



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO



UNIDADE ACADÊMICA ESPECIALIZADA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - UAECIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

**VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE *Acacia mangium* WILLD. EM FUNÇÃO
DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO**

GUILHERME VINICIUS GONÇALVES DE PÁDUA

Macaíba, RN
Fevereiro – 2017

GUILHERME VINICIUS GONÇALVES DE PÁDUA

**VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE *Acacia mangium* WILLD. EM FUNÇÃO
DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Macaíba-RN, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Florestais.

Orientador:

Prof. Dr. Mauro Vasconcelos Pacheco

Coorientadores:

Dra. Cibele dos Santos Ferrari

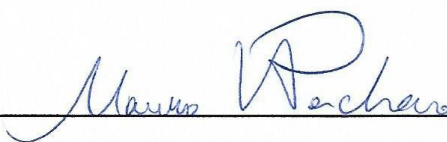
Prof. Dr. Eduardo Luiz Voigt

Macaíba, RN

Fevereiro – 2017

**VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE *Acacia mangium* Willd. EM
FUNÇÃO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO**

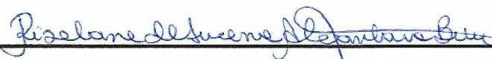
Dissertação avaliada e aprovada pela banca examinadora em 16 de fevereiro de 2017



Prof. Dr. Mauro Vasconcelos Pacheco
UAECIA/UFRN
Presidente



Prof. Dr. Márcio Dias Pereira
UAECIA/UFRN
Examinador interno



Profa. Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno
UFPB
Examinador externo

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte: UFRN - Biblioteca Setorial da Escola Agrícola Jundiá - EAJ

Pádua, Guilherme Vinicius Gonçalves de.

Viabilidade e vigor de sementes de *Acacia mangium* WILLD. em função da temperatura de armazenamento / Guilherme Vinicius Gonçalves de Pádua. - Macaíba, 2017.
50f. : il.

Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais.

Orientador: Mauro Vasconcelos Pacheco.

Coorientador: Cibele dos Santos Ferrari.

Coorientador: Eduardo Luiz Voigt.

1. Deterioração - Dissertação. 2. Longevidade - Dissertação. 3. Qualidade fisiológica - Dissertação. I. Pacheco, Mauro Vasconcelos. II. Ferrari, Cibele dos Santos. III. Voigt, Eduardo Luiz. IV. Título.

RN/UF/BSPRH

CDU 631.53.02

A Deus, por ter me proporcionado força e sabedoria para continuar minha caminhada.

A minha mãe Maria Nogueira da Silva e a Luan César Ferreira Simões pelos esforços prestados em prol do meu desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e sua legião de anjos protetores por estarem sempre em meu caminho, ajudando em meu sucesso.

A Universidade Federal do Rio Grande do Norte pela oportunidade a mim oferecida e pela contribuição na minha formação profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, pela oportunidade a mim conferida de obter o título de mestre.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio a esta pesquisa na concessão de bolsas.

À minha mãe, Maria Nogueira da Silva, pelos esforços feitos e incentivos aos estudos, e a todos os outros familiares que estiveram presentes em minha formação.

A Luan César Ferreira Simões, pelos esforços prestados em prol do meu desenvolvimento.

Ao professor Dr. Mauro Vasconcelos Pacheco, por ser um grande profissional, por ter acreditado em mim, me orientado e pelo compartilhamento do saber.

A Cibele dos Santos Ferrari, pela disponibilidade, orientações, cooperação e apoio.

Ao professor Dr. Eduardo Luiz Voigt, por ter me acolhido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal, pelos ensinamentos e orientações.

Aos colegas de curso, dos quais pude compartilhar momentos de aprendizados e felicidades, que jamais vou esquecer.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Sementes Florestais: Amanda Brito, Francival Cardoso, Josenilda Aprígio, Luiz Augusto, Priscilla Barros, Sarah Nunes por terem ajudado na implantação e condução do trabalho e pela força.

À equipe (alunos, técnicos, professores) do Laboratório de Estudos em Biotecnologia Vegetal, pela disponibilidade, cooperação e apoio com materiais.

Àqueles que auxiliaram direta e indiretamente na execução deste projeto, especialmente Danilo Flademir, Sanielly Maria, Ana Paula e Jéssica Mayara pela dedicação, atenção, simpatia e amizade.

A todos que colaboraram de alguma forma para o meu crescimento profissional e pessoal e que continuam a acrescentar bons valores, fortalecendo-me sempre de esperança, felicidade, alegria e amor.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMO.....	11
ABSTRACT	12
1. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS SOBRE A ESPÉCIE.....	13
1.2 PROPAGAÇÃO SEXUADA E QUALIDADE DE SEMENTES.....	14
1.3 DETERIORAÇÃO DE SEMENTES.....	15
1.4 ARMAZENAMENTO DE SEMENTES ORTODOXAS	16
1.5 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS CAUSADAS PELA DETERIORAÇÃO DE SEMENTES	17
1.6 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES	18
2. JUSTIFICATIVA	19
REFERÊNCIAS	20
VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE <i>Acacia mangium</i> WILLD. EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO.....	25
Resumo	25
Abstract	26
INTRODUÇÃO	27
MATERIAL E MÉTODOS	28
RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS	46

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Teor de água (A), germinação (B) e plântulas anormais (C) provenientes das sementes de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses36
- Figura 2. Primeira contagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação de sementes (B) e massa seca de plântulas (C) de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses38
- Figura 3. Emergência (A) e índice de velocidade de emergência de plântulas (B) de *A. mangium* originadas de sementes armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses.....40
- Figura 4. Conteúdo de amido (A), açúcares solúveis totais (AST) (B) e açúcares não redutores (ANR) (C) nas sementes de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses.....42
- Figura 5. Conteúdo de proteínas solúveis (PS) (A) e aminoácidos livres totais (AALT) (B) em sementes de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resumo da análise de variância (ANOVA) para os fatores temperatura e período de armazenamento de sementes avaliados em função das variáveis germinação (G), primeira contagem da germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca (MS-PI) de plântulas, emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência (IVE), açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR) amido (A), aminoácidos livres totais (AALT) e proteínas solúveis (PS) em sementes de *A. mangium*..... 32

Tabela 2. Correlações significativas de Pearson (r) entre as variáveis fisiológicas (germinação (G), primeira contagem da germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca (MS-PI) de plântulas, emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência (IVE)) e bioquímicas (açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), amido (A), proteínas solúveis (PS) e aminoácidos livres totais (AALT)) das sementes de *A. mangium* armazenadas em diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses 34

LISTA DE ABREVIATURAS

AALT: Aminoácidos livres totais

ANR: Açúcares não redutores

AST: Açúcares solúveis totais

B.O.D.: Biochemical oxygen demand

E: Emergência

G: Germinação

HClO₄: Ácido perclórico

LSF: Laboratório de sementes florestais

MS-Pl: Massa seca de plântulas

NaCl: Cloreto de sódio

PC: Primeira contagem da germinação

VG: Velocidade de germinação

KOH: Hidróxido de potássio

PS: Proteínas solúveis

T: Temperatura

UAECIA: Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias

UFCG: Universidade Federal de Campina Grande

UFRN: Universidade Federal do Rio Grande do Norte

RESUMO

O desafio primordial do armazenamento de sementes é a manutenção da qualidade fisiológica obtida desde a colheita até a sementeira. Os principais fatores ambientais que afetam a qualidade das sementes durante este período são a temperatura e a umidade relativa do ar. O objetivo dessa pesquisa foi avaliar as alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de *Acacia mangium* em diferentes temperaturas de armazenamento. Para este fim, as sementes foram armazenadas em sacos de polietileno semipermeáveis sob três condições: freezer ($T = -20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $UR = 49 \pm 15\%$), refrigerador doméstico ($T = 6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $UR = 55 \pm 14\%$) e sala climatizada ($T = 27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$; $UR = 56 \pm 13\%$), com avaliações realizadas nos períodos de 0 (controle – qualidade inicial antes do armazenamento), 3, 6, 9, 12 e 15 meses. Para cada período de avaliação foi realizada a determinação do teor de água e os seguintes testes: germinação (%), primeira contagem de germinação (%), índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca (mg) de plântulas, emergência (%), índice de velocidade de emergência (IVE), açúcares solúveis totais ($\mu\text{mol de AST g}^{-1} \text{ MS}$), açúcares não redutores ($\mu\text{mol de ANR g}^{-1} \text{ MS}$), aminoácidos livres totais ($\mu\text{mol de AALT g}^{-1} \text{ MS}$), amido (mg de glicose g^{-1} de semente) e proteínas solúveis (mg de PS $\text{g}^{-1} \text{ MS}$). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, organizado em esquema de parcelas subdivididas, sendo a parcela principal a temperatura (três níveis) e as subparcelas, os períodos de armazenamento (seis níveis). Foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes para as variáveis fisiológicas e cinco repetições de 15 sementes ($\pm 200 \text{ mg}$) para as variáveis bioquímicas. As sementes de *A. mangium* conservam a qualidade fisiológica por 12 meses quando armazenadas em freezer, refrigerador doméstico e sala climatizada. Para todas as condições testadas não se observa claramente a diminuição do conteúdo de amido, AST e ANR ao longo do armazenamento. Ao longo do armazenamento, houve acréscimo nos conteúdos de PS e AALT nas sementes oriundas das três temperaturas testadas. Não foi possível explicar mudanças fisiológicas entre as três condições de armazenamento por mecanismos de degradação de reserva de carboidratos.

