination ecophysiology. In: FENNER, Michael. **Seed: the ecology of regeneration in plant communities**. 2ª edição, CAB International, 2000, 392 p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001. 906p

RIBEIRO, R. C.; ANTUNES, C. G. C. ; SOUZA, C. L. M. ; PELACANI, C. R. ; CASTRO, R. D. Resposta germinativa de sementes de espécies ocorrentes na caatinga sob efeito de estresse combinado (seca x calor). In: XXI Congresso Panamericano de Sementes e rodada de negócios. **Anais...** Cartagena. 2008.

RIBEIRO, Renata Conduru. **Efeito do Armazenamento na Viabilidade de Sementes de *Gliciridia sepium* (Jacq.) Steud. (LEGUMINOSAE - PAPILIONOIDEAE) Introduzida do Semi-Árido Baiano**. Dissertação (mestrado).2008. Feira de Santana, Bahia.

ROSA, L. S. et al. Avaliação da germinação sob diferentes potenciais osmóticos e caracterização morfológica da semente e plântula de *Ateleia glazioviana* BAILL(TIMBÓ). **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 3, p.306-314. 2005.

ROSA, S. G. T.; FERREIRA, A.G. Germinação de sementes de espécies medicinais do Rio Grande do Sul: *Bromelia antiacantha* Bert., *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) Mccbride e *Talinum patens* (Jacq.) Willdenow. **Acta Botanica Brasílica**. v.12, n.3, p. 515-522, 1998.

SALOMÃO, A.N.; ALLEM, A.C. Polyembryony in angiospermous trees of the brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botanica Brasílica**. v,15, n.3, p.369-378, 2001.

SANTANA, Denise Garcia.; RANAL, Marli Aparecida. **Análise estatística na germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: Editora UnB, Brasília, 2004, 248p.

SANTOS, V.L.M. et al. Efeito do estresse salino e hídrico na germinação e vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.14, n.2, p.189-194, 1992.

SÉFORA, Gil Gomes de Farias. **Estresse Osmótico na Germinação, crescimento e nutrição mineral da Gliricidia (*Gliricidia sepium* Jack. Walp)**. 2008. 49f. Dissertação (Mestrado). CSTR UFCG. Patos – PB.

SILVA, A. P. ; LUZ, S. R. S.; RIBEIRO, R. A M ; RIBEIRO, L. S. ; RIBEIRO, L. de Sá ; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F. Curva de embebição em sementes de Aroeira (*Myacrodruva urundeuva* fr. all). In: REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 2004, Petrolina. **Anais...Reunião Nordestina de Botânica**, 2004.

SILVA, F.A. de M.; MELLONI, R.; MIRANDA, J.R.P. de e CARVALHO, J.G. de. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. **CERNE**, v.6, N.1, p.052-059, 2000.

SILVA, L. M. de M. et al. Estresse hídrico e condicionamento osmótico na qualidade fisiológica de sementes de *Cnidocolus juercifolius*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.1, p.66-72, 2005.

SILVA, L. M. de M.; AGUIAR, I. B.; RODRIGUES, T. de J. D. Seed germination of *Bowdichia virgilioides* Kunth, under water stress. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 5, p.115-118, 2001.



SILVA, L. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, v.26, n.6, p.691-697, 2002.

SILVA, Milena Dutra. **Estudo farmacobotânico de três espécies medicinais da Caatinga em Pernambuco**. 2008. 74f. Dissertação (Mestrado em Botânica). UFRP, Recife-PE.

SIMON, E.W. The Symptoms of calcium deficiency in plants. **New Phytologist**. v.80, p.1–15. 1978.

SMIDERLE, O.J.; SOUSA, R.C.P. Dormência em semente de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth. - Fabaceae – Papilionidae). Pelotas. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 25 n. 2. p. 2003

SOUZA, C.L.M.; ANTUNES, C.G.C.; RIBEIRO, R.C.; GOMES, H.L.R; SOUZA, J. V.; PELACANI, C.R.; DE CASTRO, R.D. Efeito da interação de estresses abióticos (hídrico x térmico) sobre a germinabilidade de *physalis angulata* L. In: Workshop Bioprospecção de Plantas Nativas do Semi-Árido, 2008, Aracaju. **Anais... II Workshop Bioprospecção de Plantas Nativas do Semi-Árido**. Aracaju. 2008.

SOUZA, S. C. A. et al. Conservação de Sementes de *Myracrodruon urundeuva* Freire Allemão (Anacardiaceae) em Diferentes Condições de Armazenamento. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 1140-1142, 2007a.

SOUZA, S.C.A. et al. Germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) submetidas à estocagem. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil. 2007. **Anais...** do VIII Congresso de Ecologia do Brasil Caxambu – MG.

STREET, H.E.; OPIK, H. **The physiology of flowering plants, their growth and development**. 3 ed. USA: Editora Edward Arnold, 1983. 279 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TAMBELINE, M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos do estresse hídrico simulado com PEG (6000) ou manitol na germinação de sementes de barbatimão (*Stryphnodendron polyphyllum* Mart). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.1, p.226-232, 1998.

TEÓFILO, E.M. et al. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.35, n.2, p.371-376, 2004.

TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDEZ, P. D.; ANDRADE, L. A.; NETO, J. D.; QUEIROZ, J. A. Avaliação do potencial hídrico de espécies de Caatinga sob diferentes níveis de umidade no solo. **Revista de Biologia e Ciências da Terra** V.4, nº 2. 2004.

VILLELA, F. A.; FILHO, L.D.; SEQUEIRA, E.L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6.000 e da temperatura. **Pesquisa Agropécuaria Brasileira**, v.26, p.1957-1968, 1991.

VIRGENS, I. O., TELES, C. A. S., CASTRO, R. D., FERNANDEZ, L. G., LOUREIRO, M. B. Avaliação do comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Submetidas a estresse hídrico. In: 59° Congresso Nacional de Botânica, 2008, Natal – RN. **Anais...** 59° Congresso Nacional de Botânica. Natal – RN, 2008.

WENKERT, W. LEMON, E.R.; SINCLAIR, T.R. Leaf elongation and turgor pressure in field grown soybean. **Agronomy Journal**, v.70, n.5, p.761-764, 1978.

## CAPÍTULO 2

### **METABOLISMO GERMINATIVO DE SEMENTES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. Ail. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDAS A FATORES ABIÓTICOS**

## **METABOLISMO GERMINATIVO DE SEMENTES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. AII. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDAS A FATORES ABIÓTICOS**

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar o metabolismo germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. AII. submetidas a estresses abióticos, visando compreender bioquimicamente o efeito de agentes estressores no metabolismo desta espécie. Os metabólitos quantificados foram: carboidratos (açúcares solúveis totais, açúcares redutores, sacarose e amido), proteínas totais e aminoácidos. Cotilédones foram extraídos de sementes embebidas em água destilada ou PEG 6000 em diferentes tratamentos (0,0 MPa/25°C (controle); -1,0 MPa/25°C (sob estresse hídrico) e 0,0 MPa / 40°C (sob estresse térmico), nos seguintes estádios de desenvolvimento: Estádio 1 (sementes secas); Estádios 2 (sementes embebidas); Estádio 3 (sementes com emissão de raiz) e Estádio 4 (plântula). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), regressão e teste de Tukey. As proteínas, são os metabólitos de maior concentração em sementes de aroeira e dentre os carboidratos de reserva, o amido é o que se encontra em maior concentração. Existe relação direta entre a degradação e biossíntese de carboidratos, aminoácidos e proteínas, durante o desenvolvimento germinativo. As variações nos teores dos metabólitos em função da restrição hídrica imposta as sementes provocou alterações quantitativas, mas manteve sob controle seus compostos de reserva, inferindo-se que sob déficit hídrico a concentração dos metabólitos pode ser alterada, porém não compromete o desenvolvimento germinativo, demonstrando assim certa tolerância ao estresse induzido. O estresse térmico promoveu efeitos deletérios que inviabilizaram a germinação das sementes de forma irreversível. Sugere-se a introdução de plantas já estabelecidas como estratégia de recuperação de áreas de degradação na tentativa de evitar a extinção da espécie já que as condições abióticas influenciam significativamente no desenvolvimento inicial da planta e consequentemente no estabelecimento da espécie.

**Palavras-chave:** Aroeira-do-sertão, carboidratos, aminoácidos, proteínas.

**Germinative metabolism of *Myracrodruon urundeuva* Fr. All (Anacardiaceae) seeds subjected to abiotic factors**

**ABSTRACT** - The objective of this work was to evaluate and compare the germinative metabolism of *M. urundeuva* Fr. All seeds subjected to abiotic stresses, ordering to understand biochemically the stressor agents effect on the metabolism of this species. The metabolites quantified were: carbohydrates (soluble sugars, reducing sugars, sucrose and starch), protein and amino acids. Cotyledons were extracted from seeds embibed in distilled water or PEG 6000 in different treatments: (0.0 MPa/25°C (control), -1.0 MPa/25°C (under water stress) and 0.0 MPa / 40°C (under heat stress) in the following developmental stages: Stage 1 (dry seeds); Stage 2 (imbibed seeds); Stage 3 (seeds with root emission) and Stage 4 (seedling stage). The data were subjected to variance analysis (ANOVA), regression and Tukey Test. Proteins are the metabolites of the most occurrence in *M. urundeuva* seeds. Among the reserve carbohydrates, starch that is found in highest concentration. There is a direct relationship between the degradation and biosynthesis of carbohydrates, amino acids and proteins during germinative metabolism. The variations in the levels of metabolites in function of water restriction imposed to seeds caused quantitative changes, but kept under control their reserve compounds, implying that under water stress the concentration of metabolites can be changed, but does not compromise germinative development, thus showing some tolerance to induced stress. Thermal stress promoted deleterious effects that made it impossible to seed germination irreversibly. Suggest introduction of plants already established as a strategy for recover degraded areas associate with the attempt to prevent the extinction of species by their conservation *in situ* as the abiotic conditions influence significantly the initial development of this plant and consequently the establishment of this species.

**Key-words:** Aroeira-do-sertão, carbohydrates, aminoacids, proteins

## 1 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da biotecnologia, as sementes têm sido estudadas quanto à composição química de suas reservas, e tal interesse não se dá apenas por seu teor nutritivo, mas por serem úteis na confecção de produtos industrializados entre diversos fins. Além disso, recentemente o interesse da sociedade por aspectos relacionados ao meio ambiente fez-se tornar relevante conhecer aspectos da composição química e da fisiologia das sementes de espécies nativas das florestas tropicais, do Cerrado e de outros biomas. Tais informações são importantes para auxiliar, por exemplo, a produção de alta qualidade para tentar recuperar áreas que foram degradadas por atividades agrícolas e industriais (BUCKERIDGE, et al., 2004a).

O estudo da composição química é também do interesse prático da tecnologia de sementes, porque tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento de sementes são influenciados pelo teor dos compostos presentes (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000) e provavelmente por esta razão, a maior parte do material bibliográfico sobre compostos de reserva de sementes se relaciona a grupos restritos de espécies vegetais de importância agrônômica, sendo deficitário para as espécies nativas (BUCKERIDGE et al. 2004b; BORGES et al. 2002; PONTES et al. 2002).

As reservas das sementes têm basicamente duas funções sendo que a primeira relaciona-se com a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula que apresente a capacidade de se manter de forma autotrófica e a segunda é que as reservas podem funcionar como fonte de energia para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou como fonte de matéria para construção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula (BUCKERIDGE *et. al*, 2004a).

Há enorme variação na composição química de sementes, mas as substâncias armazenadas em grande quantidade constituem os carboidratos, os lipídios e as proteínas. Os dois primeiros servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, enquanto as proteínas têm como função armazenar principalmente nitrogênio e enxofre,

essenciais para a síntese de proteínas, ácidos nucléicos e compostos secundários no crescimento da plântula (BUCKERIDGE *et. al*, 2004a).

A germinação de sementes inclui diversos eventos como embebição, reativação do metabolismo, aumento na atividade respiratória, atividade enzimática e de organelas, síntese de proteínas e ácidos nucléicos, hidratação das proteínas, mudanças estruturais subcelulares e alongamento celular, que de modo integrado transformam a semente com baixo teor de água e metabolismo reduzido em uma estrutura com metabolismo vigoroso, culminando no crescimento do embrião (BEWLEY & BLACK 1994).

Vale ressaltar que, o crescimento do embrião é geralmente retardado enquanto a semente amadurece e é dispersada e para a retomada do crescimento do embrião ou germinação da semente depende-se de muitos fatores externos e internos. Entre os fatores externos ou ambientais, três são particularmente importantes: água, oxigênio e temperatura (RAVEN *et al.*, 2001).

A água é o fator iniciante da germinação e está envolvida direta e indiretamente em todas as demais etapas do metabolismo germinativo. Sua participação é decisiva nas reações enzimáticas, na solubilização e transporte de metabólitos, como reagente na digestão hidrolítica de tecidos de reserva da semente. Potenciais osmóticos muito negativos atrasam e diminuem a porcentagem de germinação. O grau mínimo de umidade a ser atingido pela semente para que a germinação ocorra, depende de sua composição química e da permeabilidade do tegumento. (BRADFORD, 1995).

Quanto à temperatura, embora muitas sementes germinem em uma faixa razoavelmente ampla de temperatura, elas normalmente não germinarão acima ou abaixo de uma determinada faixa de temperatura para a espécie (RAVEN *et al.*, 2001). Temperaturas extremas marcam o limite de ocorrência da germinação, sendo que acima do limite superior e abaixo do limite inferior pode ocorrer a morte das sementes (BORGES & RENA,1993). O estresse provocado por altas temperaturas merece destaque, principalmente devido os efeitos deletérios em processos vitais para o desenvolvimento vegetal e conseqüentemente diminuição dos níveis de produtividade (ARAÚJO *et al.*, 1998).

Considerando-se esses fatores abióticos faz-se importante compreender de que forma estes influenciam metabolicamente na germinação de cada espécie, a partir do momento em que se sabe que o processo de mobilização de reservas é fator determinante do vigor da plântula produzida no final do processo, e a compreensão de aspectos relacionados aos mecanismos de controle hormonal, genético e bioquímico da mobilização nos níveis celular e ecofisiológicos é de importância fundamental para o homem no que concernem as questões tecnológicas e ambientais que hoje se apresentam (BUCKERIDGE et. al, 2004a).

O Brasil é o país que apresenta a maior biodiversidade no mundo, porém muito ainda tem para se conhecer com relação a sua amplitude biológica. O Nordeste brasileiro, onde está localizada a maior parte da região semi-árida do país, é coberto por uma vegetação denominada caatinga, com plantas adaptadas fisiologicamente às condições de deficiência hídrica. A caatinga não diferentemente das outras vegetações, também passa por um extenso processo de devastação ambiental provocado pelo uso insustentável dos seus recursos naturais (LEAL, et al 2003). Nas últimas três décadas a Caatinga Nordestina vem sendo mais bem estudada, pela constatação de sua relevância a partir do conhecimento da sua alta diversidade além de suas pontecialidades.

Dentre a grande diversidade florística existente neste bioma podemos citar a espécie *Myracrodruon urundeuva* Fr. All syn. *Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl, também conhecida por aroeira-do-cerrado, aroeira-do-sertão, entre outros nomes. Trata-se de uma espécie arbórea, nativa da região semi-árida do Nordeste brasileiro, de relevante valor sócio-econômico, não somente como planta medicinal ou madeireira, mas também como fonte de energia (lenha) nas indústrias e nas propriedades rurais (MEDEIROS et al, 2000). Em decorrência dessa ampla utilidade e exploração, a espécie foi incluída na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção, na categoria vulnerável (IBAMA 1992) e também na lista da IUCN (International Union for Conservation of Nature) e por esta razão representa a espécie selecionada para esta pesquisa.

Recentemente, pode-se encontrar um bom número de estudos acerca da fisiologia da germinação, estudos etnobotânicos e fitoquímicos com *M. urundeuva* (DUARTE et al., 2000; MEDEIROS et al.,2000; SILVA et al., 2000; SILVA et al.,



2002; GONZAGA et al., 2003; CABRAL & CARNIELLO, 2004; FIGUEIROA et al., 2004; SILVA et al., 2004; TEÓFILO et al., 2004; TROVÃO et al., 2004; DORNELES et al., 2005; LUCIO et al., 2006; PACHECO et al., 2006; BERGER et al., 2007; CARON et al., 2007; MIRANDA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2007; SOUZA et al., 2007; TROVÃO et al., 2007; CALDEIRA et al., 2008; SILVA, 2008; NUNES et al., 2008), porém a nível bioquímico os únicos trabalhos encontrados com a espécie apresentam como focos: estudo de diversidade isoenzimática para detectar a existência de variações genéticas, associadas ao grau de perturbação, tendo como material biológico da pesquisa as folhas (LACERDA et al., 1999); quantificação da concentração de elementos minerais (macro e micronutrientes) nas folhas de mudas (MENDONÇA et al., 1999; VENTURIN et al., 2000); análise de sementes quanto ao conteúdo de proteínas, lipídios e carboidratos, e os níveis de variação genética existentes em relação a esses compostos (ABDALA et al., 2002); avaliação dos efeitos do estresse hídrico e da reidratação sobre parâmetros de fluorescência, condutância estomática e peroxidação de lipídios em plantas (QUEIROZ et al., 2002); identificação e quantificação dos taninos (teores de fenóis totais e proantocianidinas) em tronco (QUEIROZ et al., 2002a); análise genética de fenótipos isoenzimáticos extraídas a partir de tecidos foliares de plântulas (MORAES et al., 2004); estudos sobre propagação *in vitro* (MORAIS, 2006) e sobre variabilidade genética intrapopulacional por marcador AFLP utilizando sementes (FREITAS et al., 2005).

Desta forma, é possível observar que pouco tem sido feito utilizando-se sementes como material vegetal com relação a aspectos bioquímicos e fisiológicos da composição das reservas e sua mobilização nas sementes durante a germinação e crescimento inicial das plântulas. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar e comparar o metabolismo germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All, submetidas a fatores abióticos limitantes através da quantificação de metabólitos primários durante a germinação da espécie, visando ampliar o conhecimento sobre aspectos germinativos e do crescimento inicial e compreender bioquimicamente o efeito de fatores abióticos limitantes no metabolismo desta espécie nativa do semiárido.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

A deposição de substâncias de reserva é o processo chave para desenvolvimento da semente, uma vez que fornece os compostos que são usados desde os estádios iniciais do desenvolvimento até a autotrofia (MERKLE et al., 1995). Os biocompostos de reservas podem funcionar como fonte de energia para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou como fonte de matéria para construção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula (BUCKERIDGE et al., 2004a). O metabolismo vegetal está condicionado ao processo fotossintético em conjunto com outras vias metabólicas, para a formação de substâncias do metabolismo primário, como aminoácidos, proteínas, nucleotídeos e açúcares, as quais irão originar os metabólitos secundários (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A germinação de sementes inclui diversos eventos como embebição, reativação do metabolismo, aumento na atividade respiratória, atividade enzimática e de organelas, síntese de proteínas e ácidos nucléicos, hidratação das proteínas, mudanças estruturais subcelulares e alongamento celular, que de modo integrado transformam a semente com baixo teor de água e metabolismo reduzido em uma estrutura com metabolismo vigoroso, culminando no crescimento do embrião (BEWLEY & BLACK, 1994).