Palavras-chave: Deterioração, Longevidade, Qualidade fisiológica.

ABSTRACT

The primary challenge of seed storage is the maintenance of the physiological quality obtained from harvest to sowing. The main environmental factors that affect seed quality during this period are the temperature and the relative humidity of the air. The objective of this research was to evaluate the physiological and biochemical changes in *Acacia mangium* seeds at different storage temperatures. For this purpose, the seeds were stored in semipermeable polyethylene bags under three conditions: freezer ($T = -20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{RH} = 49 \pm 15\%$), domestic refrigerator ($T = 6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{RH} = 55 \pm 14\%$) and room ($T = 27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$, $\text{RH} = 56 \pm 13\%$), with evaluations performed in the periods of 0 (control - initial quality before storage), 3, 6, 9, 12 and 15 months. For each evaluation period, the water content and the following tests were determined: germination (%), first germination count (%), germination speed index (IVG), seedling dry mass (mg), emergence (Mmol of AST g^{-1} MS), non-reducing sugars (μmol of ANR g^{-1} MS), total free amino acids (μmol of AALT g^{-1} MS), Starch (mg g^{-1} glucose from seed) and soluble proteins (mg of PS g^{-1} MS). The experimental design was completely randomized, organized in a subdivided plots scheme, the main plot being temperature (three levels) and subplots, storage periods (six levels). Four replicates of 100 seeds were used for the physiological variables and five replicates of 15 seeds (± 200 mg) for the biochemical variables. *A. mangium* seeds remain the physiological quality for 12 months when stored in a freezer, domestic refrigerator and heated room. For all the conditions tested, the decrease of the starch, AST and ANR contents throughout the storage is not clearly observed. Throughout the storage, there was an increase in the contents of PS and AALT in the seeds from the three temperatures tested. It was not possible to explain the physiological changes between the three storage conditions by carbohydrate reserve degradation mechanisms.

Key words: Deterioration; Longevity; Physiological quality.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 CARACTERÍSTICAS GERAIS SOBRE A ESPÉCIE

Acacia mangium Willd., conhecida popularmente por acácia australiana, é uma espécie arbórea pertencente à família Fabaceae que ocorre naturalmente no Nordeste da Austrália, Papua Nova Guiné, Papua Ocidental e Ilhas Molucas e foi introduzida na América do Sul, América Central, África e Ásia (RICHARDSON et al., 2011). É uma espécie pioneira, de crescimento rápido e porte variado podendo alcançar até 30 m de altura. Normalmente, apresenta fuste reto e livre de galhos até a metade de sua altura, com poucos sulcos na base de até 90 cm de diâmetro (JOKER, 2000). Suas raízes podem associar-se a bactérias do gênero *Rhizobium*, fixadoras de nitrogênio, ajudando na recuperação de solos degradados. Sua madeira pode ser aproveitada para produção de móveis maciços, construção pesada e leve, chapas e embalagens, na produção de lenha e carvão com alto poder calorífico (entre 4800 e 4900 kcal/kg) e também no processamento da celulose (SOUZA et al., 2010).

Cresce rapidamente em condições desfavoráveis, como durante a seca ou em solos com baixa fertilidade, com pH entre 4,5 e 6,5 (SOUZA et al., 2010; BROICH et al., 2013; RAMDANI, HINO, 2013) e em ambientes úmidos, com precipitação média anual entre 1000 mm a 4500 mm e temperatura mínima de 12 °C e máxima de 34 °C. Entretanto, existe grande concentração de indivíduos da espécie em regiões que apresentam período seco de quatro meses e precipitação média anual de 700 mm, como por exemplo, na Austrália (RICHARDSON et al., 2011).

No Brasil, sua floração ocorre ao longo de todo o ano, com a frutificação ocorrendo entre cinco e sete meses após a floração (ROSSI, AZEVEDO, SOUZA, 2003). Suas inflorescências são em forma de espigas, podendo atingir 10 cm de comprimento. As flores são pequenas, de cor branca ou creme. Apresentam frutos do tipo vagem deiscente com sementes dispostas longitudinalmente presas por uma estrutura alaranjada denominada arilo. Suas sementes são ortodoxas e podem ser armazenadas com teor de água entre 5 e 7% (JOKER, 2000). A semente madura tem em média 3 mm de comprimento e 2 mm de largura, e é de cor negra brilhante (CATIE, 1992).

1.2 PROPAGAÇÃO SEXUADA E QUALIDADE DE SEMENTES

Diversos autores vêm pesquisando a propagação vegetativa do gênero *Acacia*, porém essa técnica ainda não é adotada comercialmente (ROSSI, AZEVEDO, SOUZA, 2003), sendo sua principal forma de propagação por sementes. A propagação sexuada é muito utilizada na obtenção de mudas para plantios florestais e na restauração de áreas degradadas e, por isso, a produção de sementes de alta qualidade é fundamental (OLIVEIRA et al., 2005).

A qualidade fisiológica da semente é avaliada rotineiramente pelo teste de germinação, o qual é conduzido em condições ótimas de ambiente, determinando o potencial máximo de germinação e estabelecendo o limite para o desempenho do lote, após sua sementeira (BESSA et al., 2015). É durante o processo de germinação e crescimento inicial das plântulas que os sintomas fisiológicos da deterioração ficam mais evidentes, principalmente em virtude da desestruturação do sistema de membranas, consequência do ataque aos seus constituintes químicos pelos radicais livres (MASETTO et al., 2013).

Entretanto, em razão da menor sensibilidade do teste de germinação para diferenciar a qualidade entre lotes e dificuldade de correlacionar seus resultados com a emergência das plântulas em campo, são necessários, também, os testes de vigor. Nestes, buscam-se obter respostas complementares às fornecidas pelo teste de germinação possibilitando a obtenção de informações consistentes com o desempenho a campo (OHLSON et al., 2010).

Dentre os testes utilizados para classificação do vigor baseado no desempenho das plântulas destacam-se: o teste de velocidade de germinação, realizado em condições controladas de laboratório baseando-se no princípio de que lotes que apresentam maior velocidade de germinação são os mais vigorosos e o da primeira contagem de germinação, fundamentado na premissa de que os lotes que apresentam maior porcentagem de plântulas normais, na primeira contagem, estabelecida pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), são os mais vigorosos. Além disso, sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função de apresentarem maior capacidade de transformação de suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e da maior incorporação destes pelo eixo embrionário, proporcionando assim, maior transferência de matéria seca de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário na fase de germinação, originando plântulas com maior peso, em função do maior acúmulo de massa seca. Desta forma, amostras com maiores valores médios de comprimento e pesos médios de massa seca, são consideradas mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999).

1.3 DETERIORAÇÃO DE SEMENTES

A deterioração é um processo caracterizado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, sofrendo influência de fatores genéticos, bióticos e abióticos, que culminam com a queda da qualidade e conseqüentemente a morte da semente (MARCOS FILHO, 2015). Tal processo ocorre principalmente em função da temperatura e da umidade relativa do ar (SHABAN; MOTLAGH, 2014).

O processo de deterioração após a colheita é inevitável, mas pode ser retardado dependendo das condições de armazenamento das sementes (CARDOSO et al., 2012). Nesse contexto, os esforços para minimizar os efeitos da deterioração das sementes são especialmente importantes (TERSHIKH et al., 2008) e envolvem o controle da temperatura e da umidade relativa do ar. Assim, as operações de secagem, beneficiamento, as condições e o período de armazenamento representam componentes importantes do histórico dos lotes de sementes e exercem efeitos no desempenho após a semeadura (MARCOS FILHO, 2015).

Desta forma, a exposição das sementes ao aumento da temperatura e da umidade relativa provoca alterações degenerativas na estrutura e no metabolismo das sementes (MARCOS FILHO, 2015). Assim, durante a perda da viabilidade das sementes ocorrem diversas alterações fisiológicas e bioquímicas resultantes da temperatura e umidade do ambiente (SILVA et al., 2011), o que dificulta o entendimento dos processos de deterioração e a conservação das sementes por um maior período de tempo (GUEDES et al., 2012). Portanto, o controle da temperatura e umidade é essencial para evitar o crescimento de fungos às sementes armazenadas, principalmente os dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, que se desenvolvem em sementes amiláceas com teores de água acima de 13%, provocando a diminuição da viabilidade, a descoloração do tegumento, à liberação de micotoxinas, além da maior produção de calor e crescimento de mofo (BEWLEY et al., 2013).

Geralmente, a deterioração se inicia com a degradação do sistema de membranas celulares por espécies reativas de oxigênio “EROS”, inversamente associadas ao vigor à proporção que passa a existir uma maior exsudação dos constituintes celulares, determinada pela perda da integridade das membranas e da compartimentalização celular (NASCIMENTO et al., 2010). Assim sendo, em sementes mais deterioradas, a integridade das membranas é menor, e como conseqüência, ocorre o extravasamento do conteúdo celular para o meio, constatado pelo aumento da quantidade de lixiviados, durante o processo de embebição (KRUSE et al., 2006). Além disso, no processo de deterioração das sementes, há aumento na

peroxidação de lipídeos, que resulta em danos à membrana e geração de subprodutos tóxicos (SCHWEMBER; BRADFORD, 2010).

1.4 ARMAZENAMENTO DE SEMENTES ORTODOXAS

O armazenamento é prática fundamental para manter a qualidade fisiológica da semente e garantir a manutenção do vigor e da viabilidade, no período compreendido entre a colheita e a semeadura (AZEVEDO et al., 2003). Além disso, garante o suprimento anual de sementes, em especial daquelas espécies com produção irregular ao longo dos anos (SANTOS, PAULA, 2007).

Desta forma, o objetivo do armazenamento é conservar a qualidade das sementes durante o período em que ficam armazenadas, até o momento da semeadura, visto que seu melhoramento não é possível mesmo sob condições ideais (FERREIRA, BORGHETTI, 2004), além de manter uma disponibilidade contínua de sementes viáveis imprescindíveis aos programas florestais, como os reflorestamentos, programas de melhoramento genético, recuperação de áreas degradadas e conservação do germoplasma por longos períodos (FLORIANO, 2004). Entretanto, em condições ambientais impróprias, o armazenamento contribui para a redução da qualidade das sementes (MARCOS FILHO, 2015).

No que diz respeito ao armazenamento, o mesmo é um técnica que pode ser utilizada para preservar a qualidade de sementes e torná-las disponíveis em diferentes períodos do ano, no entanto, devem ser observados alguns fatores, tais como o teor de água das sementes, tipo de embalagem e características ambientais, como temperatura e umidade relativa, a fim de assegurar a manutenção da germinação e vigor de sementes durante este processo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Assim sendo, a qualidade das sementes não pode, portanto, ser melhorada pelo armazenamento, mas sim preservada com o mínimo de deterioração possível, através do armazenamento adequado, visando manter o vigor e o poder germinativo pelo maior período possível (GOLDFARB; QUEIROGA, 2013).

O teor de água tem influência direta nas características físicas e bioquímicas de sementes, sendo de fundamental importância sua determinação nas diferentes etapas do processo de produção, como no armazenamento (CARVALHO, 2005). Assim sendo, a embalagem empregada durante o armazenamento deve ser adequada para preservar a viabilidade e o vigor de sementes, limitando as trocas de umidade com o ambiente circundante, o qual poderá acelerar o processo de deterioração (MARCOS FILHO, 2015).

Quanto ao comportamento em relação ao armazenamento, as sementes são classificadas em três grupos: as ortodoxas, que podem ser secas até baixos teores de água (5 a 7%) e armazenadas com sucesso em ambientes com baixas temperaturas, possibilitando a manutenção da viabilidade por longo período e as recalcitrantes, que não toleram o armazenamento a baixas temperaturas e não sobrevivem com baixos níveis de umidade, o que impede o seu armazenamento por longo prazo (BEWLEY et al., 2013). Contudo, sementes de algumas espécies têm comportamento intermediário, apresentando características tanto de recalcitrantes como de ortodoxas, ou seja, pequena resistência a baixas temperaturas, mas certa tolerância à dessecação, sendo classificadas como intermediárias (MARCOS FILHO, 2015).

1.5 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS CAUSADAS PELA DETERIORAÇÃO DE SEMENTES

A viabilidade das sementes decresce quando armazenadas em condições de temperatura ambiente ou durante prolongados períodos de armazenamento, com a taxa de deterioração variando de espécie para espécie (DONÀ et al., 2013). Comumente, baixo teor de água e baixa temperatura de armazenamento são as condições fundamentais para a conservação de sementes tolerantes a dessecação (GROOT et al., 2015). Portanto, as sementes devem ser armazenadas sob condições que maximizem a sua longevidade (BEWLEY et al., 2013).

Os eventos fisiológicos resultantes da deterioração são manifestados durante o desenvolvimento e a germinação das sementes (JYOTI, MALIK, 2013). Entretanto, a perda da viabilidade em sementes é um dos últimos fatores afetados pelo processo de deterioração, uma vez que ocorrem eventos degenerativos anteriores como a degeneração das membranas, a redução da atividade respiratória e biossintética, a germinação lenta e desuniforme, a diminuição do potencial de conservação, a menor taxa de crescimento e desenvolvimento, a maior sensibilidade a adversidades, a redução da emergência de plântulas em campo, a formação de plântulas anormais e por fim a perda do poder germinativo seguido de morte da semente. Consequentemente, condições inadequadas de armazenamento, como o teor de água elevado, podem acelerar o processo respiratório das sementes, mobilizando reservas, liberando energia e acelerando a deterioração, o que compromete o potencial fisiológico das mesmas (JOSÉ et al., 2010; MARCOS FILHO, 2015).

1.6 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS DURANTE O ARMAZENAMENTO DE SEMENTES

O desempenho fisiológico das sementes é também consequência de sua constituição química (TAIZ, ZEIGER, 2013). Os carboidratos, as proteínas e os lipídios são as principais substâncias de reserva das sementes, mas as proporções de cada um desses componentes variam de acordo com a espécie, classificando-as como amiláceas, aleuro-amiláceas, oleaginosas, aleuro-oleaginosas e córneas. Estes compostos predominantes na semente vão influenciar na sua conservação, pois apresentam diferente afinidade com a molécula de água. Sementes amiláceas, por exemplo, podem captar maior quantidade de água se conservadas em um mesmo ambiente que oleaginosas. Assim, a perda de viabilidade durante o armazenamento pode ser devido a uma pequena quantidade de reservas de sementes, que é consumida rapidamente durante a germinação (ABBADE; TAKAKI, 2012).

Dentre os compostos de reserva que sofrem degradação, os carboidratos dos grupos dos açúcares não redutores podem ser considerados um bom indicador da armazenabilidade de sementes, por contribuir para a manutenção do estágio vítreo dos compartimentos intracelulares, minimizando os efeitos deletérios do envelhecimento (LEHNER et al., 2008). Nesse sentido, no processo de deterioração existe a tendência de haver acúmulo de açúcares redutores e redução dos níveis de amido. Por outro lado, pode ocorrer também diminuição no conteúdo ou degradação de proteínas, que afetaria a germinação de sementes, uma vez que estas atuam como moléculas de reserva ou catalisando reações, que podem ser consideradas como marcadores de degradação (SILVA et al., 2011; MARCOS FILHO, 2015).

Sementes ortodoxas armazenadas inadequadamente com elevados teores de água reduzem mais rapidamente a viabilidade e o vigor de plântulas em função do período de exposição, que resulta no agravamento do processo de deterioração, o qual envolve o consumo de reservas, as alterações na composição bioquímica, a peroxidação de lipídeos, a desnaturação de proteínas, as alterações de enzimas e nucleotídeos, o aumento da permeabilidade das membranas e danos celulares (JYOTI, MALIK, 2013). Estes eventos podem provocar a limitação da eficiência de enzimas, o ácido desoxirribonucleico (DNA) pode acumular mutações, bem como ocorrer acúmulo de produtos tóxicos como etanol, aldeídos, ácidos graxos de cadeias curtas e compostos fenólicos, além da decomposição das reservas de carbono durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2015).