O processo germinativo, como todos os outros, consome energia, a qual é proveniente da degradação de substâncias de reserva da própria semente, utilizando-se o oxigênio durante o transporte de elétrons e com formação de ATP por fosforilação oxidativa (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). A maioria dos organismos vivos tem que absorver oxigênio molecular ( $O_2$ ) e ser capaz, de alguma forma, de fragmentar compostos de carbono (carboidratos, lipídios e proteínas, por exemplo), além de utilizar a energia contida nesses compostos para o desenvolvimento e manutenção de seus corpos.

Durante o processo de germinação, ocorrem alterações na composição química da semente e no consumo de substâncias de reserva, tais como carboidratos, lipídios e proteínas, os quais são utilizados e/ou produzidos durante o desenvolvimento do embrião. A velocidade de utilização destes metabólitos

intermediários na germinação varia de acordo com a espécie e com o ambiente (BORGES & RENA, 1993).

Há enorme variação na composição de sementes, mas as substâncias armazenadas em grande quantidade constituem os carboidratos, os lipídios e as proteínas. Os dois primeiros servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, enquanto as proteínas têm como função armazenar principalmente nitrogênio e enxofre, essenciais para a síntese de novas proteínas, ácidos nucleicos e compostos secundários na plântula em crescimento (BUCKERIDGE et al., 2004a).

## **2.1 Carboidratos**

Os carboidratos são os constituintes bioquímicos mais abundantes nos vegetais, chegando a representar 50 a 80% do seu peso seco total. Eles são importantes fontes de energia e compõem a parte estrutural das células (KAYS, 1991), além disso, os carboidratos pré-formados na semente servem como substrato da respiração durante o período pré-germinativo (BEWLEY & BLACK, 1994).

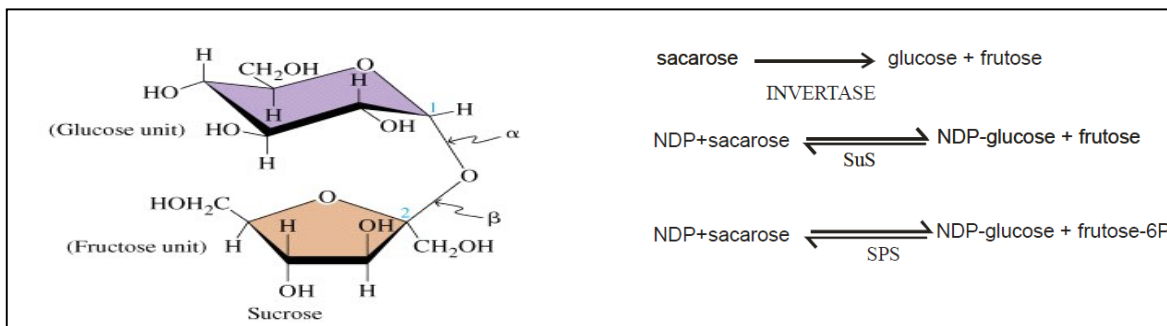
Dentre as principais biomoléculas armazenadas pelas plantas, muitos polímeros de carboidratos foram selecionados durante a evolução. Como polissacarídeos de reserva, o amido e os frutanos possuem as vantagens de serem formados por glicose e frutose, respectivamente. Esses carboidratos são prontamente utilizados pelo metabolismo para geração de ATP e também fornecem carbono para a biossíntese da maioria das biomoléculas presentes em células vegetais (BUCKERIDGE et al., 2000). Existe uma correlação negativa entre os teores de carboidrato e de lipídeo nas sementes. Tais compostos são caracterizados devido à sua degradação e translocação dos produtos derivados da sua hidrólise para o eixo embrionário durante a germinação e estabelecimento da plântula (BEWLEY & BLACK, 1994).

A composição e a localização das reservas de carboidratos podem variar de semente para semente (TINÉ, 1997). Os principais carboidratos que atuam como reserva em sementes são a sacarose e os oligossacarídeos da série rafínósica, o

amido e os polissacarídeos de parede celular. Enquanto a sacarose, dissacarídeo não redutor, constituído de glicose e frutose, é praticamente universal. Os oligossacarídeos da série rafínosica, que apresentam além de glicose e frutose a galactose, ocorrem em um grande número de sementes de dicotiledôneas. O amido é um dos compostos de reserva de mais larga ocorrência nos vegetais, e os polissacarídeos de parede celular ocorrem em alguns grupos taxonômicos em que geralmente atuam como reserva, mas preservando funções secundárias importantes como o controle de absorção e de distribuição da água nos diferentes tecidos das sementes (BUCKERIDGE et al., 2004a).

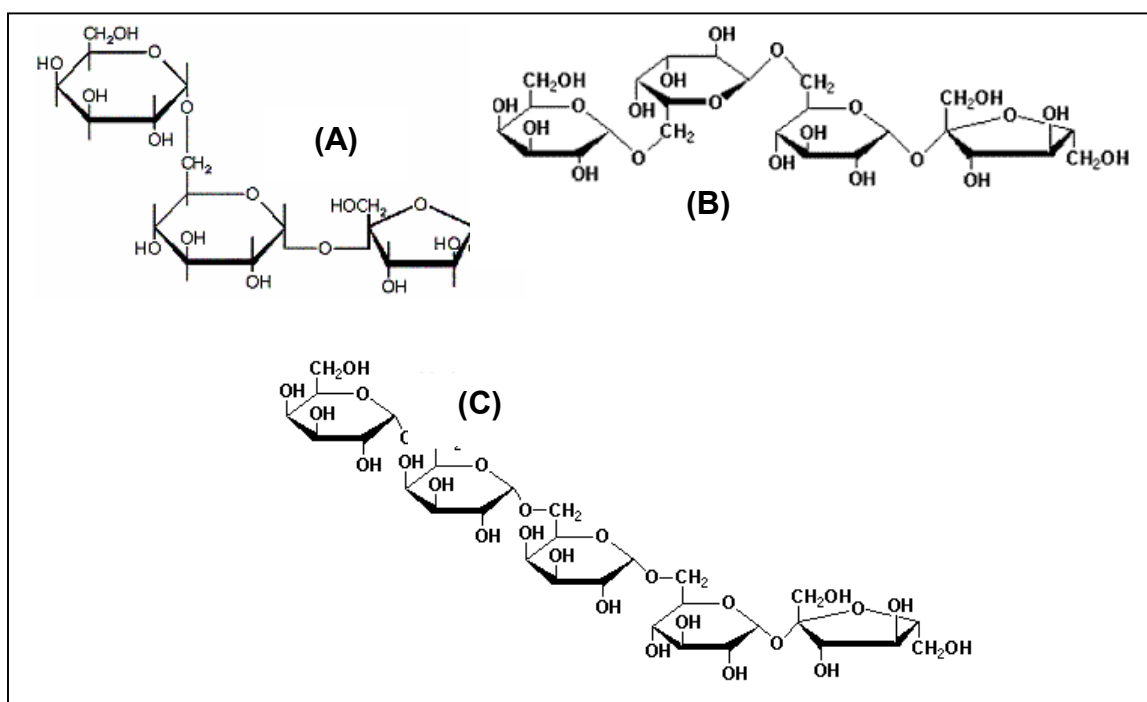
A sacarose (Figura 13) é o principal composto de transporte de carbono dos órgãos fotossintetizantes até a semente em desenvolvimento e pode ser acumulada em quantidades apreciáveis ao final do processo (BUCKERIDGE et al., 2004b). A sacarose além de constituir uma fonte de carbono para a síntese de polissacarídeos estruturais e de reserva é também uma importante fonte de reserva de hexoses (glicose e frutose), depois de sua hidrólise pela sacarose sintetase ou invertase (VAN DEN ENDE & VAN LAERE, 1995).

Esses oligossacarídeos são degradados logo no início da germinação, e acredita-se assim, que sejam compostos de reserva. Porém sua principal função tem sido atribuída à propriedade das sementes ortodoxas de estabilizarem suas membranas, e com isso, poderem, permanecer secas por longo período, após o qual germinam normalmente. Uma parte da sacarose que chega à semente em formação pode ser utilizada como base para a síntese dos oligossacarídeos da série rafínosica (BUCKERIDGE et al., 2004b). A síntese de sacarose (Figura 1) é realizada principalmente pela *sacarose fosfato sintase* (SPS) (EC 2.4.1.14), uma enzima alostérica ativada pela glicose-6-fosfato e inibida pelo ortofosfato (TAIZ & ZEIGER, 2004). A degradação da sacarose pode ser realizada tanto pela *invertase* (INV) (EC 3.2.1.26) quanto pela *sacarose sintase* (Sus) (EC 2.4.1.13). A invertase é uma hidrolase que catalisa a hidrólise irreversível da sacarose até suas hexoses livres (glucose + frutose), e sua atividade tem sido associada à expansão celular (WINTER & HUBER, 2000).



**Figura 1.** Estrutura química da sacarose e reações de degradação e síntese por ação das enzimas invertase ou sacarase, sacarose sintase (SuS) e sacarose fosfato sintase (SPS).

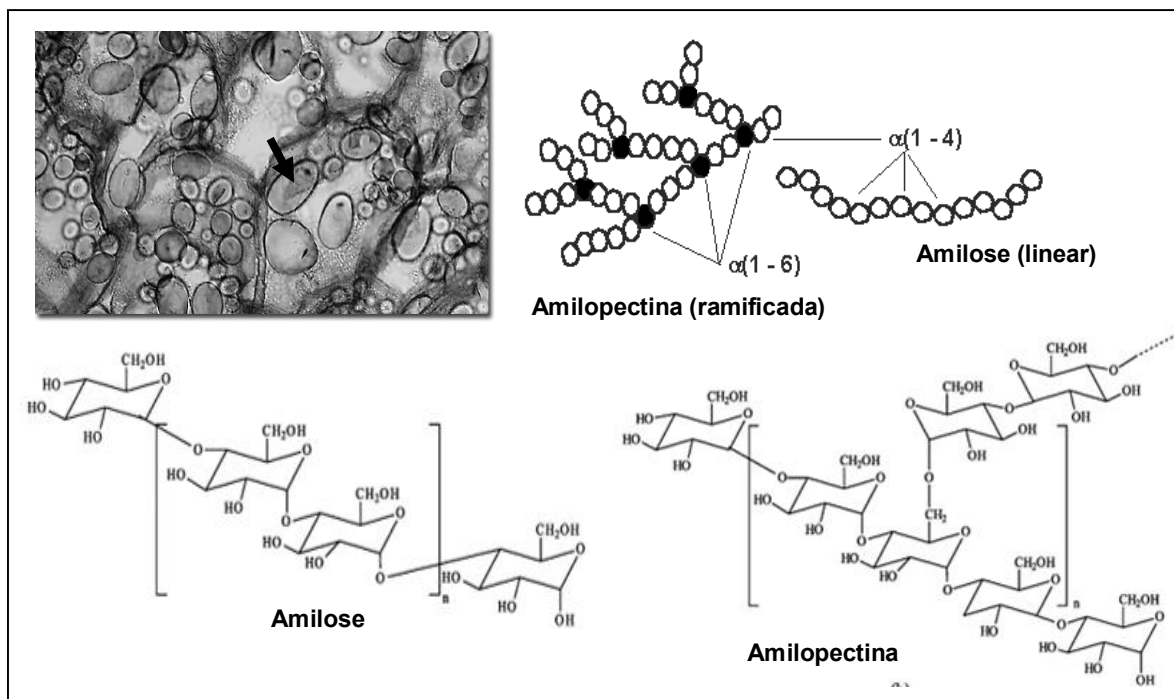
A biossíntese dos oligossacarídeos da série rafinósica (Figura 2) consiste em adicionar uma unidade de galactose ao carbono 6 da molécula de glicose da sacarose na forma de ligação alfa ( $\alpha$ ). Os oligossacarídeos formados são: rafinose (sacarose + uma galactose), estaquiose (duas galactoses), verbascose (três galactoses) e ajugose (quatro galactoses). Esse parece ser o limite máximo de transferência de galactose para componentes da série.



**Figura 2.** Estrutura química de oligossacarídeos da série rafinósica (A) Rafinose; (B) Estaquiose e (C) Verbascose (Fonte: Souza & Neves, 2009)

O amido é o principal carboidrato de reserva dos cereais, embora seja também encontrado em outras sementes. O amido, formado em amiloplastos, é armazenado sob forma de grãos, medindo até 50 $\mu$  de diâmetro. É sintetizado a

partir de açúcares mais simples, principalmente da sacarose que é o principal carboidrato transportado na planta. Estruturalmente, o amido é um homopolíssacarídeo constituído de resíduos de glicose, unidos por ligações glicosídicas. Constitui-se de amilose, de cadeia linear com ligações  $\alpha$ -1,4 e de amilopectina, de cadeia ramificada com ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6 (Figura 3) (GUIMARÃES, 1999).



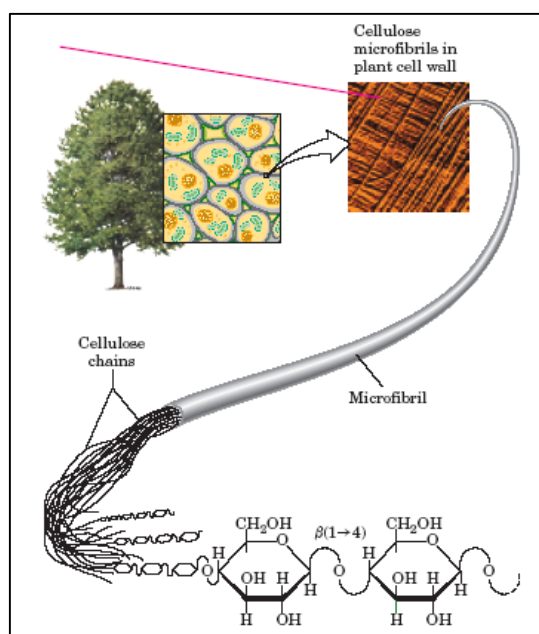
**Figura 3.** Grânulos de amido e estrutura química do amido. Composto por unidades de glicose, organizadas em dois homopolíssacarídeos, a amilose e a amilopectina. (Fonte: Corradini et al., 2005).

Para que o amido seja degradado e torne-se passível de utilização pelo metabolismo, é necessário que os grânulos sejam desmembrados em estruturas menores, como a maltose e a glicose, onde para este processo destacam-se as enzimas  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase,  $\alpha$ -1,6-glicosidases e amido fosforilase. Destas, somente a  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -1,6-glicosidases são capazes de atacar diretamente os grânulos de amido, o que a caracteriza como a primeira enzima no processo de degradação do amido (BUCKERIDGE et al., 2004b).

A glicose e seus derivados são precursores na síntese de biomoléculas da parede celular, nucleotídeos e uma grande variedade de outros metabólitos (LEHNINGER, 2002) essenciais à fase de divisão e expansão celular que se

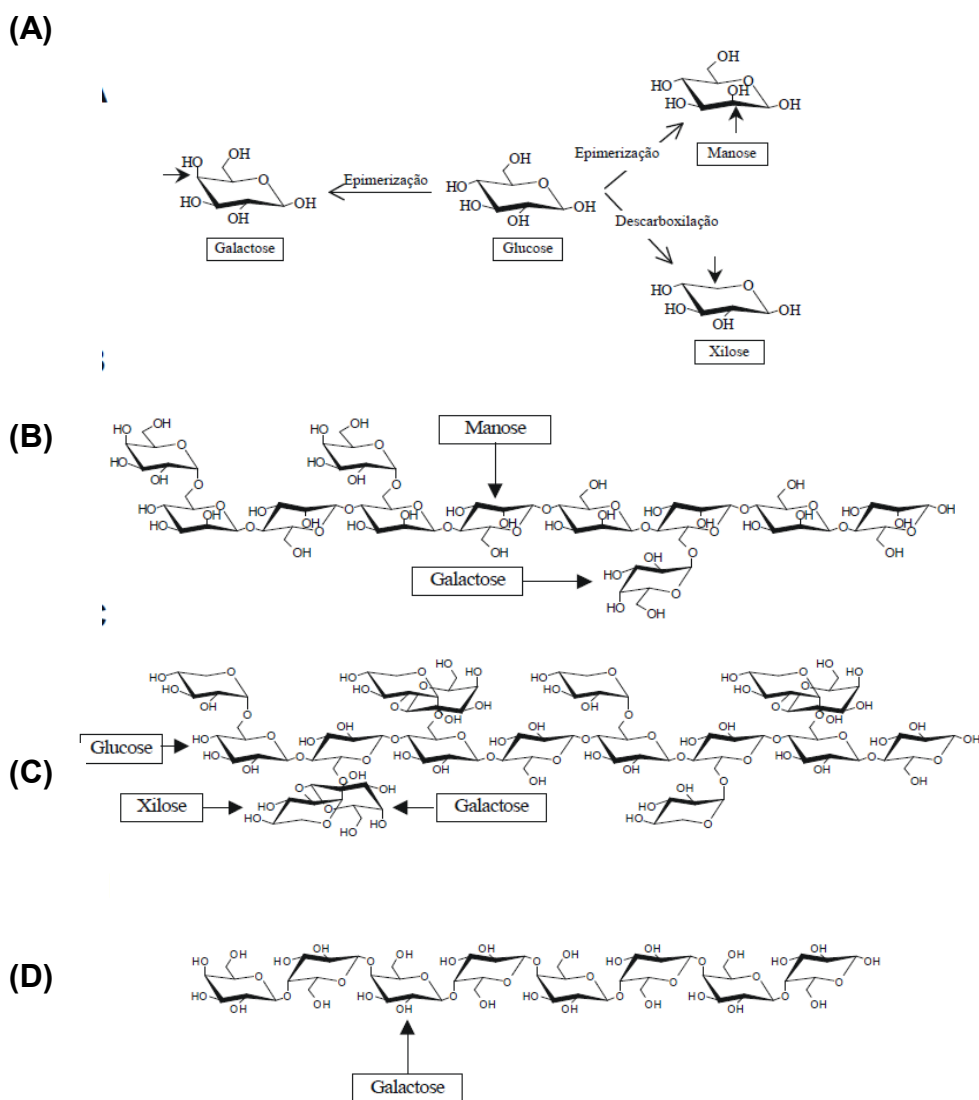
encontram as sementes ao longo do seu desenvolvimento inicial até o estágio de plântula e posteriormente de uma planta adulta. Quando há glicose livre em excesso, ela é convertida em formas poliméricas para armazenamento e em dissacarídeos para transporte. Nos vegetais a principal forma de armazenamento da glicose é o amido (polissacarídeo de reserva). A síntese de amido ocorre nos cloroplastos como um dos produtos estáveis após a fotossíntese. Os cloroplastos contêm uma maquinaria enzimática única que catalisa a conversão de  $\text{CO}_2$  em compostos orgânicos simples em um processo de fixação do  $\text{CO}_2$  denominado ciclo de Calvin (LEHNINGER, 2002).