2. JUSTIFICATIVA

A propagação de espécies florestais é feita basicamente por meio de sementes, que apresentam diversidade quanto à morfologia e fisiologia, incluindo mecanismos de dormência (DANTAS et al., 2014). Assim sendo, torna-se necessário o conhecimento de seu desempenho durante o armazenamento, aspirando à propagação e a produção de mudas para reflorestamento (SHIBATA et al., 2012).

Estudos realizados para verificar a ocorrência de alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes florestais ao longo do armazenamento sob diferentes temperaturas de conservação são incipientes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012), tornando-se necessários trabalhos voltados para sua preservação, buscando determinar as condições mais favoráveis de armazenamento (SILVA et al., 2014). Além disso, é necessário explicar as mudanças fisiológicas e bioquímicas relacionadas ao ambiente de conservação, tendo em vista a administração racional da espécie de modo a assegurar a disponibilidade de sementes com qualidade adequada para a produção de mudas, visto que para espécies florestais, conservar a viabilidade e o vigor de sementes durante o armazenamento é mais dificultoso (SILVA et al., 2011; GUEDES et al., 2012).

Portanto, o conhecimento do desempenho de sementes durante o armazenamento é particularmente necessário para programas de regeneração e preservação de ecossistemas florestais (GOMES et al., 2013). Contudo, pouco se conhece a cerca de alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de *A. mangium* resultantes das condições de temperatura e umidade durante o armazenamento e que, por conseguinte, estariam associadas ao processo de deterioração das sementes. À vista disso, o entendimento deste processo ao nível molecular poderá fornecer subsídios que tem importância na conservação do potencial fisiológico de sementes desta espécie.

REFERÊNCIAS

ABBADE, L.C.; TAKAKI, M. Mobilisation of reserves during germination of seeds of *Tabebuia roseoalba* (Bignoniaceae). **Seed Science and Technology**, Londrina, v. 40, p. 259-264, 2012.

AZEVEDO, M. R. Q. A.; GOUVEIA, J. P. G.; TROVÃO, D. M. M.; QUEIROGA, V.P. Influência das embalagens e condições de armazenamento no vigor de sementes de gergelim. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, p. 519-524, 2003.

BESSA, J. L.; DONADON, J. R.; RESENDE, O.; ALVES, R. M. V.; SALES, J. F.; COSTA, L. M. Armazenamento do crambe em diferentes embalagens e ambientes: Parte I – Qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 19, n. 3, p. 224-230, 2015.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. Springer: New York, ed.3, 2013. 392p.

BROICH M, HANSEN M, POTAPOV P, WIMBERLY M. Patterns of tree-cover loss along the Indonesia-Malaysia border on Borneo. **International Journal of Remote Sensing**, Washington, v. 34, p. 5748–5760, 2013.

CARDOSO, R. B.; BINOTTI, F. F. S.; CARDOSO, E. D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiás, v.42, p.272-278, 2012.

CARVALHO, N.M. **A secagem de sementes**. São Paulo: FUNEP, 2005. 184p.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. FUNEP: Jaboticabal, ed.5, 2012. 590p.

CATIE. Mangium (*Acacia mangium* Willd) **Especie de Árbol de Uso Múltiple em América Central**. Turrialba: CATIE, 1992. 56 p. (Colección de Guias Silviculturales, 5).

DANTAS, B.F.; MATIAS, J.R.; MENDES, R.B.; RIBEIRO, R.C. “As sementes da Caatinga são...”: um levantamento das características das sementes da Caatinga. **Informativo Abrates**, Brasília, v.24, n.3, 2014.

DONÀ, M.; BALESTRAZZI, A.; MONDONI, A.; ROSSI, G.; VENTURA, L.; BUTTAFAVA, A.; MACOVEI, A.; SABATINI, M. E.; VALASSI, A.; CARBONERA, D. DNA profiling, telomere analysis and antioxidant properties as tools for monitoring ex situ seed longevity. **Annals of Botany**, Londres, v. 111, p. 987-998, 2013.

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

FLORIANO, E. P. **Armazenamento de sementes florestais**. Santa Rosa: ANORGS, 2004. 10 p. (Caderno Didático).

GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V. P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.7, p.71-74, 2013.

GOMES, J.P.; OLIVEIRA, L.M.; SALDANHA, A.P.; MANFREDI, S.; FERREIRA, P.I. Secagem e classificação de sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret – Myrtaceae quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v.20, n.2, p.207-215, 2013.

GONÇALVES, F. G.; LELIS, R. C. C. Caracterização Tecnológica da Madeira de *Acacia mangium* Willd em Plantio Consorciado com Eucalipto. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 03, p. 286 – 295, 2012.

GROOT, S. P. C.; GROOT, L.; KODDE, J.; TREUREN, R. Prolonging the longevity of ex situ conserved seeds by storage under anoxia. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 18-26, 2015.

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; MELO, P.A.F.R.; MOURA, S.S.S.; SILVA, R.S. Storage of *Tabebuia caraiba* (Mart.) Bureau seeds in different packaging and temperatures. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.34, n.3, p.433-440, 2012.

GUIMARÃES JÚNIOR, J. B.; ARAÚJO, E. F.; AGUIAR, A. S.; MARTINS, E. H.; LOPES, O. Caracterização da madeira de desrama da *Acacia mangium* Willd cultivada no Sul do estado do Piauí para fins tecnológicos. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18; p. 822, 2014.

JOKER, D. *Acacia mangium* Willd. Humlebaek: Danida Forest Seed Centre, 2000. 2 p. (Seed Leaflet, 3).

JOSÉ, S.C.B.R.; SALOMÃO, A.N.; COSTA, T.S.A.; SILVA, J.T.T.T. CURI, C.C.S. Armazenamento de sementes de girassol em temperaturas subzero: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.32, n.4, p.29-38, 2010.

JYOTI; MALIK, C.P. Seed deterioration: A review. **International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research**, India, v.2, n.3, p.374-385, 2013.

KRUSE, N. D.; VIDAL, R. A.; DALMAZ, C.; TREZZI, M. M.; SIQUEIRA, I. Estresse oxidativo em girassol (*Helianthus annuus*) indica sinergismo para a mistura dos herbicidas metribuzin e clomazone. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 379-390, 2006.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2ed. 2015. 660p.

LEHNER, A.; MAMADOUA, N.; POELSB, P.; COMEA, D.; BAILLYA, C.; CORBINEAUA, F. Changes in soluble carbohydrates, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in the embryo during ageing in wheat grains. **Journal of Cereal Science**, Londres, v.47, n.3, p.555-565, 2008.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2ed. 2015. 660p.

MASETTO, T. E.; GORDIN, C. R. B.; QUADROS, J. de B.; REZENDE, R. K. S.; SCALON, S. Armazenamento de sementes de *Crambe abyssinica* Hochst.ex R.E.Fr. em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 60, n. 5, p. 646-652, 2013.

NASCIMENTO, W.M.O.; CICERO, S.M.; NOVENBRE, A.D.L.C. Conservação de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.32, n.1, p.24-33, 2010.

OHLSON, O. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; CAIEIRO, J. T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.32, p.118-124, 2010.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; NERY, M. C. Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley – Bignoniaceae. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.36, n.2, p.169-174, 2005.

RAMDANI F, HINO M (2013) Land use changes and GHG emissions from tropical forest conversion by oil palm plantations in Riau province, Indonesia. **PLOS ONE**, San Francisco, v, 8, ed.70323.

RICHARDSON, D. M.; CARRUTHERS, J.; HUI, C.; IMPSON, F. A. C.; MILLER, J. T.; ROBERTSON, M. P.; ROUGET, M.; LE ROUX, J. J.; WILSON, J. R. U. Human – mediated introductions of Australian acácias – a global experimente in biogeography. **Diversity and Distributions**, Oxford, v. 17, p. 771 – 787, 2011.

ROSSI, L. M. B.; AZEVEDO, C. P.; SOUZA, C. R. *Acacia mangium*. Manaus: Embrapa Ocidental, 2003. 29 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos 28).

SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C. Qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.). Smit e Downs (branquilha - Euphorbiaceae) durante o armazenamento. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 74, p. 87-94, 2007.

SCHWEMBER, A.; BRADFORD, K. J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.61, n.15, p.4423-4436, 2010.

SEGURA, T. E. S.; ZANÃO, M.; SILVA JÚNIOR, F. G. Potencial da madeira de Acácia para a produção de polpa celulósica kraft. In: **XXI Encontro Nacional da TECNICELPA/VI CIADICYP**. Lisboa, Portugal, 2010.

SHABAN, M.; MOTLAGH, Z.R. Physiology of plants affected by ageing. **International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research**, Iran, v.2, n.7, p.2301-2305, 2014.

SHIBATA, M.; COELHO, C.M.M.; OLIVEIRA, L.M. GARCIA, C. Accelerated aging of ipê seeds under controlled conditions of storage. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.34, n.2, p.247-254, 2012.

SILVA, D.G.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, M.C.; OLIVEIRA, L.M.; CALDEIRA, C.M. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento de sementes de *Tabebuia serratifolia*. **Cerne**, Lavras, v.17, n.1, p.1-7, 2011.

SILVA, J.R.O.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; SILVA, I.C.O. Armazenamento de sementes de *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. (Fabaceae) em diferentes embalagens e ambientes. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v.21, n.4, p.457-467, 2014.

SOUZA, M. I. L.; VALE JÚNIOR, J. F.; UCHÔA, S. C. P.; MELO, V. F. Características, físicas, químicas e conteúdo de água em solos convertidos de savana para plantio de *Acacia mangium*. **Revista Agro@mbiente On-line**, Boa Vista, v. 4, n. 1, p. 20 – 26, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 954p.

TERSNIK, V.V.; ZENG, Y.; FEURTADO, J.A.; GIBLIN, M.; ABRAMS, S. R.; KERMODE, S. R. (2008) Deterioration of western redcedar (*Thuja plicata* Donn ex D. Don) seeds: protein oxidation and in vivo NMR monitoring of storage oils. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 59, p. 765-777, 2008.

VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE *Acacia mangium* WILLD. EM FUNÇÃO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO

Resumo: As sementes estão continuamente expostas ao processo de deterioração, o qual envolve alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas. Dentre as alterações físicas que mais influenciam este processo estão a temperatura e a umidade relativa do ar. Objetivou-se com o presente estudo avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de *Acacia mangium* durante o armazenamento em três condições de temperatura. Para este fim, as sementes foram armazenadas em sacos de polietileno semipermeáveis durante os períodos de 0, 3, 6, 9, 12 e 15 meses sob três condições: freezer ($T = -20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; U.R. = $49 \pm 15\%$), refrigerador doméstico ($T = 6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; U.R. = $55 \pm 14\%$) e sala climatizada ($T = 27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$; U.R. = $56 \pm 13\%$). Foram realizadas as seguintes determinações e testes: teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação, massa seca de plântulas, emergência, índice de velocidade de emergência, açúcares solúveis totais, açúcares não redutores, aminoácidos livres totais, amido e proteínas solúveis. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, organizado em esquema de parcelas subdivididas, sendo a parcela principal a temperatura (três níveis) e as subparcelas, os períodos de armazenamento (seis níveis). Foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes para as variáveis fisiológicas e cinco repetições de 15 sementes ($\pm 200 \text{ mg}$) para as variáveis bioquímicas. As sementes de *A. mangium* conservam a qualidade fisiológica por 12 meses quando armazenadas em freezer, refrigerador doméstico e sala climatizada. Não foi possível verificar um padrão de alteração no conteúdo de amido, AST e ANR. As alterações fisiológicas durante o armazenamento das sementes de *A. mangium* podem ser atribuídas à deterioração das moléculas de proteínas.

Palavras chave: Composição química, Deterioração, Sementes florestais, Longevidade, Vigor.

PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES IN *Acacia mangium* WILLD SEEDS. DURING STORAGE

Abstract: Seeds are continually exposed to the deterioration process, which involves physiological, biochemical, physical and cytological changes. Among the physical changes that most influence this process are the temperature and the relative humidity of the air. The objective of this study was to evaluate physiological and biochemical changes in *Acacia mangium* seeds during storage in three temperature conditions. For this purpose, the seeds were stored in semi-permeable polyethylene bags during periods of 0, 3, 6, 9, 12 and 15 months under three conditions: freezer ($T = -20 \pm 3$ °C, $RH = 49 \pm 15\%$), refrigerator ($T = 6 \pm 3$ °C, $RH = 55 \pm 14\%$) and air-conditioned room ($T = 27 \pm 4$ °C, $RH = 56 \pm 13\%$). The following determinations and tests were performed: water content, germination, first germination count, germination speed index, seedling dry mass, emergence rate, emergence speed index, total soluble sugars, non-reducing sugars, total free amino acids, starch and soluble proteins. The experimental design was completely randomized, organized in a subdivided plots scheme, the main plot being temperature (three levels) and the subplots, storage periods (six levels). Four replicates of 100 seeds were used for the physiological variables and five replicates of 15 seeds (± 200 mg) for the biochemical variables. The seeds of *A. mangium* retain the physiological quality for 12 months when stored in a freezer, domestic refrigerator and heated room. It was not possible to verify a pattern of change in the content of starch, AST and ANR. Physiological changes during storage of *A. mangium* seeds can be attributed to the deterioration of protein molecules.

Key words: Chemical composition, Deterioration, Forest seeds, Longevity, Vigor.

INTRODUÇÃO

Acacia mangium Willd. (Fabaceae), conhecida popularmente por acácia australiana, é uma espécie arbórea que ocorre naturalmente no Nordeste da Austrália, Papua Nova Guiné, Papua Ocidental e Ilhas Molucas e foi introduzida na América do Sul, América Central, África e Ásia (Richardson et al., 2011). Possui grande potencial silvícola (Gonçalves & Lelis, 2012), apresentando propriedades tecnológicas favoráveis à indústria de celulose e papel (Segura et al., 2010), como também para produção de energia e na fabricação de painéis (Guimarães Júnior et al., 2014). À vista da produção de sementes para atender a demanda de seu cultivo, tornam-se também necessários trabalhos voltados para a compreensão do processo de deterioração em sementes desta espécie durante o armazenamento da mesma.

O processo de deterioração em sementes é caracterizado por uma série de mudanças em nível citológico, físico, bioquímico e fisiológico, com início a partir da maturidade fisiológica e que culminam com a morte da semente (Marcos Filho, 2015). Esse processo é influenciado principalmente por temperatura, umidade relativa do ar e teor de água das sementes (Bewley et al., 2013). Conseqüentemente, alterações ao nível fisiológico e bioquímico resultantes das condições de armazenamento podem ocorrer e precisam ser estudadas (Silva et al., 2011), visto que os processos bioquímicos de deterioração são provocados mais rapidamente em altas temperaturas por causa da mobilidade molecular (Walters et al., 2010). Desta forma, pode-se tentar aumentar a longevidade das sementes por meio do conhecimento de seu desempenho durante o armazenamento, retardando as perdas da qualidade fisiológica (Pereira et al., 2013).

Comumente, a redução na qualidade fisiológica das sementes armazenadas está relacionada ao fato de que, logo após a maturidade fisiológica, o vigor das mesmas sofre inevitável queda com o processo de deterioração vinculado a lesões em nível celular e molecular. Assim, o processo de deterioração é intensificado dependendo da natureza fisiológica e bioquímica das sementes e das condições as quais estas estão submetidas (Bewley et al., 2013). Sementes ortodoxas armazenadas incorretamente com elevados graus de umidade reduzem mais rapidamente a viabilidade e o vigor em função do período de exposição (Marcos Filho, 2015). Isto resulta no agravamento do processo de deterioração, o qual pode envolver a degradação de reservas, alterações na composição bioquímica, desnaturação de proteínas e inativação de enzimas, associados ao aumento da permeabilidade das membranas e outros danos celulares (Jyoti & Malik, 2013). Neste sentido, objetivou-se

com o presente estudo avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de *A. mangium* sob diferentes temperaturas de armazenamento.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes Florestais (LSF) da Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias/Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UAECIA/UFRN), no período de julho de 2015 a outubro de 2016.

As sementes foram colhidas no último ciclo de produção (setembro a novembro, 2014) e fornecidas pela Biosementes do Brasil LTDA. O processo de beneficiamento das mesmas foi realizado por meio da seleção daquelas visualmente bem formadas. Em seguida, as sementes foram homogeneizadas, contabilizadas e colocadas em sacos de polietileno semipermeáveis, com alta densidade (20 micrômetros) e acondicionadas sob três condições térmicas contrastantes: freezer ($T = -20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{UR} = 49 \pm 15\%$), refrigerador doméstico ($T = 6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{UR} = 55 \pm 14\%$) e sala climatizada ($T = 27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{UR} = 56 \pm 13\%$), com avaliações realizadas a cada três meses ao longo de 15 meses, considerando os períodos de 0 (controle – qualidade inicial antes do armazenamento), 3, 6, 9, 12 e 15 meses. Os dados de temperatura e umidade relativa do ar foram coletados diariamente, nos ambientes de armazenamento das sementes, durante o período do experimento, com auxílio do termohigrômetro.