Outra forma de armazenamento de carboidratos é através dos polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC) constituídos de homopolissacarídeos (celulose – Figura 4) e heteropolissacarídeos, a exemplo de hemiceluloses, encontrada nas paredes celulares das plantas, embora em certas sementes sejam, encontradas como material de reserva (fonte de carbono) para utilização durante o desenvolvimento da plântula e possuem funções secundárias como controle de embebição e propriedades mecânicas dos cotilédones. Outra vantagem potencial destes polímeros é que eles requerem um arsenal específico de enzimas para sua degradação, o que limita o número de predadores capazes de se alimentar das sementes.



**Figura 4.** Celulose. (Fonte: Lehninger, 2002)

Os PRPC são classificados em três grupos distintos: os mananos, os xiloglucanos e os (arabino) galactanos (Figura 5). Esta classificação é baseada essencialmente na estrutura química desses polímeros, sendo os mananos subdivididos em mananos puros (homopolissacarídeos), glucomananos e galactomananos (heteropolissacarídeos) (BUCKERIDGE et al., 2000). Eles são usualmente encontrados na camada espessa da parede celular do endosperma ou nos cotilédones. Muitas hemicelulose são mananos, ou seja, polímeros de cadeia longa de manose com ramificações de pequenas e variáveis quantidades de açúcares (ex. glicose, galactose, arabinose) (GUIMARÃES, 1999).



**Figura 5.** Estruturas químicas dos principais polissacarídeos de reserva de parede celular que ocorrem em sementes e os monossacarídeos que os constituem (A). As setas em (A) indicam as posições dos carbonos que sofreram alterações (epimerização ou descarboxilação) a partir da glicose, dando origem aos outros monossacarídeos. (B) (galacto)mananos, (C) xiloglucanos e (D) galactanos. (Buckeridge et al., 2000).



Os polissacarídeos de reserva de parede celular são relativamente inertes no que concerne à sua reatividade química e apresentam diferentes graus de solubilidade em água. Essas características conferem vantagens que são similares às do amido (alta compactação e baixa reatividade) e tornam possível a existência de um “compartimento celular” (a parede celular) que permite o fluxo de água com um grau de liberdade considerável. Por outro lado, o custo para produzir tais polímeros é alto, pois tais compostos necessitam de um complexo sistema de biossíntese (que requer nucleotídeos açúcares como doadores de monossacarídeos), secreção e montagem no meio extracelular (BUCKERIDGE *et al.*, 2000).

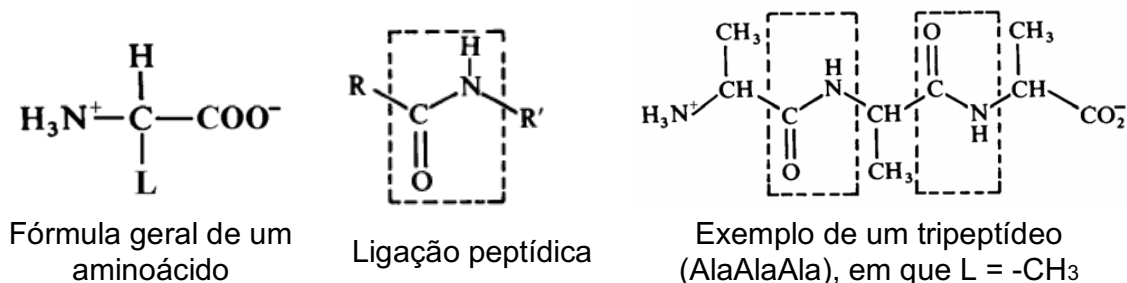
A biossíntese dos polissacarídeos de parede celular requer nucleotídeo-açúcares como doadores de monossacarídeos. As enzimas de biossíntese traduzidas no retículo endoplasmática são transportadas para o complexo de Golgi, onde a maioria das reações de biossíntese ocorre. Ao fim do processo de biossíntese e no início da produção das vesículas secretoras, os resíduos de fucose dos xiloglucanos e de metila das pectinas são adicionados; os polissacarídeos são então secretados para o espaço intercelular, onde ocorrerá a automontagem da parede celular por meio da orientação das microfibrilas de celulose e da constituição dos diferentes domínios polissacarídeos da parede (BUCKERIDGE *et al.*, 2004a).

## **2.2 Aminoácidos e Proteínas**

### **2.2.1 Aminoácidos**

Os  $\alpha$ -L-aminoácidos fundamentais são utilizados pelas células para a biossíntese das proteínas e apresentam características estruturais diferentes, as quais, em parte, permitem que as proteínas desempenhem papéis muito variados nos seres vivos. Todos os  $\alpha$ -L-aminoácidos contêm na sua estrutura um grupo funcional amino e um grupo funcional ácido carboxílico ligados a um mesmo átomo de carbono, conhecido por carbono  $\alpha$  que é quiral e confere estereoisomeria característica destas moléculas, excetuando a glicina. Esses grupos funcionais deixam de existir nesta forma quando os aminoácidos são ligados uns aos outros para originarem a molécula de uma proteína (ficando

apenas um grupo amino na extremidade “inicial” da cadeia polipeptídica (amino terminal) e um grupo ácido carboxílico na extremidade “final” (carboxi terminal) (Figura 6).



**Figura 6:** Estrutura de um aminoácido típico, da uma ligação peptídica e de um tripeptídeo.

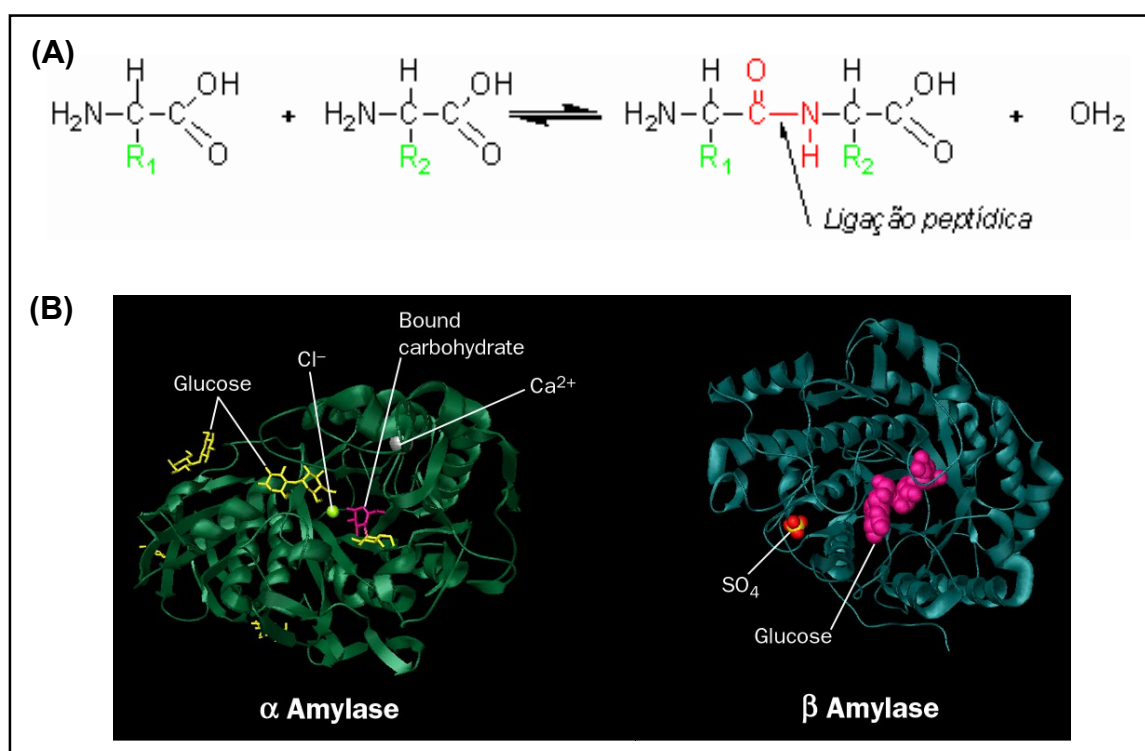
Os aminoácidos são substâncias importantes no metabolismo do nitrogênio, representando o produto inicial da assimilação primária do mesmo, na síntese de proteínas, atuando também na sua forma de transporte para as regiões autotróficas e heterotróficas da planta (ORTIZ-LOPEZ et al., 2000).

Além da síntese de proteínas, os aminoácidos estão relacionados com o metabolismo primário e secundário nos vegetais; contribuem também em funções do metabolismo secundário, atuando como precursores de hormônios vegetais e de compostos envolvidos na defesa de plantas, e sua síntese pode controlar direta e/ou indiretamente vários aspectos ligados ao crescimento e desenvolvimento das plantas (CORRUZI & LAST, 2000; BUCHANAN et al., 2000).

A germinação é um evento que compreende uma série de reações bioquímicas e fisiológicas que permitem o crescimento da planta. A primeira fase da utilização de reservas nitrogenadas envolve a hidrólise de proteínas a aminoácidos livres, que são então metabolizados nos embriões. Nos cotilédones, esses aminoácidos poderiam ser utilizados na síntese de enzimas, permitindo o desenvolvimento embrionário (BEEVERS & GUERNSEY, 1986).

## 2.2.2 Proteínas

Proteínas são heteropolímeros, macromoléculas complexas, compostas de aminoácidos e necessárias para os processos químicos que ocorrem nos organismos vivos (Figura 7). As proteínas também são chamadas de polipeptídeos, porque os aminoácidos que as compõe são unidos por ligações amídicas ou peptídicas (uma ligação peptídica é a união do grupo amino (-NH<sub>2</sub>) de um amino ácido com o grupo carboxila (-COOH) de outro aminoácido, através da formação de uma amida).



**Figura 7:** Estrutura de uma proteína. (A) Estrutura química. (B) Estrutura molecular ( $\alpha$ -amilase e  $\beta$ -amilase, importantes na degradação de amido). (Fonte: Lehninger, 2006).

No desenvolvimento das sementes de plantas superiores as proteínas são sintetizadas no retículo endoplasmático e posteriormente transportada até seu local de acúmulo, os vacúolos de reservas, unidades chamadas de corpos protéicos, que medem de 1 a 20 $\mu$  de diâmetro delimitados por uma membrana lipoprotéica. Existe alguma semelhança com o grão de amido em tamanho e forma e são usualmente uma mistura de diferentes proteínas (GUIMARÃES, 1999). A síntese e a deposição dessas proteínas, em cada espécie, podem

ocorrer em diferentes estágios de desenvolvimento (BUCKERIDGE et al., 2004a). As sementes caracterizam-se por apresentarem uma parte das proteínas metabolicamente ativas, como enzimas e as nucleoproteínas, e outra metabolicamente inativa, as proteínas de reserva. As proteínas vegetais podem ser classificadas com base na solubilidade em uma série de solventes (“frações de Osborne”) em quatro grandes grupos de proteínas que estão presentes em vários tipos de tecidos vegetais, incluindo sementes: (a) Albumina, solúveis em água e coaguláveis por aquecimento. (b) Globulinas, insolúveis em água e solúveis em soluções salinas. (c) Prolaminas, solúveis em álcool (60 a 70% v/v), mas não em água, nem em soluções salinas. (d) Glutelinas, insolúveis em soluções aquosas neutras ou salinas e em álcool, mas podem ser extraídas em soluções básicas (SHEWRY & CASEY, 1999).

As “frações de Osborne” constituem o principal sistema de classificação das proteínas vegetais, porém classificações mais modernas baseiam-se em dois critérios: função e relações bioquímicas e moleculares. Em termos de função, pode-se classificá-las em três classes principais: (a) proteínas de reserva, cuja função é armazenar nitrogênio, carbono e enxofre; (b) proteínas estruturais e metabólicas (*housekeeping*), que são essenciais para o crescimento e a estrutura da semente; e (c) proteínas de proteção, que podem conferir resistência a patógenos microbianos, invertebrados ou dessecação. Em alguns casos, a proteína pode apresentar uma combinação de funções como reserva e proteção. Os principais grupos de proteínas de reserva incluem as quatro frações de solubilidade de Osborne (BUCKERIDGE et al., 2004a).

As proteínas de armazenamento são menos complexas que as proteínas do protoplasma e provavelmente menos ligadas a lipídios e a outros grupos protéicos, embora sejam estruturalmente semelhantes. Das proteínas que constituem as “frações de Osborne”, as Globulinas e as Albuminas são consideradas metabolicamente ativas e as Glutelinas e as Prolaminas são metabolicamente inativas. A grande maioria das proteínas de reserva em sementes é metabolicamente inativa e servem apenas para serem usadas no crescimento de embrião durante a germinação. De uma maneira geral, as proteínas, estão em menor proporção que os carboidratos e lipídeos, exceção

feita à semente de soja e sementes oleaginosas. São encontradas em todos os tecidos da semente, ocorrendo em maiores concentrações no embrião e na camada de aleurona dos cereais. As sementes de cereais apresentam em geral, menor teor de proteínas que as sementes de leguminosas e oleaginosas (GUIMARÃES, 1999).

Proteínas metabolicamente ativas constituem uma pequena quantidade em relação ao total, mas são extremamente importantes para o desenvolvimento e germinação das sementes. Como enzimas, elas catalisam todo o processo metabólico de digestão, transporte e utilização das reservas da semente, nenhum crescimento pode ocorrer sem elas. As nucleoproteínas são outras formas extremamente importantes de proteínas ativas e são moléculas de enorme tamanho. Elas são formadas por proteínas ligadas aos ácidos nucleicos (DNA e RNA). As duas formas são importantes por suas funções na síntese de proteínas e seus cruciais papéis na estrutura e função dos cromossomos e genes (GUIMARÃES, 1999).

### **2.3 Mobilização das reservas em sementes**

A razão para as sementes mobilizarem suas reservas é a formação de uma nova planta, e as funções principais são fornecer energia química e matéria para que tal processo ocorra. Assim, o processo de mobilização de reservas é fator determinante do vigor da plântula produzida no final do processo.

Durante a germinação, com o aumento da entrada de água por embebição, o metabolismo celular é reativado. Essa reativação metabólica provoca uma série de mudanças fisiológicas. Uma das conseqüências é o aumento da taxa respiratória, associado à necessidade da utilização das reservas energéticas existentes no endosperma ou nos cotilédones. Nesse período, há a hidrólise de lipídeos por  $\beta$ -oxidação, produção de carboidratos, fitormônios e diversas enzimas hidrolíticas (proteases,  $\beta$ -galactosidases,  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases,  $\beta$ -glucanases, nucleases etc.). Como conseqüência, o amido ou outros polissacarídeos de reserva, proteínas e aminoácidos são utilizados em parte na respiração, cuja taxa elevada deve-se ao crescimento do eixo embrionário (BUCKERIDGE et al, 2004).

O metabolismo vegetal também está condicionado ao processo fotossintético. Deste resultam biomoléculas importantes para a biossíntese das substâncias do metabolismo primário, como aminoácidos, nucleotídeos e açúcares, as quais irão originar os metabólitos secundários (TAIZ & ZEIGER, 2004).

A respiração e a fotossíntese são processos complementares fundamentais para a vida em nosso planeta. O metabolismo das plantas requer os dois processos: para realizar fotossíntese, as plantas precisam produzir ATP, através do transporte de elétrons acoplado a fosforilação oxidativa, pois necessitam de energia química, e, para respirar, precisam de açúcares produzidos na fotossíntese, que são utilizados durante o catabolismo celular (BUCKERIDGE et al, 2004).

Amido e sacarose são os principais carboidratos produzidos após a fotossíntese nas plantas superiores. A sacarose é translocada na planta para sustentar o crescimento, enquanto o amido é acumulado nos cloroplastos para servir como reserva de carboidratos durante os períodos em que a fotossíntese não está ocorrendo (HAMOND & BURTON, 1983; HEWITT et al, 1985). Considerando que a fonte de carbono nas plantas é a fotossíntese, todos os fatores que afetam esse processo afetarão necessariamente a síntese de amido (BUCKERIDGE et al, 2004b).

O aumento na atividade respiratória pode ser detectado poucos minutos após o início da embebição e, muitas vezes, o consumo de oxigênio assemelha-se à entrada de água, exibindo um padrão trifásico. Esse padrão de consumo de oxigênio apresenta uma fase de aumento rápido com duração variável dependendo da semente; uma fase estacionária, com aumento lento ou consumo de oxigênio estabilizado, e uma terceira fase de novo aumento na taxa respiratória, associada a uma quarta fase, em plântulas mantidas no escuro, caracterizada pela redução na respiração, em consequência da extensão das reservas cotiledonares (CARDOSO, 2004).

Durante a fase I da embebição, ocorre reativação do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, assim como a reconstituição de cetoácidos ( $\alpha$ -ceto glutarato

e piruvato) intermediários das vias respiratórias. Nesta fase a disponibilidade de açúcares, principalmente sacarose, rafinose e estaquise, mantém a respiração. A mobilização das principais substâncias de reservas – amido, proteínas e lipídeos – ocorre após o início do crescimento do embrião, na fase III da embebição (CARDOSO, 2004).

A curva de ATP durante a germinação também exibe um aspecto trifásico: um rápido aumento durante as primeiras horas de embebição, provavelmente por síntese de novo via fosforilação oxidativa; uma fase estacionária, com produção e consumos equivalentes; e um novo aumento no conteúdo de ATP, associado ao crescimento do embrião (CARDOSO, 2004).

A síntese protéica inicia-se logo após a hidratação, a partir de substratos (enzimas, RMA<sub>t</sub>, ribossomos, RNAm etc.) presentes na semente madura e reativada com a embebição. Nessa fase, existe uma grande quantidade de RNAm conservado, porém apenas parte dela será transcrita e traduzida em proteínas. Por sua vez, a síntese de DNA ocorre apenas na fase de crescimento do eixo embrionário, quando se inicia a divisão mitótica. O aumento do conteúdo de DNA, após o início da embebição, deve-se provavelmente ao reparo e reidratação de molécula preexistentes, bem como à síntese de DNA mitocondrial (CARDOSO, 2004).