Para cada período de avaliação, foram realizadas as seguintes determinações e testes:

Análise Física

Teor de água (%)

Realizado por meio do método da estufa com circulação forçada de ar, com duas repetições de $4,5 \pm 0,5 \text{ g}$ de sementes acondicionadas a $105 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h (Brasil, 2009).

Análises Fisiológicas

Germinação (%)

Em razão da impermeabilidade do tegumento, antes da semeadura, foi realizada a superação da dormência por meio da imersão das sementes em água fervente ($100 \text{ }^\circ\text{C}$) por 60 segundos (Rodrigues et al., 2008). A assepsia das sementes foi realizada com hipoclorito de sódio 2,5% (m/v) durante 5 min, sendo lavadas posteriormente com água destilada (Brasil,

2013). Em seguida, realizou-se a semeadura em três folhas de papel toalha (tipo Germitest®) previamente umedecidas com água destilada na quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, organizados no sistema de rolos e colocados em sacos de polietileno transparentes (Brasil, 2013) e incubados em germinador do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D.) regulado à temperatura de 35 °C e fotoperíodo de 8 h, com quatro repetições de 100 sementes para cada tratamento. Durante 14 dias foram realizadas contagens diárias, computando-se o número de sementes que originaram plântulas normais (Brasil, 2013), cujos resultados foram expressos em porcentagem.

Primeira contagem da germinação (%)

Realizada conjuntamente ao teste de germinação, sendo contabilizado o número de plântulas normais, obtido aos sete dias após a semeadura (Brasil, 2013), cujo resultado foi expresso em porcentagem.

Índice de velocidade de germinação (IVG)

Para obtenção do IVG, contabilizou-se o número de sementes germinadas do 7º ao 14º dia, conforme fórmula proposta por Maguire (1962).

Massa seca de plântulas (mg)

As plântulas normais foram acondicionadas em sacos de papel, desprezando-se os cotilédones, e submetidas à secagem em estufa de circulação forçada de ar regulada a 60 °C, com pesagem em balança analítica de precisão (0,001 g) até atingir peso constante (Nakagawa, 1999), cujos resultados foram obtidos por meio da soma da massa seca de todas as plântulas, dividindo-se pelo número total de sementes postas para germinar.

Emergência (%)

Foram utilizadas quatro repetições de 100 sementes, semeadas a 1,0 cm de profundidade em areia lavada e esterilizada contida em bandejas plásticas de 44 x 30 x 8 cm, as quais foram mantidas em ambiente protegido e sem controle de temperatura e de umidade relativa do ar. Aos 21 dias após a semeadura, considerou-se a porcentagem de plântulas normais (Brasil, 2013) emersas.

Índice de velocidade de emergência (IVE)

Para obtenção do IVE, contabilizou-se o número de plântulas normais emersas do 1º ao 21º dia, conforme fórmula proposta por Maguire (1962).

Análises Bioquímicas

Açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR) e aminoácidos livres totais (AALT)

A extração foi feita com cinco repetições a partir de amostras com aproximadamente 200 mg de massa fresca. As amostras foram extraídas com 5 mL de etanol 80% (v/v) a 60 °C por um período de 30 min em tubos hermeticamente fechados. Após a coleta dos sobrenadantes, os resíduos foram reextraídos com mais 5 mL de etanol 80% (v/v) sob as mesmas condições. Os sobrenadantes foram reunidos, atingindo 10 mL de extrato total por amostra e os resíduos foram preservados e utilizados para extração e determinação do conteúdo de amido.

Para a dosagem de AST, foi utilizado o método do fenol-sulfúrico (Morris, 1948; Yemm & Willis, 1954). Em cada determinação, foram adicionados 100 µL da amostra, 900 µL de água destilada e 2,5 mL do reagente de antrona. A leitura foi realizada a 620 nm e o cálculo do conteúdo de AST foi baseado em uma curva padrão de D-glicose, sendo expresso em µmol de AST g⁻¹ MS.

Para a determinação de ANR, utilizou-se 100 µL da amostra, 900 µL de água destilada e 100 µL de KOH 30% (m/v) incubados a 100 °C por 10 min. Logo após, adicionou-se 2,5 mL do reagente de antrona (Morris 1948; Van Handel, 1968). A leitura foi realizada a 620 nm e o conteúdo de ANR das amostras foi calculado a partir da curva padrão de sacarose, sendo expresso em µmol de ANR g⁻¹ MS.

Para estimar o conteúdo de AALT, utilizou-se 500 µL da amostra, 250 µL de tampão citrato 0,2 M pH 5,0 e 250 µL do reagente de ninidrina (Peoples, 1989). Os tubos foram hermeticamente fechados e incubados a 100 °C por 15 min. Em seguida, adicionou-se 4,0 mL de etanol 50% (v/v); as leituras foram realizadas a 570 nm e o conteúdo de AALT foi calculado de acordo com a curva padrão de L-glutamina, sendo expresso em µmol de AALT g⁻¹ MS.

Amido

Extraído a partir dos resíduos obtidos após a remoção de AST, ANR e AALT com 2,0 mL de ácido perclórico (HClO₄) 30% (v/v) pelo método de maceração em almofariz. O macerado foi centrifugado a 10.000 x g durante 20 min a 4 °C, o sobrenadante foi reservado e o precipitado foi reextraído duas vezes com mais 0,75 mL de HClO₄ 30% (v/v), perfazendo 3,5 mL de extrato. Para a quantificação do conteúdo de amido, utilizou-se 100 µL da

amostra, 9900 μL de água destilada e 2,5 mL do reagente de antrona com leitura realizada a 620 nm, empregando uma curva padrão de D-glicose (Morris 1948; Yemm & Willis, 1954). Os valores obtidos foram multiplicados pelo fator 0,9 para conversão em amido (McCready et al., 1950) e os dados foram expressos em mg de glicose g^{-1} de semente.

Proteínas solúveis (PS)

A extração foi realizada com amostras de 200 mg de massa fresca congelada, as quais foram extraídas com 1,5 mL do tampão Tris-HCl 100 mM pH 7,0 contendo NaCl 500 mM e β -mercaptoetanol 2 mM, como tampão de extração, pelo método de maceração em almofariz à baixa temperatura (Alfenas et al., 1991). Em seguida, foi realizada a centrifugação a 10.000 x g por 20 min; os sobrenadantes foram coletados e os precipitados foram reextraídos duas vezes com o tampão de extração perfazendo 3,5 mL de extrato. Na quantificação das PS, foi utilizado o método de Bradford (1976), utilizando 100 μL da amostra, 1900 μL de água destilada e 2,5 mL do reagente. A leitura foi realizada a 595 nm, tendo como padrão uma curva de albumina sérica bovina. O conteúdo de PS foi expresso em mg de PS g^{-1} MS.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, organizado em esquema de parcelas subdivididas, sendo a parcela principal o ambiente (3 níveis: freezer, refrigerador doméstico e sala climatizada) e as subparcelas, os períodos de armazenamento (6 níveis: 0, 3, 6, 9, 12 e 15 meses), com quatro e cinco repetições para as variáveis fisiológicas e bioquímicas, respectivamente. Os resultados foram submetidos aos testes de homogeneidade e normalidade, análise de variância e aplicação de regressão polinomial, adotando-se as equações cujos coeficientes de determinação (R^2) foram superiores. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software estatístico ASSISTAT versão 7.7 beta (UFMG/ PB).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância das variáveis utilizadas para avaliação da qualidade fisiológica das sementes durante o armazenamento em diferentes temperaturas é apresentado na Tabela 1. Observa-se que houve interação ao nível de 1% de probabilidade para os fatores temperatura e período de armazenamento para todas as variáveis avaliadas.

Tabela 1. Resumo da análise de variância (ANOVA) para os fatores temperatura e período de armazenamento de sementes avaliados em função das variáveis germinação (G), primeira contagem da germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca (MS-Pl) de plântulas, emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência (IVE), açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR) amido (A), aminoácidos livres totais (AALT) e proteínas solúveis (PS) em sementes de *A. mangium*

Variável	Temperatura de armazenamento (F1)	Período de armazenamento (F2)	F1x F2	CV (%)
Valor de F				
Aspectos fisiológicos				
G	16,8412**	4,3423**	15,1834**	5,85
PC	1,6256 ^{ns}	6,1195**	28,5393**	7,23
IVG	26,7510**	5,6094**	6,9594**	10,62
MS-Pl	107,2619**	4,2257**	14,5910**	14,34
E	116,4798**	53,6780**	17,0659**	13,08
IVE	44,4100**	11,2**	13,1930**	26,94
Aspectos bioquímicos				
AST	5,6426**	32,2288**	40,7516**	7,75
ANR	4,3927*	4,0096**	22,1467**	8,16
A	2,4416 ^{ns}	9,2552**	16,5892**	6,44
PS	110,4542**	26,7606**	16,7571**	5,64
AALT	221,4387**	37,1805**	30,1096**	20,05

^{ns} Não significativo. * Significativo a 5% de probabilidade. ** Significativo a 1% de probabilidade.

Na Tabela 2, encontram-se os resultados significativos das correlações entre as variáveis fisiológicas e bioquímicas. Foram constatadas correlações negativas moderadas e significativas entre germinação x açúcares não redutores, primeira contagem x açúcares não redutores, primeira contagem x proteínas solúveis, massa seca de plântulas x proteínas solúveis, emergência x açúcares não redutores e emergência x proteínas solúveis para as sementes armazenadas à temperatura de -20 °C.

Para qualquer conjunto de dados, o valor de correlação (r) varia entre -1 e +1. Quanto mais próximo r estiver de +1 mais forte será a correlação e quanto mais próximo r estiver de 0 mais fraca será a correlação. Uma correlação positiva indica que as duas variáveis tendem a aumentar simultaneamente. Uma correlação negativa diz que quando uma variável tende a aumentar de valor a outra tende a diminuir e vice-versa (Levin, 2004). Quando o valor de r encontra-se entre 0,01 e 0,39 diz-se que a correlação é positiva fraca. Valores de r entre 0,40 e

0,69 indicam correlação positiva moderada; a variação entre 0,7 e 1 demonstra correlação positiva forte. Segue o mesmo raciocínio para variações entre -1 e -0,1 (Miranda, 2008).

Para as sementes armazenadas à temperatura de 6 °C ocorreram correlações negativas moderadas e significativas entre as variáveis primeira contagem x açúcares solúveis totais, emergência x amido, índice de velocidade de emergência x açúcares não redutores e índice de velocidade de emergência x proteínas solúveis. Demonstrando que o acúmulo dos conteúdos de ANR, AST, A e PS corresponderam à redução das variáveis fisiológicas, embora estatisticamente tais variáveis se relacionem, fisiologicamente e bioquimicamente, à medida que o armazenamento se estende espera-se o decréscimo dos conteúdos de carboidratos e proteínas solúveis. A essa mesma temperatura, foi verificada ainda correlação positiva moderada e significativa entre as variáveis massa seca de plântulas x aminoácidos livres totais. Isso significa que menores conteúdos de AALT promovem menores valores de massa seca.

Verificaram-se também correlações negativas moderadas e significativas para as sementes armazenadas a 27 °C entre as variáveis germinação x açúcares solúveis totais e massa seca de plântulas x aminoácidos livres totais. Para as variáveis emergência x aminoácidos livres totais, constatou-se correlação negativa forte e significativa. Indicando que o comportamento das variáveis bioquímicas pode ser associado às alterações das variáveis fisiológicas. Ainda a 27 °C houve correlações positivas moderadas e significativas entre as variáveis índice de velocidade de germinação x aminoácidos livres totais, massa seca de plântulas x amido e germinação x aminoácidos livres totais. Desse modo, o aumento da concentração do conteúdo de AALT coincide com o aumento germinação e da velocidade de germinação e a redução no conteúdo de amido reflete diminuição da massa seca.

Tabela 2. Correlações significativas de Pearson (r) entre as variáveis fisiológicas (germinação (G), primeira contagem da germinação (PC), índice de velocidade de germinação (IVG), massa seca (MS-PI) de plântulas, emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência (IVE)) e bioquímicas (açúcares solúveis totais (AST), açúcares não redutores (ANR), amido (A), proteínas solúveis (PS) e aminoácidos livres totais (AALT)) das sementes de *A. mangium* armazenadas em diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses

* Significativo a 5% de probabilidade.

Correlações	R	P	Correlação
G x AST (27 °C)	-0,4529	0,0262*	Negativa moderada
G x ANR (-20 °C)	-0,4870	0,0157*	Negativa moderada
PC x AST (6 °C)	-0,4236	0,0391*	Negativa moderada
PC x PS (-20 °C)	-0,4354	0,0334*	Negativa moderada
PC x ANR (-20 °C)	-0,5128	0,0103*	Negativa moderada
IVG x AALT (27 °C)	0,4558	0,0251*	Positiva moderada
MS-PI x Amido (27 °C)	0,4128	0,0449*	Positiva moderada
MS-PI x PS (-20 °C)	-0,4869	0,0158*	Negativa moderada
MS-PI x AALT (6 °C)	0,4543	0,0257*	Positiva moderada
MS-PI x AALT (27 °C)	-0,4857	0,0161*	Negativa moderada
E x Amido (6 °C)	-0,4263	0,0377*	Negativa moderada
E x ANR (-20 °C)	-0,4568	0,0248*	Negativa moderada
E x PS (-20 °C)	-0,4820	0,0170*	Negativa moderada
E x AALT (27 °C)	-0,8206	< 0,0001*	Negativa forte
IVE x ANR (6 °C)	-0,5093	0,0110*	Negativa moderada
G x PS (6 °C)	-0,0432	0,0358*	Negativa moderada
G x AALT (27 °C)	0,4558	0,0251*	Positiva moderada

O conteúdo de água tem influência direta sobre a qualidade das sementes (Pereira et al., 2013). Em relação à determinação do teor de água em cada condição ao longo do tempo de armazenamento, observa-se na Figura 1A que as sementes de *A. mangium* continham teor de água inicial (período 0 – antes do armazenamento) de 7,3%. Ao longo dos 15 meses de armazenamento, observou-se pouca variação do teor de água das sementes submetidas às diferentes condições térmicas: 7,1% em freezer, 7,2% em refrigerador doméstico e 6,9% em sala climatizada. Isto ocorreu provavelmente devido ao tipo de embalagem utilizada (saco de polietileno semipermeável de alta densidade), pois a baixa permeabilidade do recipiente dificulta as trocas gasosas com o meio no qual se encontram as sementes (Martins et al., 2009).