O processo de divisão celular demanda energia e pela degradação do amido por  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases são formadas moléculas de glicose, intermediário glicolítico que, submetida à catálise oxidativa, supre os altos níveis de ATP necessários para o metabolismo celular (MARTIN et al., 2000). Os carboidratos solúveis são utilizados para a formação do amido, como substância de reserva nos cotilédones, sendo a sacarose a principal fonte para a síntese de amido em sementes (BEWLEY e BLACK, 1994).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Estudos em Meio Ambiente da Universidade Católica do Salvador - LEMA/UCSal e no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Biocompostos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (ICS/UFBA). Os tratamentos e estádios de desenvolvimento analisados foram estabelecidos a partir dos resultados obtidos nas análises fisiológicas descritas no capítulo I.

#### 3.1 Material Vegetal

Para as análises de carboidratos, aminoácidos e proteínas foram coletados cotilédones das sementes de *Myracrodruon urundeuva* nos diferentes estádios de desenvolvimento descritos no item 3.3: Estádio 1 (Semente Seca); Estádio 2 (Sementes Embebidas); Estádio 3 (Sementes Germinadas, com emissão de radícula) e Estádio 4 (Plântulas). Para o estágio 1, foi utilizada toda a semente sem o tegumento, devido a dificuldade de separação dos cotilédones e eixo hipocótilo-radícula.

Vale ressaltar que os cotilédones foram escolhidos como material vegetal para as análises bioquímicas, por ser o órgão da semente onde se encontra a maior quantidade das reservas, as quais serão mobilizadas durante o desenvolvimento germinativo da planta.

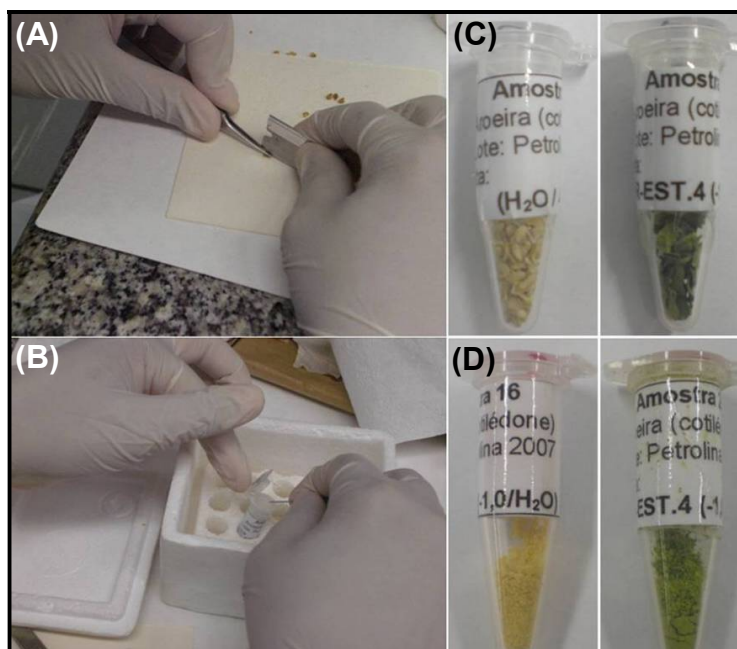
#### 3.2 Extração e Preparo da Amostra

Na Figura 8 está representada as fases de extração e preparo do material biológico para análise. As sementes foram semeadas em gerbox, utilizando-se três folhas de papel germitest como substrato e embebidas com 10 mL de água. As amostras foram obtidas de três repetições por tratamento, onde para cada foram dispostas aproximadamente 100 sementes para a coleta. Durante a coleta o material foi pesado para que se armazenasse aproximadamente a mesma quantidade de material em cada repetição.

A extração do material foi realizada com auxílio de pinça e gilete (Figura 8A), os cotilédones foram colocados em microtubos, congelados imediatamente



em nitrogênio líquido (Figura 8B) e armazenados em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento de serem utilizados. As análises bioquímicas foram realizadas utilizando-se o peso seco das amostras, sendo que antes da secagem o material foi pesado para obtenção da massa fresca (MF). A secagem foi feita por liofilização por 24 horas (Figura 8C) e após este período o material foi pesado para obtenção da massa seca (MS) e cálculo do teor de água da amostra. As amostras secas foram maceradas, resultando assim no material a ser pesado para análise (Figura 8D). Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica de precisão (marca Mettler Toledo, modelo AG285). Para o preparo dos extratos e as análises bioquímicas utilizaram-se os métodos descritos no item 3.4.



**Figura 8:** Extração e armazenamento do material biológico para análises bioquímicas. (A) Extração dos cotilédones; (B) Conservação do material (nitrogênio líquido); (C) Material seco, antes da maceração; (D) Material macerado. (Foto do autor).

### 3.3 Tratamentos e Estádios de Desenvolvimento para Análise

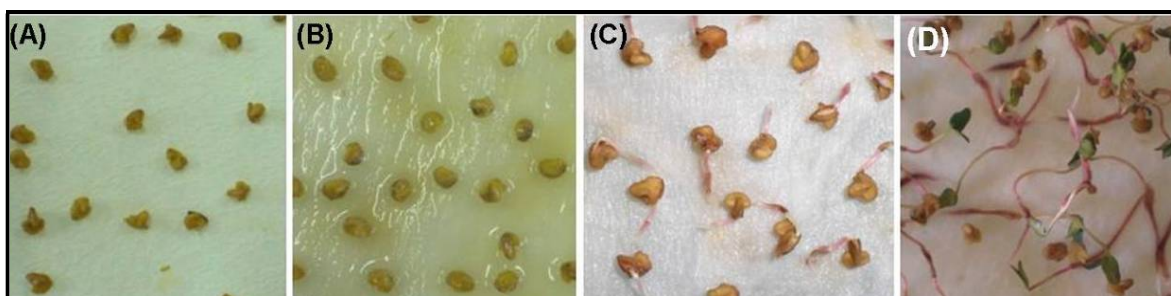
Os tratamentos selecionados para análises bioquímicas constituíram-se de: **(1) 0,0 MPa / 25°C:** tratamento controle, onde as sementes foram semeadas em água (0,0 MPa), sob temperatura ótima de germinação (25°C) e no qual foi possível avaliar todos os estádios de desenvolvimento inicial da planta; **(2) -1,0 MPa / 25°C:** tratamento que se denominou como o de estresse hídrico, onde foi

selecionado para semeadura o potencial hídrico de  $-1,0$  MPa sob temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ , na solução de polietilenoglicol 6000 (PEG 6000), definido por ser este o potencial a partir do qual a germinação das sementes foi nula; e **(3)  $0,0$  MPa /  $40^{\circ}\text{C}$** : tratamento que se denominou como o de estresse térmico, onde foi selecionado para semeadura a temperatura de  $40^{\circ}\text{C}$  em água, por ser esta a temperatura, a partir da qual a germinação das sementes também é nula, constituindo assim um dos focos de investigação.

A partir desses tratamentos foram feitas duas análises: (1) análise da mobilização de reservas (carboidratos, aminoácidos e proteínas) em cotilédones de sementes de aroeira durante a germinação do tratamento controle e (2) análise da mobilização de reservas em cotilédones de sementes de aroeira durante a germinação, quando submetidas a fatores abióticos (hídrico e térmico) limitantes, comparando-se assim com o tratamento controle.

Para a análise de carboidratos, aminoácidos e proteínas durante a germinação nos diferentes tratamentos especificados acima, foi realizado um ensaio onde foi avaliada a germinação da semente até o estágio de plântula normal e a partir da curva de germinação foi possível programar o período das coletas do material vegetal a ser analisado bioquimicamente.

Os estádios de coletas foram: **Estádio 1 (E1)**: sementes secas (quiescentes); **Estádios 2 (E2)** - sementes embebidas; **Estádio 3 (E3)** - sementes germinadas (com emissão de raiz) e **Estádio 4 (E4)** – estágio de plântula, porém, embora não apresentarem os primórdios foliares desenvolvidos (Figura 9).



**Figura 9.** Estádios de coleta do material para as análises bioquímicas. (A) **Estádio 1** – Semente Seca (quiescente); (B) **Estádio 2**: Sementes Embebidas; (C) **Estádio 3**: Sementes Germinadas (com emissão de raiz) e (D) **Estádio 4**: Estádio de Plântulas. (Foto do autor).

A coleta do material nos estádios de desenvolvimento em cada tratamento foi feita conforme tabela 1.

**Tabela 1.** Coleta do material vegetal (cotilédones) nos estádios de desenvolvimento em cada tratamento.

Tratamento	Estádio de desenvolvimento	Tempo para coleta
<b>0,0 MPa / 25 °C</b>	<b>E 1</b>	Semente seca (quiescentes)
	<b>E 2</b>	Sementes embebidas em água e extraídas após 12 horas de semeadura.
	<b>E 3</b>	Sementes embebidas em água e extraídas após 72 horas (3 dias) de semeadura.
	<b>E 4</b>	Sementes embebidas em água e extraídas após 144 horas (6 dias) de semeadura.
<b>-1,0 MPa / 25 °C (Estresse Hídrico)</b>	<b>E 1</b>	Semente seca (quiescentes)
	<b>E 2</b>	Sementes embebidas em PEG 6000 à 25°C e extraídas após 130 horas (5 dias) de semeadura.
	<b>E 3</b>	Após 5 dias de exposição à solução osmótica as sementes foram transferidas para água e o material extraído após 3 dias de semeadura.
	<b>E 4</b>	Após 5 dias de exposição à solução osmótica as sementes foram transferidas para água e o material extraído após 5 dias de semeadura.
<b>0,0 MPa / 40 °C (Estresse Térmico)</b>	<b>E 1</b>	Semente seca (quiescentes)
	<b>E 2</b>	Sementes embebidas em água, encubadas a 40 °C e extraídas após 4 dias.
	<b>E 3</b>	*
	<b>E 4</b>	*

\*sementes não germinam após exposição a essas condições não havendo, portanto os estádios 3 e 4 para este tratamento.

Para o tratamento sob estresse hídrico, as amostras de análise referentes aos estádios 3 e 4 foram coletadas a fim de quantificar os teores dos metabólitos após indução do estresse. Para isso as sementes foram expostas a solução de PEG 6000 e após 5 dias de exposição eram lavadas e transferidas para água. Após emissão da raiz (3º dia) o material foi coletado para o estágio 3 e ao atingir o estágio de plântula (5º dia) coletavam-se as amostragens para o estágio 4.

Vale ressaltar que, paralelamente às sementes colocadas para extração do material para as análises bioquímicas, foi montado um teste de germinação utilizando-se a mesma metodologia empregada nas análises fisiológicas (capítulo

1, pag. 33) para acompanhamento do comportamento fisiológico no momento da coleta das amostras para análises bioquímicas.

No tratamento de estresse térmico (40°C) não foi possível extrair as amostras correspondentes aos estádios 3 e 4, pois as sementes não germinaram após exposição a essas condições.

Em todos os tratamentos as sementes foram semeadas em gerbox, utilizando como substrato papel germitest, umedecendo com 10 mL de água ou solução de PEG 6000 e encubadas em B.O.D (marca ELETROLAB) nas temperaturas especificadas (25 e 40 °C), sob fotoperíodo de 12 horas.

### **3.4 Quantificação de metabólitos primários durante a germinação**

Foram avaliados, os teores de carboidratos (açúcares totais, açúcares redutores e não redutores, amido), proteínas totais e aminoácidos. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os métodos empregados para cada uma das determinações estão descritos a seguir.

#### **3.4.1 Carboidratos**

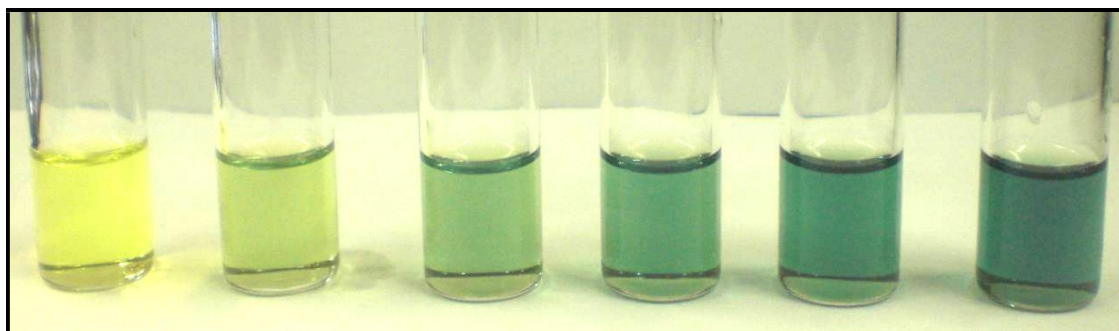
##### **3.4.1.1 Açúcares solúveis totais (AST)**

Os açúcares solúveis totais (AST) foram determinados pelo método da antrona (Passos, 1996). A reação de antrona se baseia na ação hidrolítica e desidratante do ácido sulfúrico concentrado sobre os carboidratos. Quando a reação é levada a efeito com carboidratos com ligações glicosídicas, estas são hidrolisadas e os açúcares simples desidratados para furfural ou hidroximetilfurfural. Essas substâncias se condensam com a antrona (9, 10-dihidro-9-oxoantraceno) formando um produto de coloração azul petróleo (SILVA et al., 2003).

Para o preparo dos extratos, utilizou-se de 10 mg de material seco e moído em 20V de etanol 95% (v/v), centrifugou-se a 4.000 g por 5min (em duas extrações), em centrifuga marca Hettich, modelo universal 32R. O sobrenadante foi retirado e o sedimento restante, foi submetido à nova extração adicionando-se

15 V de etanol 80% (v/v), o qual foi colocado em água fervente até a ebulição do etanol. O material foi novamente centrifugado (4.000 g por 5min.), o sobrenadante retirado e adicionado ao sobrenadante anterior, obtendo-se assim o extrato para análise. O sedimento foi colocado em estufa a 45 °C para secagem e posterior determinação do amido.

Amostras de análise foram preparadas a partir da diluição de 10 µL do extrato em 390 µL água ultrapura (Milli-Q). As soluções padrões foram preparadas diluindo-se a solução estoque de glicose (100 µg.mL<sup>-1</sup>) em água ultrapura (Milli-Q), de maneira a obter soluções com 0(branco), 10, 20, 30, 40, 50 e 100 µg glicose.mL<sup>-1</sup>. Após diluição das amostras de análise e das soluções padrões, adicionou-se 2 mL da solução de antrona (45 mL de ácido sulfúrico, 5 mL de água ultrapura e 0,1 g de antrona) e aquecendo em água fervente (100°C) por 10min. Após este tempo, os tubos foram resfriados em gelo e então colocadas a temperatura ambiente, para posterior determinação dos açúcares solúveis totais em espectrofotômetro marca Varian, modelo CARY 50, no comprimento de onda de 625 nm, baseada na curva de calibração confeccionada a partir de diluição da solução estoque de glicose (100 µg.mL<sup>-1</sup>) (Figura 10).



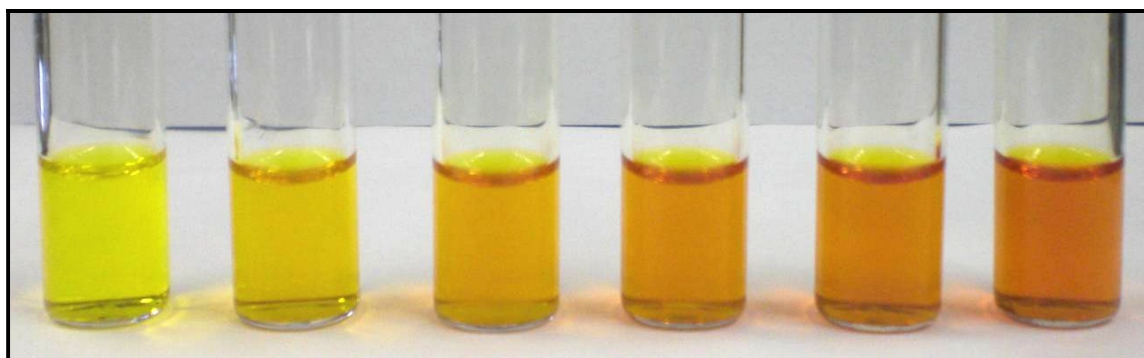
**Figura 10:** Soluções utilizadas no preparo da curva de calibração para análise de Açúcares Solúveis Totais. (Foto do autor).

#### **3.4.1.2 Açúcares redutores (AR)**

O extrato utilizado para análise dos açúcares redutores (AR) foi o mesmo utilizado para a análise de AST. As amostras de análise foram preparadas conforme descrito por Miller (1959), pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), que se utiliza para oxidação desses compostos.

O DNS é reduzido para ácido 3-amino-5-nitrossalicílico, enquanto que, no caso mais simples o grupamento aldeído é oxidado a ácido aldônico. Entretanto, ressalta-se que a equivalência entre o ácido aminonitrossalicílico produzido e a quantidade do açúcar não é exata e diferentes açúcares produzem diferentes intensidades na cor desenvolvida (SILVA et al., 2003).

As amostras de análise foram preparadas em tubos de ensaio, utilizando-se uma alíquota de 25  $\mu\text{L}$  extrato bruto diluído em água ultrapura (Milli-Q) para 500 $\mu\text{L}$ . Os padrões para curva de calibração foram preparados diluindo-se a solução estoque de glicose (800  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) em água, de maneira a obter padrões com 0(branco), 180, 360, 540, 720 e 900  $\mu\text{g glicose}\cdot\text{mL}^{-1}$  também para um volume de 500  $\mu\text{L}$ (Figura 11). Após diluição das amostras de análise e das soluções padrões, adicionou-se 250  $\mu\text{L}$  do reagente de DNS os quais também foram adicionados 250  $\mu\text{L}$  do reagente de DNS, Os tubos contendo a mistura foram homogeneizados e levados a banho-maria fervente durante 5 minutos, sendo posteriormente resfriados a temperatura ambiente e avolumados para 2,5 mL com  $\text{H}_2\text{O}$  ultrapura (Milli-Q). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro marca Varian, modelo CARY 50, no comprimento de onda de 540 nm, baseada na curva de calibração obtida a partir de diluição da solução estoque de glicose (800  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).



**Figura 11:** Soluções usadas para o preparo da curva de calibração para análise de Açúcares Redutores (AR). (Foto do autor).

#### **3.4.1.3 Açúcares não redutores (ANR)**

As concentrações de açúcares não redutores foram estimadas por diferença entre o valor obtido na dosagem de AST pelo valor obtido na dosagem de AR.

#### **3.4.1.4 Amido**

Os teores amido foram determinados pelo método da antrona (Passos, 1996), onde para o preparo dos extratos utilizou-se o pelet resultante do preparo do extrato para AST. O pelet foi seco por 24h em estufa a 45°C e a este se efetuou a extração do amido por 15 minutos em 10 volumes de hidróxido de sódio 0,5N (p/v). Centrifugou-se o extrato a 1.000 x g por 15min, a temperatura ambiente (25 °C), em centrífuga marca Hettich, modelo universal 32R, e reteve-se o sobrenadante. O procedimento de preparo e quantificação das amostras de leitura e das soluções padrões da curva de calibração seguiu o mesmo protocolo utilizado para análise de AST (item 3.4.1.1), porém a diluição da amostra para análise foi preparadas adicionando-se 10 µL do extrato em 395 µL água ultrapura (Milli-Q).

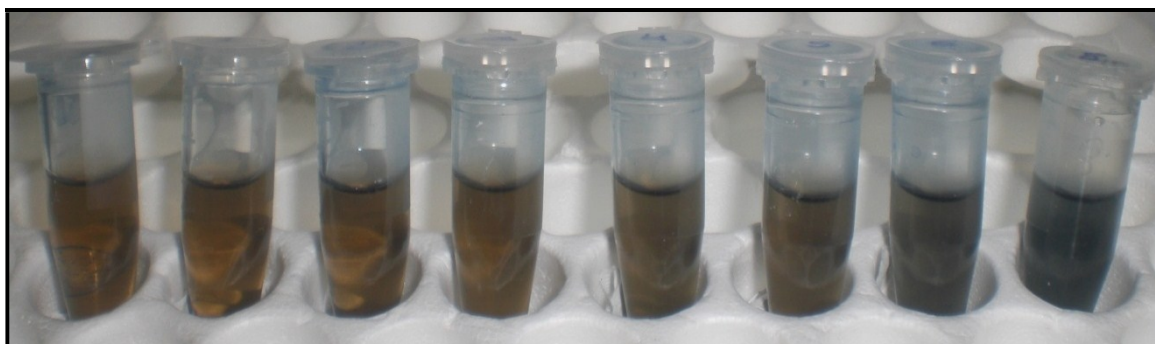
#### **3.4.2 Proteínas Totais (PT)**

O preparo dos extratos para a análise de proteínas solúveis totais, foi feito utilizando-se amostras de 10 mg de material seco e moído ao qual foi adicionados 20 volumes, do peso da amostra seca, de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 6,8, homogeneizado e centrifugado a 14.000 rpm por 15 min, a temperatura de 4°C, em centrífuga marca Hettich, modelo universal 32R. O sobrenadante foi guardado e este foi então utilizado para a análise (Passos, 1996).

A quantificação de proteínas das amostras foi realizada seguindo-se os procedimentos do ensaio “Micro-protein” (Bio-Rad), modificado a partir dos métodos descritos por Lowry *et al.* (1951) e Bradford (1976). O método de Bradford é uma técnica para a determinação de proteínas totais que utiliza o corante de “Coomassie brilliant blue” BG-250. Este método é baseado na interação entre o corante Coomassie brilliant blue G-250 e macromoléculas de proteínas que contém aminoácidos de cadeias laterais básicas ou aromáticas. No pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante BG-250 provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm (ZAIA *et al.*, 1998).

As amostras de leitura foram preparadas em microtubos de 1,5 mL utilizando-se uma alíquota de 1  $\mu\text{L}$  do extrato bruto diluído em água ultrapura (Milli-Q) para 800  $\mu\text{L}$  e acrescentado a estas 200  $\mu\text{L}$  do reagente de Bradford (reagente de cor reagente), que neste caso utilizou-se o Bio-Rad Protein Assay, reagente já industrializado pela BIO-RAD.

As leituras foram feitas em espectrofotômetro (marca Varian, modelo CARY 50), no comprimento de onda de 595 nm, baseada em curva de calibração obtida a partir de diluição da solução estoque de albumina bovina – BSA ( $1440 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ). Os padrões foram preparados diluindo a solução estoque de BSA, de maneira a obter padrões com as seguintes concentrações: 0 (branco); 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (Figura 12), acrescentado-se a estes 200  $\mu\text{L}$  do reagente de Bradford e procedendo-se a quantificação.



**Figura 12:** Soluções usadas para o preparo da curva de calibração para análise de proteínas totais (PT). (Foto do autor).

### 3.4.3 Aminoácidos (AA)

O preparo do extrato seguiu metodologia descrita por Passos (1996) e encontra-se detalhada no item 3.4.1.1.

A determinação quantitativa foi feita pelo método da ninhidrina (hidrato de triceto-hidrindeno), de acordo com Passos (1996).

A reação da ninhidrina é usada na detecção de aminoácidos por ser característica da função amina primária. A ninhidrina é um composto heterocíclico que forma um derivado corado, após reagir com aminas, com os aminogrupos dos aminoácidos livres ou de terminações de proteínas e peptídeos. A ninhidrina



oxida o aminoácido, produzindo  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , e um derivado aldeídico com um átomo de carbono a menos e, conseqüentemente, reduzido. Posteriormente, a ninhidrina oxidada é reduzida ao reagir com a amônia liberada formando um complexo violeta ou púrpura, exceto o derivado da prolina, que é amarelo (CORSINO, 2008).

As amostras de leitura foram preparadas em tubos de ensaio utilizando-se uma alíquota de 15  $\mu\text{L}$  do extrato bruto diluído em água ultrapura (Milli-Q) para 500  $\mu\text{L}$ . Os padrões da curva de calibração foram obtidos a partir da diluição de solução estoque de leucina ( $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) de maneira a obter padrões com as seguintes concentrações: 0 (branco); 20; 40; 60; 80; 100 e 140  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Figura 13). Aos tubos das amostras de leitura e aos dos padrões foram acrescentado 1 mL do reagente de ninhidrina (125 mL de tampão acetato 4N, 375mL de éter monoetílico de etilenoglicol, 1g de ninhidrina e 150mg de hidrindantina). Os tubos, depois de homogeneizados foram submetidos a aquecimento em banho-maria ( $100 \text{ }^\circ\text{C}$ ) durante 15 minutos. Após aquecimento foram adicionados em cada tubo 3 mL de etanol 50%. Os tubos foram resfriados em temperatura ambiente e agitados manualmente para oxidar a hidrindantina residual.

As leituras foram feitas em espectrofotômetro (marca Varian, modelo CARY 50), a 570 nm, baseada em curva de calibração obtida a partir de diluição de solução estoque de leucina ( $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )



**Figura 13:** Soluções usadas para o preparo da curva de calibração para análise de Aminoácidos (AA). (Foto do autor).

### 3.5 Delineamento Estatístico

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com três repetições de aproximadamente 100 sementes por estágio de desenvolvimento para todos os tratamentos (controle, estresse hídrico e estresse térmico). Para a quantificação dos metabólitos, cada repetição foi lida em triplicata.

Os dados obtidos foram inicialmente submetidos à análise de variância (ANOVA), visando à verificação de diferença significativa ( $P < 0,05$ ). Para análise da mobilização das reservas durante os estádios de desenvolvimento em cada tratamento, efetuou-se análise de regressão polinomial. As equações de regressão não foram ajustadas para o tratamento a 40°C pelo fato de se ter apenas dois pontos (Estádio 1 e 2).

Para análise do efeito do estresse na concentração de cada metabólito nos estádios de desenvolvimento, as médias dos teores dos metabólitos por estágio foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Todas as análises foram feitas por meio do Programa Sisvar (versão 5.0) da Universidade Federal de Lavras (FERREIRA, 2000).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Teor de água

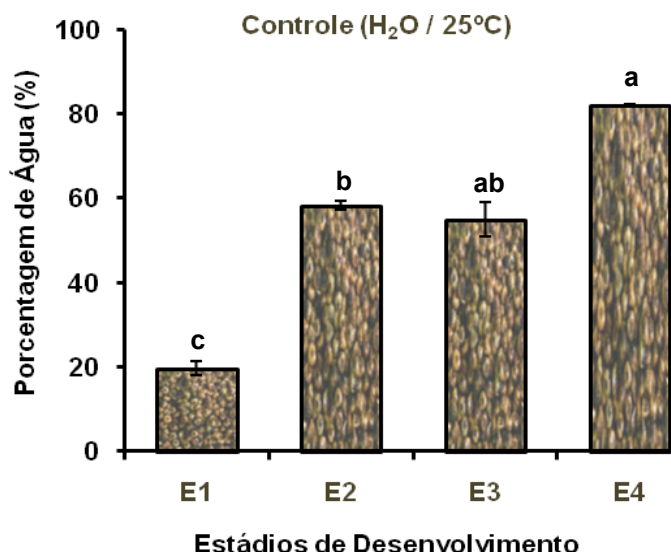
Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no teor de água dos cotilédones extraídos das sementes para as análises bioquímicas em todos os tratamentos analisados.

A partir da secagem dos cotilédones foi possível verificar que em todos os tratamentos e a cada estágio de desenvolvimento da semente, ocorreu um aumento exponencial na porcentagem de água nos cotilédones. Isso ocorre em função do incremento da turgescência de seus tecidos e consequentemente pelos eventos que caracterizam cada estágio da germinação e do estabelecimento da plântula: embebição, germinação (protrusão da radícula) e o desenvolvimento da plântula, mesmo que ainda em estágio inicial (Figura 14).

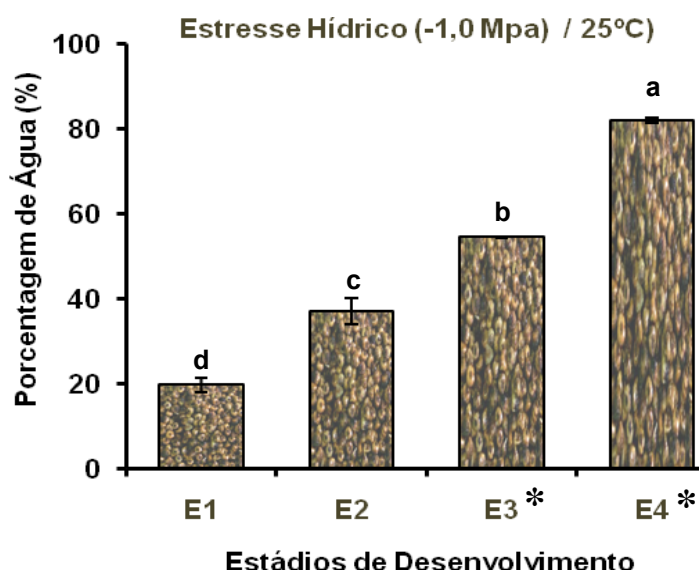
No Estádio 2 do tratamento sob estresse hídrico (Figura 14B), a porcentagem de água foi significativamente menor (37%) que no mesmo estágio do tratamento controle (58%). Este resultado evidencia a ação do PEG 6000 como agente osmótico que ao absorver a água impossibilita esta de entrar na semente em quantidade suficiente para ativar o processo de germinação, mesmo estando em contato com a solução osmótica durante 5 dias e no caso do controle que ficou apenas 12 horas em água.

No tratamento sob estresse de temperatura (Figura 14C), as sementes expostas a 40°C durante 96 horas (4 dias) atingiram uma porcentagem de água 35% maior quando comparada ao seu teor inicial. Verificou-se que neste espaço de tempo, a temperatura também pode ter influenciado a embebição promovendo *déficit* de água para a semente que acrescido aos possíveis processos deletérios que temperaturas extremas podem promover na semente também, inviabilizaram a germinação desta, constituindo assim também um fator de estresse.

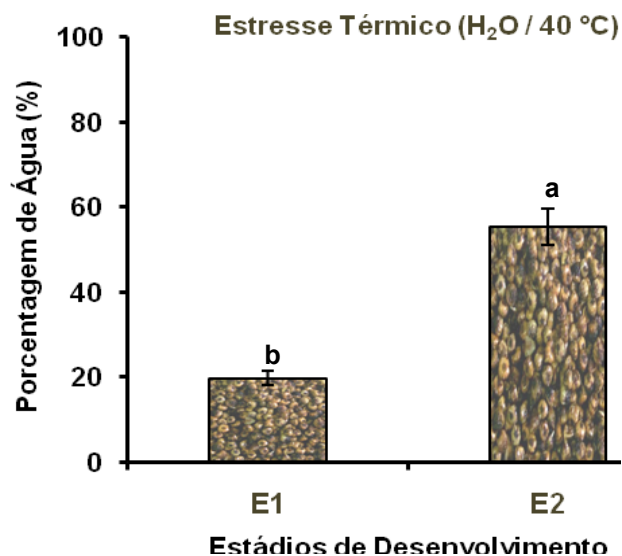
(A)



(B)



(C)

**Figura 14.**

Porcentagem de água dos cotilédones extraídos das sementes de *Myracrodruon urundeuva*. (A) tratamento controle – água; (B) tratamento em estresse hídrico (PEG a -1,0 MPa) e (C) tratamento sob estresse térmico a 40°C.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

\*Estádio 3 e 4 do tratamento de estresse hídrico corresponde aos teores analisados nos cotilédones das sementes expostas por 5 dias em solução de PEG 6000 em -1,0 MPa à 25°C e transferências desta para água.

## 4.2. Análise fisiológica

Sementes de *Myracrodruon urundeuva* foram semeadas e avaliadas durante 7 dias, juntamente com o período de coleta das amostras para a análises bioquímicas, visando comparar o comportamento fisiológico com o bioquímico, durante os estádios de desenvolvimento germinativo, das sementes semeadas nos diferentes tratamentos, concomitantemente com os dados obtidos nos ensaios apresentados no capítulo 1.

Os valores médios para emissão de raiz e número de plântulas normais para as sementes mantidas em água à 25°C, foram de 95% de e 93% respectivamente. No tratamento sob estresse hídrico, as sementes após transferência para água apresentaram 85% de emissão de raiz e 81% plântulas normais. Para este tratamento, os valores foram superiores aos encontrados nos ensaios fisiológicos do capítulo I, onde o tempo de exposição das sementes ao PEG 6000 foi de 14 dias, no ensaio 1 e de 9 dias no ensaio 2. Foi demonstrado assim, que menos dias de exposição promovem uma melhor recuperação das sementes quando transferidas para água e um efeito positivo do condicionamento osmótico no vigor da sementes.

Virgens et al. (2008), também verificaram durante ensaio de estresse hídrico que após transferência das sementes não germinadas de *M. urundeuva* para água, que as sementes submetidas ao potencial de -1,0 MPa, apresentaram 85% de germinação, sugerindo também este potencial para o pré-condicionamento de sementes desta espécie. Borges et al. (2002) ao trabalhar com sementes osmocondicionadas de tamboril-da-mata (*Platymiscium pubescens* Micheli), também uma espécie florestal arbórea nativa, mantidas em solução -0,4 MPa de PEG 6000 por 120 horas, apresentaram 66% de germinação quando transferidas para água.

As sementes do tratamento sob estresse térmico (semeadas em água à 40°C) não apresentaram capacidade germinativa quando transferidas para temperatura ótima de germinação (25°C), demonstrando assim, o efeito negativo do estresse térmico no vigor da semente, provavelmente por degradação dos metabólitos necessários para iniciar o processo germinativo.

### **4.3 Mobilizações de Reservas Durante a Germinação de Sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All submetidas a fatores abióticos**

Ao analisar a mobilização dos metabólitos primários determinados neste estudo, durante os estádios de desenvolvimento em cada tratamento isoladamente, verificou-se que a análise de variância ao nível de 5% de probabilidade ( $P < 0,05$ ) foi significativa para a maioria dos metabólitos analisados. Entretanto, os valores médios dos aminoácidos determinados no tratamento sob estresse térmico, não apresentaram diferença significativa, muito embora tenha havido uma tendência de mobilização dessas reservas. Os resultados demonstram que realmente, a mobilização de reservas durante a germinação tem por finalidade fornecer energia química e matéria para a formação da nova planta, sendo fator determinante do vigor da plântula produzida no final do processo e quando a semente está sob efeito de fatores de estresse pode haver alterações importantes.

Avaliando-se fisiologicamente o efeito do estresse hídrico, com base nos dados bioquímicos, pode-se inferir que as variações nos teores dos metabólitos quantificados em função da restrição hídrica imposta as sementes de aroeira-do-sertão provocou alterações quantitativas, entretanto, mantendo a continuidade do metabolismo celular. Ao passo que o estresse térmico, parece ter provocado efeitos deletérios na semente a ponto de inviabilizaram a germinação. Estes resultados estão de acordo com Bewley & Black (1994) que descreveram que o efeito da temperatura se dá especialmente na absorção de água, nas reações químicas que irão mobilizar ou degradar as reservas armazenadas e na síntese de várias substâncias para o crescimento das plântulas. Além disso, sabe-se que algumas temperaturas podem provocar alterações na membrana plasmática relacionados com a disponibilidade e uso de metabólitos primários. Os resultados neste estudo demonstram que as sementes de aroeira apresentam capacidade germinativa em limites bem definidos de temperatura.

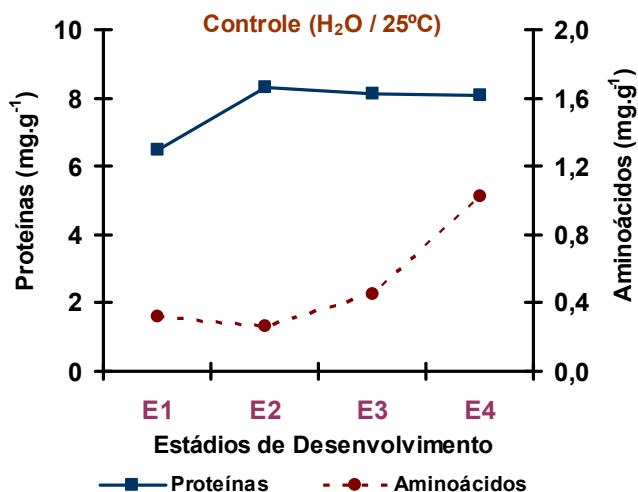
A Figura 15 representa os gráficos de tendência que demonstram conjuntamente a mobilização de proteínas e aminoácidos durante os estádios de desenvolvimento para cada tratamento analisado.

A concentração de proteínas, no tratamento controle inicialmente aumentou do estágio 1 para o estágio 2 e diminuiu muito pouco nos estágios 3 e 4, enquanto que entre os estágios 1 e 3 no tratamento sob estresse hídrico (Figura 15A e 15B), apresentaram um aumento, evidenciando assim a síntese deste metabólito. Fisiologicamente, entre os três estágios iniciais do desenvolvimento germinativo das sementes de *M. urundeuva*, ocorrem às três fases de absorção de água durante a embebição de sementes. De acordo com De Castro e colaboradores (2004), as sementes em um conteúdo de água de aproximadamente 50% já sintetizam DNA, RNA e proteínas, onde metabolicamente as primeiras atividades são associadas ao reparo dos danos acumulados durante a secagem e o período de armazenamento das sementes, com o reparo do DNA.

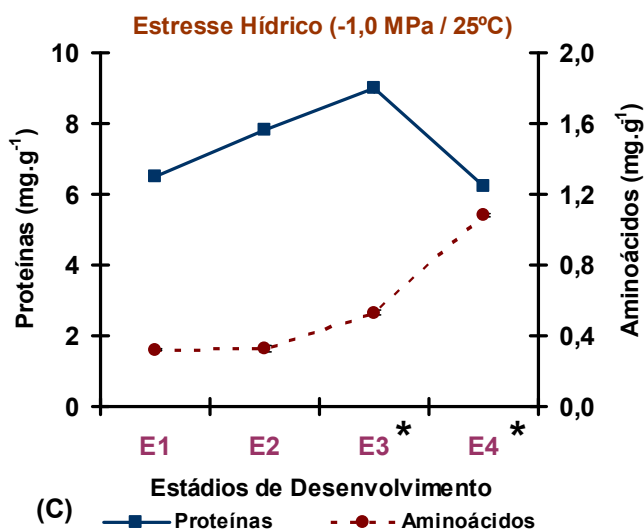
No estágio 4, a concentração das proteínas apresentaram um decréscimo, possivelmente por efeito da mobilização das reservas de nitrogênio, por serem as proteínas compostos de reserva em sementes que possuem nitrogênio em sua composição. Pontes e colaboradores (2002) quantificaram proteínas totais em sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa*) e verificaram que ocorreu aumento no teor de proteínas totais nas sementes durante o processo de embebição, associando este aumento à indução da biossíntese de enzimas hidrolíticas.

Outro aspecto a ser verificado é que do estágio 3 para o 4, quando o eixo embrionário está em crescimento, conforme o teor de proteínas diminui os de aminoácidos aumentam, provavelmente em função da hidrólise das proteínas de reserva liberando os aminoácidos constituintes. Esta hidrólise é realizada por proteases classificadas de acordo com sua atividade hidrolítica. Alguns aminoácidos resultantes da hidrólise são convertidos a amidas (glutamina e asparagina) e então transportados para o eixo em crescimento (BUCKERIDGE et al., 2004b). Além do aumento de aminoácidos livres a partir da degradação de proteínas, ocorre também biossíntese de novos aminoácidos, necessários inclusive para produção de novos compostos reguladores do desenvolvimento.

(A) ■  $y = -0,4665x^2 + 2,7892x + 4,2840$   $R^2 = 0,893$   
 ●  $y = 0,1568x^2 - 0,5506x + 0,7211$   $R^2 = 0,997$



(B) ■  $y = -1,0125x^2 + 5,1009x + 2,2208$   $R^2 = 0,849$   
 ●  $y = 0,1364x^2 - 0,4323x + 0,6233$   $R^2 = 0,997$



(C) ■ Proteínas - - ● - - Aminoácidos

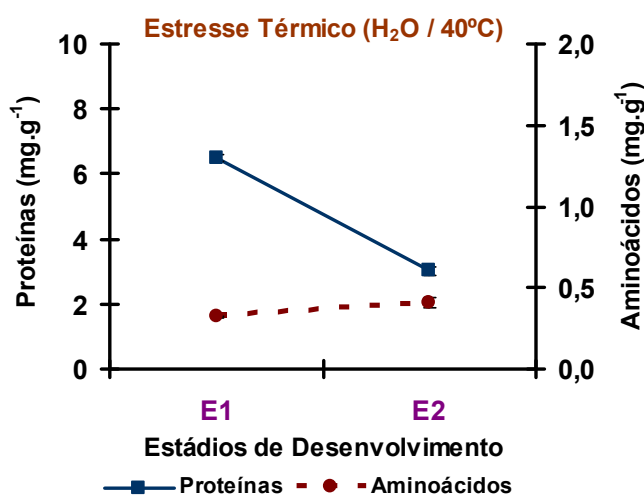


Figura 15.

Teores de Proteínas e Aminoácidos (mg.g<sup>-1</sup> MS) em cotilédones de sementes de *Myracrodruon urundeuva* nos diferentes estádios de desenvolvimento. (A) Tratamento Controle; (B) Tratamento sob Estresse Hídrico e (C) Tratamento sob Estresse Térmico.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).

\*Estádio 3 e 4 do tratamento de estresse hídrico corresponde aos teores analisados nos cotilédones das sementes expostas por 5 dias em solução de PEG 6000 em -1,0 MPa à 25°C seguida pela transferência para água.



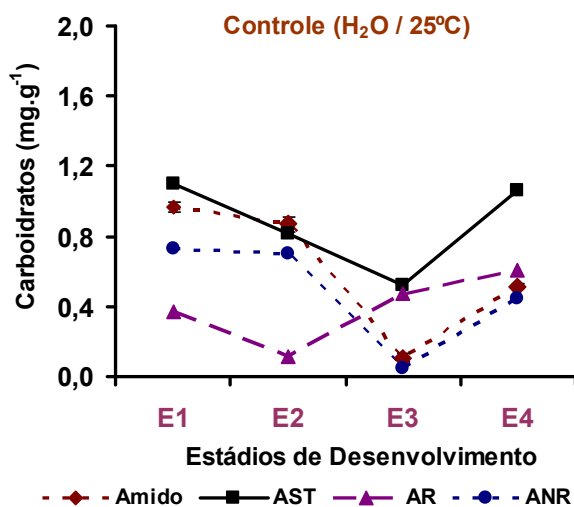
Bezerra e colaboradores (2003) verificaram aumento no teor de aminoácidos nos cotilédones de sementes em cultivares de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) durante a mesma fase de desenvolvimento que foi verificado no presente estudo. Os autores associaram este aumento à atividade enzimática. Bioquimicamente, as plantas alteram o metabolismo de várias maneiras, para acomodar o estresse ambiental, inclusive a produção de compostos osmorreguladores, tais como os aminoácidos prolina, glicina e a betaína (TAIZ & ZEIGER, 2004).

As Figuras 16 representam os gráficos de regressão que demonstram respectivamente a mobilização dos carboidratos (Amido, AST, AR e ANR) durante os estádios de desenvolvimento para cada tratamento analisado.

Com relação aos carboidratos analisados, de maneira geral, nos tratamentos controle e sob estresse hídrico (Figuras 16A e 16B), verificou-se nitidamente um decréscimo nos teores dos carboidratos nos cotilédones das sementes de aroeira-do-sertão durante o processo germinativo até a protrusão radicular (estádio 3). No estágio de plântula (estádio 4) os valores voltaram a aumentar. Estes resultados demonstram respectivamente o efeito da degradação (hidrólise) e do acúmulo (biossíntese) desses metabólitos, necessários para o fornecimento de energia química (ATP) e carbono para a germinação das sementes ou devido à translocação deste para o eixo embrionário e o desenvolvimento das plântulas.

Os dados bioquímicos obtidos no desenvolvimento germinativo de aroeira-do-sertão corroboram com Cardoso (2004), o qual afirma que durante a fase I da embebição, ocorre a reativação das enzimas mitocondriais do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa, assim como a reconstituição de cetoácidos ( $\alpha$ KG e piruvato) intermediários das vias respiratórias. Nesta fase, a disponibilidade de açúcares, principalmente sacarose (ANR), rafinose e estaquiose, mantém a respiração.

- (A)
- ◆  $y = 0,3058x^3 - 2,1673x^2 + 4,2629x - 1,4330$   $R^2 = 1$
  - $y = 0,1399x^3 - 0,8443x^2 + 1,2703x + 0,5295$   $R^2 = 1$
  - ▲  $y = -0,1406x^3 + 1,1525x^2 - 2,7304x + 2,0875$   $R^2 = 1$
  - $y = 0,2808x^3 - 1,9988x^2 + 4,0050x - 1,5596$   $R^2 = 1$



- (B)
- ◆  $y = 0,2576x^3 - 1,7032x^2 + 3,3442x - 0,9300$   $R^2 = 1$
  - $y = 0,1298x^3 - 0,6870x^2 + 0,6887x + 0,9640$   $R^2 = 1$
  - ▲  $y = 0,1019x^2 - 0,4216x + 0,6891$   $R^2 = 1$
  - $y = 0,1850x^2 - 1,0587x + 1,6398$   $R^2 = 0,884$

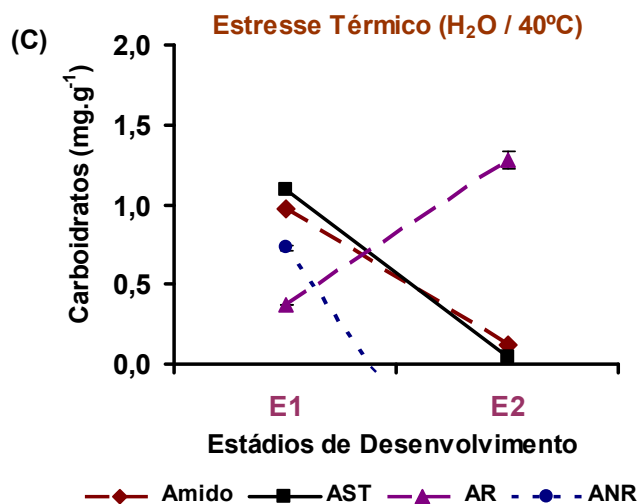
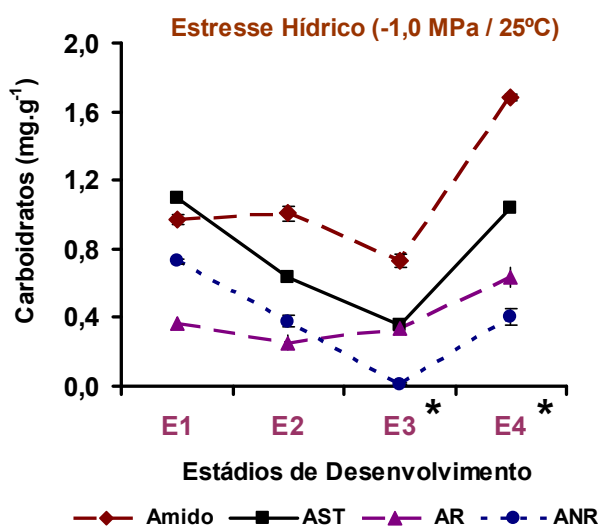


Figura 16.

Teores Carboidratos (mg.g<sup>-1</sup> MS) em cotilédones de sementes de *M. urundeuva* nos diferentes estádios de desenvolvimento. (A) Tratamento Controle; (B) Tratamento sob Estresse Hídrico e (C) Tratamento sob Estresse Térmico.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).

\*Estádio 3 e 4 do tratamento de estresse hídrico corresponde aos teores analisados nos cotilédones das sementes expostas por 5 dias em solução de PEG 6000 em -1,0 MPa à 25°C seguida pela transferência para água.

No tratamento controle, após o início do processo germinativo (do estágio 2 para o 3), dos carboidratos analisados, os teores de amido foram os que decresceram mais bruscamente, em conjunto com os ANR (Figura 16A). Este resultado provavelmente ocorreu em função do amido ser a principal forma de armazenamento da glicose, necessária no processo respiratório. Seu teor volta a aumentar no estágio 4, quando a planta inicia o processo de emergência e o estágio de plântula. Neste estágio os cotilédones já estão expandidos e de coloração verde, iniciando o processo de fotossíntese. Sendo assim, esse aumento na concentração de amido é proveniente da sua biossíntese a partir da glicose, por ser ele um dos produtos estáveis da fotossíntese. Além disso, as sementes se encontram em fase de divisão e expansão celular ao longo do seu desenvolvimento inicial, necessitando de maior quantidade de carboidratos livres para biossíntese de novos polissacarídeos e outros metabólitos primários.

O decréscimo nos teores dos carboidratos do estágio 1 ao 3, pode estar relacionado com a degradação destes em função da atividade respiratória. Nestes estádios de desenvolvimento as sementes já realizam atividade respiratória, pois esta é rapidamente iniciada uma vez que a semente começa a embeber, a partir de um conteúdo de água ao redor de 20% e diversas rotas e ciclos, como o ciclo de Krebs, são ativados (DE CASTRO et al., 2004). O processo respiratório constitui um dos eventos da reativação do metabolismo celular durante o processo de germinação que se inicia com o aumento da entrada de água por embebição. O consumo de carboidratos nos estádios iniciais para produção de ATP e de nicotinamida adenina de fosfato ( $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ), geradas via catabolismo (glicólise, via pentose fosfato, ciclo de Krebs e transporte de elétrons/fosforilação oxidativa), são utilizadas para iniciar a síntese de ácidos nucléicos e de proteínas (DE CASTRO et al., 2004b), o que pode ser verificado na germinação de sementes de aroeira-do-sertão. Além disso, nos estádios onde houve degradação de carboidrato verificou-se síntese de proteínas.

Assim como em sementes de aroeira-do-sertão, Pontes et al. (2002) verificaram em sementes de garapa (*Apuleia leiocarpa*) durante embebição, decréscimo nos teores de AST e aumento de AR. Os oligossacarídeos da família da rafinose são citados por Guimarães et al. (2001) como os açúcares utilizados

como fonte de energia durante a germinação, o que explicaria os aumentos verificados nos açúcares redutores nas sementes de aroeira-do-sertão e por Pontes et al. (2002) em sementes de garapa. Porém para a concentração de amido, os autores verificaram aumento e não decréscimo como foi registrado para as sementes de aroeira-do-sertão. Stone e Gifford (1999) observaram decréscimo de 80% dos carboidratos armazenados no megagametófito de sementes de *Pinus taeda* durante a germinação e no estágio de plântulas. Por outro lado, dados de Suda e Giorgini (2000) mostram o acúmulo de açúcares solúveis no embrião de amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*) durante a germinação. Esses comportamentos demonstram que realmente a utilização de amido ou de açúcares solúveis é variável, dependendo da espécie, podendo variar durante a germinação ou no estágio de plântula.

Verifica-se que em sementes secas de aroeira-do-sertão (E1) os teores de ANR são maiores que os de AR. Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), em algumas sementes a sacarose (ANR) mostra-se uniformemente distribuída no embrião seco e açúcares redutores, como a glicose, não são encontrados em quantidade até o embrião iniciar o crescimento. A sacarose desta forma pode ser o substrato respiratório inicial, relacionado com o aumento da taxa respiratória.

Em sementes de aroeira-do-sertão após o processo germinativo iniciado (E2) o decréscimo no teor de ANR no tratamento sob estresse hídrico é significativamente maior do que no tratamento controle. Além disso, verifica-se também aumento nos teores de AR em todos os tratamentos, com aumento significativo verificado para o tratamento sob estresse térmico. Este aumento nos AR está associado a degradação do amido e a utilização destes para realização de atividade respiratória pelas sementes de aroeira, pois parte dos AR produzidos durante a degradação de reservas de carboidratos é utilizada na respiração, sendo a principal fonte de energia durante o início da germinação das sementes. A outra parte dos AR são desviadas para a produção de sacarose (ANR) que será transportada para o eixo embrionário ou para a síntese do amido quando há excesso de AR nos tecidos de reserva (BEWLEY & BLACK, 1994; NELSON & COX, 2000).

A mobilização dos carboidratos nos tratamentos controle e sob estresse hídrico ocorreram de forma gradual (Figura 16A e 16B), porém verificou-se que no tratamento sob estresse hídrico, o teor de amido aumentou do estágio 1 para o 2 e ao atingir o estágio inicial de plântula (E4) apresentou concentração superior ao encontrado na semente quiescente (estádio 1), provavelmente devido a hidrólise enzimática do amido e oligossacarídeos ser menor. Esse comportamento demonstra que mesmo sob e após restrição hídrica, atividades metabólicas, como por exemplo, vias catabólicas e anabólicas estão ocorrendo normalmente, porém mais lentamente.

Além da respiração, muitos eventos do processo de germinação são iniciados mesmo em conteúdos limitados de água na semente. Avaliando-se os dados fisiológicos e verificando os resultados bioquímicos para o tratamento sob estresse hídrico, é possível compreender o efeito do condicionamento osmótico. Este permitiu maior uniformidade e velocidade de emissão de raiz e emergência de plântulas. Segundo Bradford (1990) esse comportamento pode ocorrer em função do acúmulo de solutos (açúcares, ácidos orgânicos e íons) provenientes da retomada do metabolismo da semente, resultando em maior turgescência na reidratação e promovendo a protrusão da raiz primária em menor tempo.

No estágio 4, as concentrações de todos os carboidratos de reserva são significativamente aumentadas, pois nesta fase inicia-se o processo de emergência e o estágio de plântula, um período em que segundo Larcher (2000) exige um pleno abastecimento de nutrientes, necessários para suprir o aumento de energia química e metabólitos utilizados na biossíntese. Pode-se atribuir também que um estado de hidratação suficiente para manter a turgescência durante o rápido crescimento em extensão e a diferenciação da parede celular. Os açúcares possuem papéis de reguladores centrais em muitos processos vitais da planta fotossintética. Diversos estudos utilizando plantas mutantes de *Arabidopsis* têm revelado o papel dos açúcares na regulação da expressão gênica, proliferação e morte celular, no crescimento da plântula, na expansão e senescência da folha e no desenvolvimento da semente (SMEEKENS, 2000; GIBSON, 2005; ROLLAND *et al.*, 2006).

Davide et al. (2008) em estudo morfo-anatômico, bioquímico e fisiológico em sementes de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish (candeia) durante a germinação, verificaram a atividade da enzima endo- $\beta$ -mananase aumentada após a emissão da raiz primária. Resultado semelhante foi registrado por Bewley (1997) em sementes de alface, em que a atividade desta enzima aumentou no endosperma apenas após o início da germinação das sementes. Aparentemente, esta enzima está amplamente associada com mobilização de reservas presentes nas paredes celulares como uma fonte inicial de reservas na forma de carboidratos para o início do estabelecimento da plântula (Bewley e Black, 1994). Eventos como este podem justificar os valores crescentes na concentração dos carboidratos de reserva verificados no estágio 4 do desenvolvimento germinativo das sementes de aroeira-do-sertão tanto nos cotilédones das sementes do tratamento controle quanto do tratamento sob estresse hídrico.

No tratamento sob estresse térmico (40°C) os teores dos carboidratos, com exceção dos AR, decresceram bruscamente demonstrando um efeito negativo da elevada temperatura, provocando uma degradação acelerada desses metabólitos (Figura 16C). Essa queda provavelmente deve ocorrer inicialmente em função do aumento da taxa respiratória que ocorre em sementes que se encontram em processo de deterioração avançado, uma vez que as enzimas envolvidas na respiração podem ser ativadas em sementes de qualidade reduzida (SHATTERS et al., 1994), a exemplo da malato desidrogenase (MDH), enzima importante na respiração celular.

Com a manutenção do estresse térmico verifica-se que as sementes não germinam. Neste caso a não germinabilidade das sementes nesta temperatura pode estar associada a provável desnaturação térmica das enzimas respiratórias e danos sobre as membranas, que praticamente paralisam a respiração mitocondrial, resultando na provável deterioração da semente.

O efeito quantitativo nos teores dos metabólitos em cada estágio de desenvolvimento em função dos fatores abióticos aplicados encontra-se nas tabelas 2 e 3 onde pode ser verificado sob estresse hídrico as variações nos teores dos metabólitos quantificados em função da restrição hídrica imposta as sementes aroeira-do-sertão provocou apenas alterações quantitativas, mas

manteve sob controle seus compostos de reserva. Ao contrário do estresse térmico, que aparentemente promoveu efeitos deletérios que inviabilizaram a germinação das sementes de forma irreversível.

No estágio 2 a análise de variância demonstrou interação significativa para todos os metabólitos quantificados, demonstrando assim que há diferença na concentração dos metabólitos nesta fase do desenvolvimento germinativo em função do fator abiótico aplicado. Porém, ao analisar pelo teste de Tukey as médias dos teores dos metabólitos quantificados, verificou-se que para o tratamento sob estresse hídrico, no qual este não interferiu no vigor das sementes, só houve diferença significativa entre as médias dos teores de AST que foi degradado em maior quantidade que no tratamento controle, provavelmente em função da manutenção da atividade respiratória, que é a principal fonte de ATP antes da emergência da radícula.

Estes resultados demonstram que para o tratamento sob estresse hídrico, a atividade metabólica da semente de aroeira-do-sertão foi iniciada normalmente e não interferiu no desenvolvimento germinativo da semente, pois estas após transferência para água mantiveram sua capacidade germinativa e conseqüentemente mobilizaram suas reservas, mesmo quando submetida ao agente osmótico no potencial aplicado (-1,0 MPa).

Nos estádios 3 e 4, no qual vale salientar que só há comparação do tratamento controle com o tratamento sob estresse hídrico, não houve interação significativa para as médias obtidas no estágio 3 tanto para os teores de proteínas como para os de aminoácidos. No Estádio 4 houve diferença significativa para proteínas, mas não houve para aminoácidos (tabela 2).

Para os teores médios dos carboidratos, as médias obtidas demonstraram interação significativa para todos os carboidratos quantificados no estágio 3, com exceção dos ANR e no estágio 4 foi verificado diferença significativa apenas para amido e ANR (tabela 3).

**Tabela 2:** Teores médios de proteínas e aminoácidos (mg/g massa seca) durante estádios do desenvolvimento germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a estresses abióticos.

Metabólito	Tratamentos	Estádios de desenvolvimento			
		E1 (semente seca)	E2	E3	E4
PROTEÍNAS (mg.g <sup>-1</sup> )	Controle		8,317 a	8,133 a	8,084 b
	Estresse Hídrico	6,500	7,800 b	8,984 a	6,234 a
	Estresse Térmico		3,034 c	-----	-----
CV (%)		2,188 <sup>ns</sup>	1,72*	3,76 <sup>ns</sup>	1,26*
AMINOÁCIDOS (mg.g <sup>-1</sup> )	Controle		0,268 b	0,455 a	1,028 a
	Estresse Hídrico	0,320	0,327 ab	0,530 a	1,082 a
	Estresse Térmico		0,409 a	-----	-----
CV (%)		1,55 <sup>ns</sup>	8,46*	3,42 <sup>ns</sup>	1,41 <sup>ns</sup>

**Tabela 3:** Teores médios de carboidratos (mg/g massa seca) – Amido, Açúcares Solúveis Totais (AST), Açúcares Redutores (AR), Açúcares Não Redutores (ANR) durante os estádios do desenvolvimento germinativo de sementes de *Myracrodruon urundeuva* submetidas a estresses abióticos.

Carboidratos	Tratamentos	Estádios de desenvolvimento			
		E1 (semente seca)	E2	E3	E4
AMIDO (mg.g <sup>-1</sup> )	Controle		0,871 a	0,108 b	0,516 b
	Estresse Hídrico	0,969	1,006 a	0,728 a	1,680 a
	Estresse Térmico		0,122 b	-----	-----
CV (%)		4,16 <sup>ns</sup>	7,91*	11,28*	2,32*
AST (mg.g <sup>-1</sup> )	Controle		0,813 a	0,520 a	1,058 a
	Estresse Hídrico	1,096	0,632 b	0,353 b	1,036 a
	Estresse Térmico		0,040 c	-----	-----
CV (%)		1,87 <sup>ns</sup>	1,97*	4,25*	2,18 <sup>ns</sup>
AR (mg.g <sup>-1</sup> )	Controle		0,112 b	0,473 a	0,609 a
	Estresse Hídrico	0,369	0,255 b	0,340 b	0,633 b
	Estresse Térmico		1,277 a	-----	-----
CV (%)		0,77 <sup>ns</sup>	10,84*	2,03*	12,15 <sup>ns</sup>
ANR (mg.g <sup>-1</sup> )	Controle		0,702 a	0,047 a	0,449 a
	Estresse Hídrico	0,728	0,378 b	0,013 a	0,404 a
	Estresse Térmico		-1,236 c	-----	-----
CV (%)		2,47 <sup>ns</sup>	-100,49*	34,80 <sup>ns</sup>	21,07*

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

\*significativo a 5%, ns – não significativo para o teste F da análise da variância (ANOVA).



Com relação ao tratamento sob estresse hídrico, apesar do tratamento aplicado não poder ser considerado como uma técnica de osmocondicionamento propriamente dita, pois o condicionamento não se deu com aeração e posterior secagem das sementes para semeadura. O método aplicado constitui o pré-condicionamento osmótico, o qual no potencial em que houve bloqueio da germinação das sementes, após transferências destas para a água a germinação ocorreu em bom percentual (85%). Sendo assim, os dados bioquímicos encontrados estão de acordo com Bradford (1999), que afirmou que por meio do osmocondicionamento ativam-se a digestão das reservas e a sua translocação e assimilação, para que as sementes componentes do lote alcancem estado metabólico relativamente uniforme quando o acesso à água é interrompido. Atrás dos dados bioquímicos obtidos e com base na literatura disponível também é possível inferir que no período em que as sementes estão sob efeito do condicionamento osmótico ocorre ativação de inúmeros eventos do processo germinativo, sem que ocorra a protrusão da radícula ou germinação propriamente dita, incluindo eventos como o reparo do DNA (S a G<sub>2</sub>) (DE CASTRO et al., 2004)

Para o tratamento sob estresse térmico, pode-se inferir que as sementes entraram em processo de deterioração em função dos efeitos deletério da alta temperatura e que bioquimicamente os dados encontrados demonstraram esta tendência. Como a coleta do material para análise bioquímica foi realizado com apenas 4 dias de exposição das sementes a temperatura de 40° C constante, não se pode afirmar que no momento da coleta as sementes já estavam mortas, porém provavelmente sua germinabilidade já tinha sido perdida, pois através dos dados bioquímicos foi possível verificar diferenças estatisticamente significativas na mobilização dos metabólitos, os quais apresentaram uma tendência de degradação acelerada de amido e AST, possivelmente em função da atividade respiratória na tentativa da semente de se manter viva e por perda da integridade das membranas.

Verificou-se também para este tratamento um grande aumento nos teores de AR e um decréscimo acentuado das proteínas no estágio 2, se comparado ao aumento verificado nos tratamentos controle e sob estresse hídrico (Tabela 3). Esse aumento dos AR pode estar associado a problemas no sistema de

membranas, onde segundo Basu (1995) muitas enzimas estão associadas, e qualquer mudança nessa integridade tem conseqüências fisiológicas e bioquímicas. De acordo com Bewley & Black (1994), além da perda da integridade das membranas, observam-se redução na produção de ATP e na síntese de proteínas e ácidos nucléicos e degeneração cromossômica.

Além do decréscimo de aproximadamente 50% nos teores de proteínas, verificou-se ainda sem ementes nas sementes de aroeira-do-sertão sob estresse térmico um aumento dos teores de aminoácidos (Tabela 2). Esta tendência pode indicar tanto uma inibição da síntese de proteínas, como uma acelerada degradação das mesmas, o que resultou num acúmulo de aminoácidos e provavelmente também de amins livres. Esses dados corroboram com Larcher (2000) que afirma que este efeito ocorre em plantas sob a influência de estresse térmico, no qual uma característica marcante de um distúrbio no metabolismo das proteínas é a mudança nas proporções de aminoácidos e, frequentemente, um enorme aumento na concentração de prolina.

Os dados encontrados no tratamento sob estresse térmico corroboram com os encontrados por Zeleny (1954) que verificou decréscimo em proteína e açúcares não-redutores e aumento em açúcares redutores e ácidos graxos livres, em cereais, associados com perda de vigor. Borges et al. (1990) em sementes de cedro (*Cedrela fissilís*) submetidas a temperaturas de 50°C, em câmara de envelhecimento observaram decréscimo no teor de carboidrato, porcentagem de germinação e grande aumento na permeabilidade da membrana. Sendo assim, no presente estudo, o aumento na concentração de AR nos cotilédones das sementes de aroeira-do-sertão pode está associado à perda do vigor das sementes por efeito da temperatura como foi analisado pelos autores.

Durante os estádios de desenvolvimento analisados verificou-se uma redução acentuada nos níveis de ANR tanto no tratamento controle como no tratamento sob estresse hídrico do estágio 2 para o 3, o que evidencia uma mobilização desta para o eixo embrionário. No estágio 4, os teores voltam a aumentar. Como os valores para os teores de ANR foi estimado em função da subtração dos valores encontrados de AST pelo de AR, no tratamento sob estresse térmico, os teores de AR, como já foi explicado acima, foi bem maior que

os de AST no estágio 2 (único que foi avaliado) e por esta razão o valor de ANR foi significativamente baixo, não podendo ser indicativo que a ANR esteja sendo mobilizada para o eixo devido a semente nem ter germinado após este estágio, podendo, desta forma ter sido utilizado em outras rotas ou ter sofrido degradação.

Priestley (1986), associou a perda de algumas formas de isoenzimas tais como, a peroxidase, fosfatase acida, desidrogenase, esterase e aminopeptidase com o envelhecimento severo de um grupo de espécie de sementes. Os resultados obtidos para os metabólitos analisados nas sementes de aroeira-do-sertão no tratamento sob estresse indicam que podem ter ocorrido degradação dessas enzimas, as quais inviabilizaram o desenvolvimento germinativo das mesmas, quando submetidas a estresse de temperatura.

## 5 CONCLUSÕES

Dentre os metabólitos primários analisados as proteínas, são os de maior concentração em sementes de *Myracrodruon urundeuva* e dentre os carboidratos de reserva, o amido é que se encontra em maior teor, sendo sua degradação e biossíntese diretamente relacionada com a diminuição e aumento da concentração de carboidratos não redutores (ARN), a exemplo da sacarose. Há uma relação direta entre a degradação e biossíntese de carboidratos, aminoácidos e proteínas, durante o desenvolvimento germinativo de *M. urundeuva*. No estágio 3 há uma diminuição de todos os carboidratos, excetuando os açúcares redutores (AR) tanto no tratamento controle quanto quando submetido a estresse. Enquanto que a concentração das proteínas e os aminoácidos aumentam neste estágio;

Avaliando-se o efeito do estresse hídrico quando comparado ao tratamento controle, pode-se inferir que as variações nos teores dos metabólitos quantificados em função da restrição hídrica imposta as sementes provocou apenas alterações quantitativas, mas manteve sob controle seus compostos de reserva. Ao contrário do estresse térmico, que aparentemente promoveu efeitos deletérios que inviabilizaram a germinação das sementes de forma irreversível. Sendo assim, pode-se inferir que sob déficit hídrico a concentração dos metabolitos pode ser alterada, porém não compromete o desenvolvimento germinativo da planta quando está encontrar um momento favorável para o início do seu processo germinativo, demonstrando assim certa tolerância ao estresse induzido. Este comportamento pode explicar o crescimento desta espécie em diferentes biomas e com características tão peculiares, a exemplo da Caatinga, que apresenta sistema de chuvas extremamente irregular de ano para ano, o que resulta em secas severas periódicas. Por outro lado altas temperaturas por muito tempo podem afetar o metabolismo celular de sementes de aroeira-do-sertão interferindo no processo germinativo. Esse fato pode comprometer a colonização de novas espécies, fazendo-se então sugestivo e necessário a introdução de plantas já estabelecidas, por exemplo, por meio de produção de mudas em ótimas de germinação, como estratégia de recuperação de áreas degradadas associada à tentativa de evitar a extinção da espécie por meio de sua manutenção *in situ*.

Apesar dos dados obtidos terem sido capazes de gerar informações conclusivas sobre o desenvolvimento germinativo de sementes de *M. urundeuva* em condições ótimas de germinação e sob efeito de fatores abióticos, como a disponibilidade hídrica e a temperatura, quando aplicados em condições limitantes para a germinação, faz-se necessária a realização de análise de lipídeos e de  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases para melhor compreender os mecanismos bioquímicos que ocorrem durante a germinação dessa espécie em condições ótimas de germinação e quando submetida a estresse hídrico e de temperatura. Sugerindo-se também com base nos dados obtidos gerar futuros estudos moleculares para compreensão dos mecanismos de resistência de plantas a estresses ambientais visando estratégias de bioprospecção da espécie.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALA, L. et al. Biochemical traits useful for the determination of genetic variation in a natural population of *Myracrodruon urundeuva*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.7, p.909-916, 2002.
- ARAÚJO, F. S. et al. Organização comunitária do componente lenhoso de três áreas de carrasco em Nova Oriente, CE. **Revista Brasileira de Biologia**, v.58, n.1, p.85-95, 1998.
- BASU, R.N. Seed viability. In: BASRA, A.S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: The Haworth Press, 1995. 388 p.
- BEEVERS, L.; GUERNSEY, F.S. Changes in some nitrogenous components during the germination of pea seeds. **Plant Physiology**. v. 41, p.1455-1458, 1986.
- BERGER, A. P. A. et al. Emergência de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) do Vale do Rio Araguari, MG. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p. 1029-1031, 2007.
- BEWLEY J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, Rockville, v. 9, n. 7, p.1055-1066, 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: Physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.
- BEZERRA, M. A. et al. Caracterização morfológica e mobilização de reservas durante os estádios iniciais de desenvolvimento de plântulas de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ciência Agronômica**, v.34, n.2, p.253-259, 2003.
- BORGES, E.E.L. et al. Comportamento fisiológico de sementes osmocondicionadas de *Platymiscium pubescens* (tamboril-da-mata). **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.5, p.603-613, 2002.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Org.). **Sementes Florestais Tropicais**. 1ª ed. Brasília: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1993, 350 p.

BORGES, EEL et al. (1990). Avaliação Fisiológica de Sementes de Cedro Submetidas a Envelhecimento Precose. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 12, no 1, p. 56-62.

BRADFORD, K. J. A water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiol.** v.94, p.840-849, 1990.

BRADFORD, K.J. Water relations on seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. 853 p.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem.** V.72, P.248-254, 1976.

BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. 3ªed. Rocjville: American Society of Plant Physiologists, 2000. 1367 p.

BUCKERIDGE, M. S. et al. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes: estrutura, metabolismo e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, p.137-162, 2000.

BUCKERIDGE, M. S. Respiração, p.198-216. In: KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 452p.

BUCKERIDGE, M.S.; AIDAR, M.P.M.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S. Acúmulo de reservas, p. 31-50. In: FERREIRA, A.G; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 2004a. 324 p.

BUCKERIDGE, M.S.; AIDAR, M.P.M.; SANTOS, H.P.; TINÉ, M.A.S. Mobilização de reservas, p. 163-185. In: FERREIRA, A.G; BORGHETTI, F (org). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed. 2004b. 324 p.

- CABRAL, C. D. O.; CARNIELLO, M. A. Formas de Uso Medicinal da aroeira *Myracrodruon urundeuva* FR. ALL., em Porto Limão, Cáceres - MT. In: IV Simpósio Sobre Recursos Naturais e Sócio-Econômicos do Pantanal, 2004, Corumbá - MS. **Anais...IV Simpósio Sobre Recursos Naturais e Sócio-Econômicos do Pantanal**, 2004.
- CALDEIRA, S. F.; PEREZ, S. C. J. G. A. Qualidade de diásporos de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Armazenados sob diferentes condições. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.3, p.185-194, 2008.
- CARDOSO, V. J. M. Germinação, p. 386 – 408. In: KERBAUY, G.B. (Org.). **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro – RJ: Editora Guanabara Koogan, 2004. 451 p.
- CARMELLO-GUERREIRO, S.M.; PAOLI, A.A.S. Aspectos morfológicos e anatômicos da semente de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem.- (Anacardiaceae), com notas sobre paquicalaza. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, p.222-228, 1999.
- CARON, B. O., et al. Análise de crescimento de plantas de aroeira vermelha no município de Ji-Paraná, RO. **Uruguiana**, v.14, n.1, p. 1-13. 2007
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4ªed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CORRADINI, E. et al. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros**, São Carlos, vol.15, no.4, 2005.
- CORRUZI, G.; LAST. R. Amino acids, p. 358-411. In: BUCHNANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. American Society of Plant Biology, Rockville, Md. 2000. 1367 p.
- CORSINO, JOAQUIM. **Apostila de aula Prática de Bioquímica**. Faculdade Estácio de Sá de Campo Grande-MS. Campo Grande – MS 2008.



- CORTE, V. B. et al. Mobilização de reservas durante a germinação de das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (LEGUMINOSAE-CAESALPINOIDEAE). **Revista Árvore**, v.30, n.6, p.941-949, 2006.
- DAVIDE, A.C.; JAROSCHINSKI E SILVA, C. S.; DA SILVA, E. A. A.; PINTO, L. V. A.; FARIA, J. M. R. Estudos morfo-anatômicos, bioquímicos e fisiológicos durante a germinação de sementes de candeia (*Eremanthus erythropappus*) (DC.) MacLeish1. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 30, nº 2, p.171-176, 2008.
- DE CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J. HILHORT, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo, p. 149-162. FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F.(Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Ed. Artmed. 2004b. 324 p.
- DORNELES, M.C.; RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.28, n.2, p.399-408, 2005.
- DUARTE, E.F.; MORAIS, O.M.; NAKAGAWA, J. Avaliação da germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem.) Anacardiaceae, em diferentes substratos, com e sem exo e mesocarpo. In: XIII Congresso Da Sociedade Botânica De São Paulo, 2000, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: USP, 2000.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45<sup>a</sup> Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP, 2000. **Anais...** p.255-258. 45<sup>a</sup> Reunião, 2000.
- FIGUEIRÔA, J. M., BARBOSA, C. A.;SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botânica Brasilica**, v.18, n.3, p.573-580, 2004.
- FREITAS, M.L.M.; et al. Variabilidade genética intrapopulacional em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Por marcador AFLP. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.2, n.68, p.21-28, 2005.

GALLÃO, M. I.; DAMASCENO, L. F.; BRITO, E. S. Avaliação química e estrutural da semente de Moringa. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.106-109, 2006.

GIBSON, S.I. Control of plant development and gene expression by sugar signaling. **Plant Biology**, v. 8, p.93-102, 2005.

GONZAGA, T.W.C. et al. Crioconservação de sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* Engl.), e baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.5, n.2, p.145-154, 2003.

GUIMARÃES, R.M. **Fisiologia de sementes**. Lavras: UFLA-FAEPE, 1999. 132p. (Curso de Pós-Graduação "Lato Sensu" (Especialização) a distância: Produção e Tecnologia de Sementes).

HAMMOND, J. Z.; BURTON, K .S. Leaf starch metabolism during the growth of pepper (*Capsicum annuum*) plants. **Plant Physiology**, v.73, p.61-65, 1983.

HEWITT, J.D.; CASEY, L.L.; ZOBEL, R. W. Effect of day length and night temperature on starch accumulation and degradation in soybean. **Annals of Botany**, v.56, p.513-522, 1985.

IBAMA. **Lista oficial das espécies da flora ameaçadas de extinção**. Diário Oficial. Portaria 006/92-N de 15 de janeiro de 1992.

International Union For Conservation Of Nature And Natural Resources. **Iucn Red List**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/>> Acesso em: 09 outubro.2008.

KAYS, E. J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: VanNostrand Reinhold, 1991. 532 p.

LACERDA, C. M. B.; KAGEYAMA, P. Y.; FERRAZ, E. M. Diversidade isoenzimática em *Myracrodruon urundeuva* em duas situações antrópicas no semi-árido. **Scientia Forestalis**, v.55, p.88-95, 1999.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000, 531p.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C (org.). **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2003, 822 p.

LEHNIGER, Albert Lester. **Bioquímica**: Biossíntese e a utilização da energia das ligações das ligações de fosfato. Ed. Edgar Blucher Ltda. 2002.

LOWRY, O.H.; ROSEMBROUGH, N.J.; FARR, A.L. and RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, January 1951, vol. 193, no. 1, p. 267-275.

LUCIO, A. A. ; SILVA, F.F.S. ; RIBEIRO, L. S. ; DANTAS, B. F. ; KIILL, L. H. P. Comportamento fisiológico de sementes de aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Anacardiaceae) submetidas a diferentes temperaturas de germinação. In: XX Seminário Panamericano de Sementes, 2006, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza : ABRASEM, 2006

MEDEIROS, A.C.S.; SMITH, R.; PROBERT, R.; SADER, R. Comportamento fisiológico de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) em condições de armazenamento. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Colombo, n. 40, p. 85-98, 2000.

MENDONÇA, C.G. et al. Efeitos de surfatantes sobre a tensão superficial e a área de molhamento de soluções de glyphosate sobre folhas de tiririca. **Planta Daninha**, v.13, n.3, p.355-65, 1999.

MERKLE, S.A.; PARROTT, W.A.; FLINN, B.S. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: THORPE, T. A. (Ed.) **In vitro embryogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. p. 155-203.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p. 426-428, 1959.

MIRANDA, W. O. et al. Influência da luz na germinação de sementes de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) ocorrentes em dois fragmentos da floresta estacional decidual no nordeste de Minas Gerais. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil,

2007, Caxambu, Minas Gerais. **Anais...** VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu, Minas Gerais, 2007.

MORAES, M. L. T. de; MORAES, S. M. B.; KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A. M. Análise genética de fenótipos isoenzimáticos e desequilíbrio de ligação em *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, v. 16, n. 2, p. 83-90, 2004.

MORAIS, João Paulo Saraiva. **Estudos Sobre a Propagação *In Vitro* da Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* FR. ALLEMÃO)**. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências). UFC. Fortaleza – CE. n,1, p.101-113, 2000.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 3<sup>rd</sup>. Ed. New York, Worth Publishers. 2000.

NUNES, Y. R. F. et al. Aspectos ecológicos de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão-Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. **Revista Árvore**, v.32, n.2, p.233-243, 2008. Disponível em: <[www.iucnredlist.org/](http://www.iucnredlist.org/)> Acesso em: 09 outubro. 2008.

OLIVEIRA, Alan Martins de et al. Salinidade na Germinação e Desenvolvimento de Plântulas de Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Revista Caatinga**. UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO (UFERSA). Mossoró, Brasil, v.20, n.2, p.39-42, abril/junho 2007. Disponível em: <<http://www.ufersa.edu.br/caatinga>>. Acesso em: 09 outubro de 2007.

PACHECO, M. V. et al. Efeito da temperatura e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE). **Revista Árvore**, v. 30, n. 3, p. 359-367, 2006.

PASSOS, Leônidas Paixão. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, 1996. 233 p.

PINTO L. S. et al. Caracterização química e bioquímica de sementes de *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.3, p.385-390, 2005.

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

PRIESTLEY, D.A. **Seed ageing**. New York: Comstock Publication Association, 1986.

QUEIROZ, C. G. S.; GARCIA, Q. S.; FILHO, J. P. L. Atividade fotossintética e peroxidação de lipídios de membranas em plantas de aroeira-do-sertão sob estresse hídrico e após reidratação. **Braz. J. Plant Physiol.** V.14, p.59-63, 2002.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485 - 492, 2002a.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001. 906p.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant Physiology**. California, Wadsworth Publishing Company, 1992. 682p.

SHATTERS, R.G.JR.; ABDELGHANY, A.; ELBAGOURY, O.; WEST, S.H. Soybean seed deterioration and response to priming: changes in specific enzyme activities in extracts from dry and germinating seeds. **Seed Science Research**, v.4, p.33-41, 1994.

SHEWRY, P.R.; CASEY, R. **Seed Proteins**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands. 1999.

SILVA, A. P. ; LUZ, S. R. S.; RIBEIRO, R. A M ; RIBEIRO, L. S. ; RIBEIRO, L. de Sá ; ARAGÃO, C. A.; DANTAS, B. F. Curva de embebição em sementes de Aroeira (*Myacrodruva urundeuva* fr. all). In: REUNIÃO NORDESTINA DE BOTÂNICA, 2004, Petrolina. **Anais...Reunião Nordestina de Botânica**, 2004.

SILVA, F.A. de M.; MELLONI, R.; MIRANDA, J.R.P. de e CARVALHO, J.G. de. Efeito do estresse salino sobre a nutrição mineral e o crescimento de mudas de

aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) cultivadas em solução nutritiva. **CERNE**, v.6, N.1, p.052-059, 2000.

SILVA, G. C. et al. Efeito de diferentes concentrações de cloreto de cálcio na qualidade do abacaxi “Pérola” minimamente processado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 25, n. 2, p. 216-219, 2003.

SILVA, L. M. M.; RODRIGUES, T. J. D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz e da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, v.26, n.6, p.691-697, 2002.

SILVA, Milena Dutra. **Estudo farmacobotânico de três espécies medicinais da Caatinga em Pernambuco**. 2008. 74f. Dissertação (Mestrado em Botânica). UFRP, Recife-PE.

SMEEKENS, S. 2000. Sugar-induced signal transduction in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 51: 49-81.

SOUZA, C.A.F.D. & NEVES, V.A.. **Experimentos de Bioquímica: Oligossacarídeos**. Disponível em:

<[http://www.fcfar.unespbr/.../introducao\\_ch\\_cont.htm](http://www.fcfar.unespbr/.../introducao_ch_cont.htm)>, Acessado em: 5/10/2009.

SOUZA, S.C.A. et al. Germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) submetidas à estocagem. In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil. 2007. **Anais...** do VIII Congresso de Ecologia do Brasil Caxambu – MG.

STONE, S. L.; GIFFORD, D. J. Structural and biochemical changes in Loblolly pine (*Pinus taeda*) seeds during germination and early seedling growth. II. Storage triacylglycerols and carbohydrates. **International Journal Plant Science**, v. 160, n. 4, p. 663-671, 1999.

SUDA, N. K. C.; GIORGINI, J. F. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 3, p. 226-245, 2000.

TAIZ, E.; ZEIGER, L. **Fisiologia vegetal**. 3ªed. Porto Alegre: ARTMED , 2004. 719p.

TEÓFILO, E.M. et al. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* ) em função do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.35, n.2, p.371-376, 2004.

TINÉ, M.A.S. **Mobilização de xiloglucano de reserva em sementes de *Hymenaea courbaril* L.**, Campinas, UNICAMP, 1997, 85p. (Dissertação de mestrado) Unicamp, 1997.

TROVÃO, D. M. B. M. et al. Avaliação do potencial hídrico de espécies de Caatinga sob diferentes níveis de umidade no solo. **Revista de Biologia e Ciências da Terra** V.4, nº 2. 2004.

TROVÃO, D. M. B. M. et al. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, p. 307-311, 2007.

VAN DEN ENDE, W.; VANLAERE, A. Purification and properties of a neutral invertase from roots of *Cichorium intybus*. **Physiologia Plantarum**, v. 93, n. 2, p. 241-248, 1995.

VENTURIN, N.; SOUZA, P. A. de; VENTURIN, R. P. Avaliação nutricional da candiúva (*Trema micrantha* L. Blumes) em casa de vegetação. **Floresta**, Rio de Janeiro, v.29 (1/2), p.15-26, Nov. 2000.

VIRGENS, I. O.; TELES, C. A. S.; CASTRO, R. D.; FERNANDEZ, L. G.; LOUREIRO, M. B. Avaliação do comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. Submetidas a estresse hídrico. In: 59° Congresso Nacional de Botânica, 2008, Natal – RN. **Anais...** 59° Congresso Nacional de Botânica. Natal – RN, 2008.

VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. Structural aspects and trends in the evolution of recalcitrant seeds in dicotyledons. **Seed Science Research**, London, v.4, p.225-239, 1994.

VON TEICHMAN, I. & VAN WYK, A.E. Trends in the evolution of dicotyledonous seeds based on character associations, with special reference to pachychalazy and recalcitrance. **Bot. J. Linn. Soc.**, London, v.105, p211-37, 1991.

WINTER, H.; HUBER, S.C. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.19, p. 31-67, 2000.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B. V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Quim. Nova**, v. 21, n. 6, p. 787-793, 1998.

ZELENY, L. Chemical, physical, and nutritive changes during storage. In: ANDERSON, J.A.; ALCOCK, A.W. (eds.) **Storage of cereal grains and their products**. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1954. p.46-76.



## **AVALIAÇÃO FISIOLÓGICA E BIOQUÍMICA DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (ANACARDIACEAE) SUBMETIDAS A DIFERENTES FATORES ABIÓTICOS**

**RESUMO GERAL** - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., (aroeira-do-sertão) constitui uma espécie arbórea de uso múltiplo e por esta razão tem sido maciçamente explorada, estando atualmente incluída na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção. Sendo uma planta da Caatinga enfrenta condições adversas em relação a solo, precipitação pluviométrica e temperatura. Este trabalho teve por objetivo avaliar o comportamento fisiológico e o metabolismo germinativo de sementes de *M. urundeuva*, visando compreender as estratégias de sobrevivência/adaptação da espécie nas fases iniciais do seu ciclo de vida. Estudos fisiológicos foram conduzidos em três etapas. Na etapa I (*screening* térmico), testando-se temperaturas de 20 a 40 °C, com intervalos de 5°C, ajustando-se em seguida a temperatura de 50% de germinação (T50) em 33°C. Na etapa II (*screening* hídrico), sementes foram expostas a soluções de PEG 6000 em diferentes potenciais osmóticos (0,0 a -1,2 MPa), ajustando-se o potencial de 50% de germinação ( $\psi_{50}$ ) em -0,7 MPa. Na etapa III (combinação dos fatores), combinou-se a T50 com diferentes potenciais osmóticos (0,0; -0,2; -0,7 e -1,0 MPa) e o  $\psi_{50}$  com as temperaturas de 25, 33 e 40°C. Os ensaios foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes/tratamento. Os parâmetros avaliados foram: emissão de raiz primária, sementes mortas e não germinadas. Foram calculados a germinabilidade (%), o índice de velocidade de germinação, o tempo médio de germinação, a velocidade média de germinação e o coeficiente de uniformidade. A partir dos dados fisiológicos obtidos foram quantificados os teores dos metabólitos primários durante o desenvolvimento germinativo. Os metabólitos quantificados foram: carboidratos (açúcares solúveis totais, açúcares redutores, sacarose e amido), proteínas totais e aminoácidos. Cotilédones foram extraídos de sementes embebidas em água destilada ou PEG 6000 em diferentes tratamentos (0,0 MPa/25°C (controle); -1,0 MPa/25°C (sob estresse hídrico) e 0,0 MPa / 40°C (sob estresse térmico), nos seguintes estádios de desenvolvimento: Estádio 1 (sementes secas); Estádios 2 (sementes embebidas); Estádio 3 (sementes com emissão de raiz) e Estádio 4 (plântula). A temperatura de 25°C foi estabelecida

como temperatura ótima, 33°C como T50 e 40°C como a temperatura de estresse (germinação nula); No potencial osmótico de -0,2 MPa as sementes apresentaram máxima germinabilidade, a -0,7 MPa considerou-se como  $\psi_{50}$  (60%) e a partir do potencial de -1,0 MPa as sementes apresentaram germinabilidade nula. A combinação dos fatores afetou significativamente o comportamento fisiológico das sementes evidenciando que a combinação entre altas temperatura e diminuição dos potenciais osmóticos reduz a germinação e o vigor das sementes. Bioquimicamente, as proteínas, foram os metabólitos de maior concentração em sementes de aroeira e dentre os carboidratos de reserva, o amido é que se encontra em maior concentração. Existe relação direta entre a degradação e biossíntese de carboidratos, aminoácidos e proteínas, durante o desenvolvimento germinativo. As variações nos teores dos metabólitos em função da restrição hídrica imposta as sementes provocou alterações quantitativas, mas manteve sob controle seus compostos de reserva, inferindo-se que sob déficit hídrico a concentração dos metabólitos pode ser alterada, porém não compromete o desenvolvimento germinativo, demonstrando assim certa tolerância ao estresse induzido. O estresse térmico promoveu efeitos deletérios que inviabilizaram a germinação das sementes de forma irreversível. Os dados obtidos foram capazes de gerar informações conclusivas sobre o desenvolvimento germinativo de sementes de aroeira-do-sertão em condições ótimas de germinação e sob efeito de fatores abióticos, como a disponibilidade hídrica e a temperatura, quando aplicados em condições limitantes para a germinação. Sugere-se a introdução de plantas já estabelecidas como uma estratégia de recuperação de áreas de degradação associada à tentativa de evitar a extinção da espécie através da sua conservação em *in situ* já que as condições abióticas influenciam significativamente no desenvolvimento inicial da planta e conseqüentemente o estabelecimento da espécie.

**Palavras-chave:** Aroeira-do-sertão, *screening* térmico e hídrico, estresse combinado, metabolismo germinativo.

**PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EVALUATION OF GERMINATION OF  
*Myracrodruon urundeuva* Fr. All (ANACARDIACEAE) SEEDS SUBMITTED  
TO DIFFERENT ABIOTICS FACTORS**

**GENERAL ABSTRACT** - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., (aroeira-do-sertão) is a tree species with multiple uses and therefore has been heavily exploited and being currently included in the official list of endangered species. Being a plant of the Caatinga facing adverse conditions in relation to soil, rainfall and temperature. Therefore, the water and thermic potential are important factors to be studied in the development of this plant. This study aimed to evaluate and compare the physiological behavior and germinative metabolism of *M. urundeuva* seeds, seeking to understand the strategies of survival / adaptation of the species in the early stages of its life cycle. The seeds were harvested from plants located in the region of Petrolina - PE. Physiological studies were conducted in three stages. In step I (thermal screening), seeds were placed in incubators at 20 to 40°C, with intervals of 5°C, setting the 50% germination temperature (T50) at 33°C. In a second step (water screening), seeds were exposed to PEG 6000 at different osmotic potentials (0,0 to -1,2 MPa) adjusting the 50% potencial ( $\psi_{50}$ ) at -0,7 MPa. In step III (combination of factors), was combined T50 with different osmotic potentials (0,0; -0,2; -0,7 and -1,0 MPa) and  $\psi_{50}$  with temperatures of 25, 33 and 40°C. The assays were conducted in a completely randomized design with four replications of 50 seeds / treatment. The parameters evaluated were primary root emission, dead seeds and do not germinated. It was calculated the Germination (G%), the Index of Germination Speed, the Average Time Germination, the Average Speed Germination and the Uniformity Coefficient. From the physiological data obtained, were quantified the levels of primary metabolites during the germinative development. The metabolites quantified were: carbohydrates (soluble sugars, reducing sugars, sucrose and starch), protein and amino acids. Cotyledons were extracted from seeds embibed in distilled water or PEG 6000 in differents treatments (0,0 MPa/25°C (control); -1.0 MPa/25°C (under water stress) and 0,0 Mpa/40°C (under heat stress) in the following developmental stages: Stage 1 (dry seeds); Stage 2 (imbibed seeds); Stage 3 (seeds with root emission) and Stage 4 (seedling). At 25°C as optimum temperature, 33°C as T50 and 40 °C as the stress temperature (null germination). At osmotic potencial from

the -0,2 MPa the seeds showed maximum germination, in the water screening, -0,7 MPa was considered  $\psi_{50}$  (60% of germination) and from the -1,0 MPa potential the seeds don not germinate. In the combination of factors just germinated seeds from -0,2 MPa/33°C treatment (only 12%), demonstrating that the combination of the two factors significantly affected the physiological performance of seeds and the combination of high temperatures and decreased of water potentials reduce the germination and vigour of them. Biochemically, the proteins are the highest metabolites in aroeira seeds and among the reserve carbohydrates, starch that is found in highest concentration. There is a direct relationship between the degradation and biosynthesis of carbohydrates, amino acids and proteins during germinative development. The variations in the levels of metabolites in function of water restriction imposed to seeds caused quantitative changes, but kept under control their reserve compounds, implying that under water stress the concentration of metabolites can be changed, but does not compromise germinative development, thus showing some tolerance to induced stress. Thermal stress promoted deleterious effects that made it impossible to seed germination irreversibly. The data obtained were able to produce conclusive information on the germinative development of aroeira seeds in optimum conditions for germination and under the abiotic factors influence, as water availability and temperature, when they are applied in limiting conditions for germination. Suggest the introduction of plants already established as a strategy for recover degraded areas associate with the attempt to prevent the extinction of species by their conservation *in situ* as the abiotic conditions influence significantly the initial development of this plant and consequently the establishment of this species.

Keywords: Aroeira-do-sertão, thermal and water screening, combined stress, germinative metabolism.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.