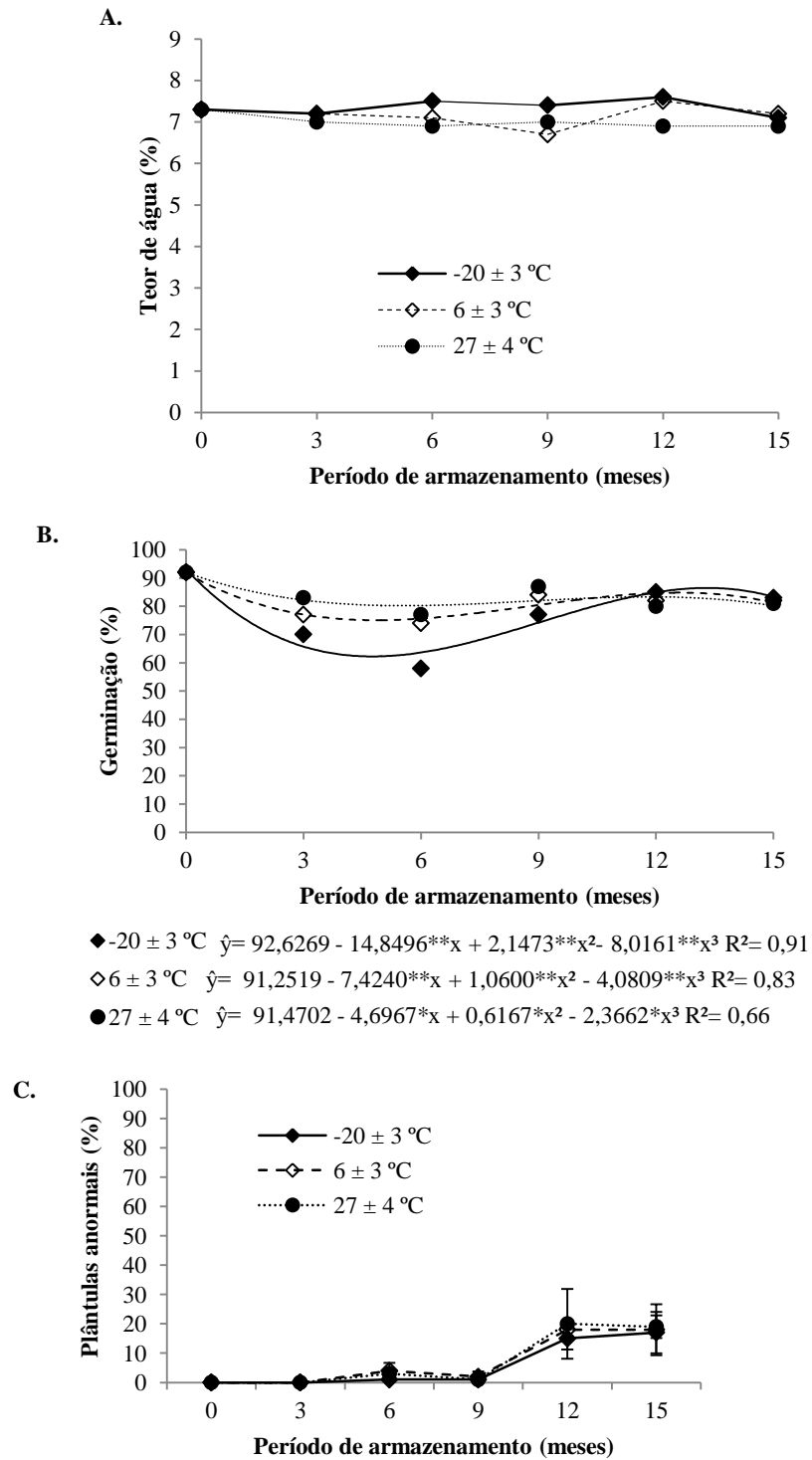
O processo de deterioração das sementes é influenciado pelo tipo de embalagem, dependendo da maior ou menor facilidade para as trocas de vapor d'água entre as sementes e a atmosfera e das condições ambientais em que as sementes permanecem armazenadas (Marcos Filho, 2015). Desta forma, a conservação do poder germinativo e longevidade em sementes ocorre principalmente em função da manutenção do grau de umidade (Oliveira et al., 2015), visto que sua determinação antes e ao longo do armazenamento é de extrema importância.

Os resultados para a variável germinação de sementes demonstraram ajuste do modelo cúbico decrescente para todas as condições de armazenamento (Figura 1B). Sementes de *A. mangium* apresentaram germinação inicial de 92% antes de serem submetidas ao armazenamento. Ao longo do armazenamento, o desempenho germinativo das sementes à temperatura de -20 °C decresceu, atingindo um valor mínimo de 58% aos seis meses, com posterior aumento da porcentagem de germinação para 83% aos 15 meses. Para as sementes acondicionadas a 6 °C, verifica-se redução também aos seis meses de armazenamento (74%) com aumento progressivo até os 15 meses, quando atingem germinação de 82%. À temperatura de 27 °C obteve-se menor porcentagem de germinação (77%) das sementes aos seis meses com posterior aumento até os 15 meses (81%). Percebe-se que as sementes mantidas a baixas temperaturas (-20 °C) apresentaram menores valores de germinação quando comparadas àquelas mantidas em temperaturas mais elevadas (6 e 27 °C).

A redução da germinação logo após o início do armazenamento pode ser atribuída a algum mecanismo de adaptação à nova condição ambiental (Scalon et al., 2006), no qual um organismo atinge um alto grau de independência das flutuações do meio em que se encontra, podendo perceber e reagir a tais flutuações. Nessa condição, o indivíduo fica inteiramente à disposição ou em completa dependência das flutuações externas, “esperando” condições ambientais favoráveis para se desenvolver ou as flutuações internas, com o sistema adquirindo uma “blindagem” contra incertezas do meio, amortecendo os efeitos e potenciais flutuações (Wagensberg, 2000; Ferreira & Borghetti, 2004).

Na Figura 1C, observa-se tendência ascendente da porcentagem de plântulas anormais, principalmente a partir dos nove meses de armazenamento para as três condições térmicas. Pode-se perceber que a maior porcentagem de plântulas anormais ocorreu para as sementes que estavam submetidas à temperatura de 27 °C.

Figura 1. Teor de água (A), germinação (B) e plântulas anormais (C) provenientes das sementes de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses



**Significativo a 1% de probabilidade. *Significativo a 5% de probabilidade.

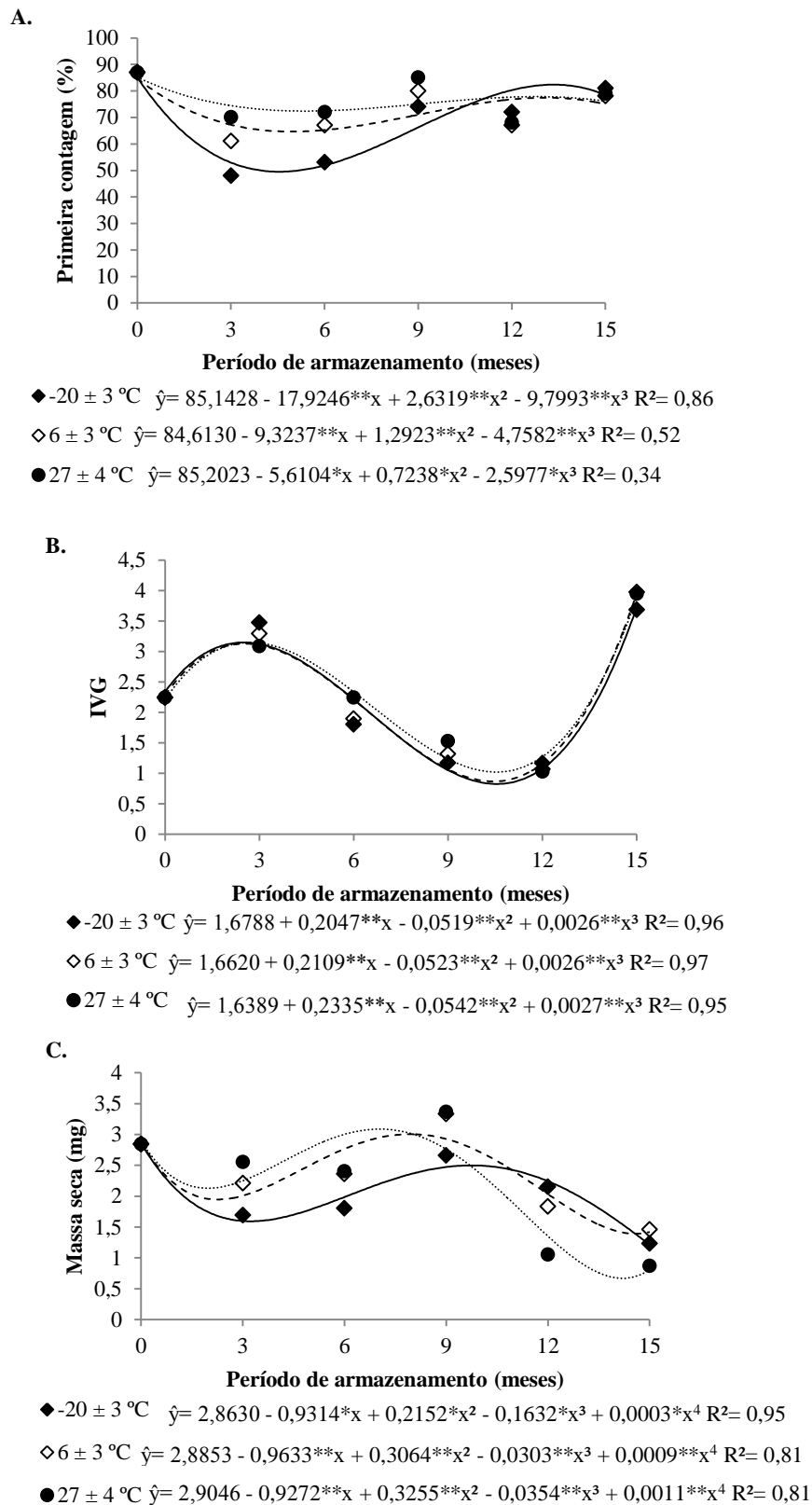
Considerando-se que a deterioração é um processo inevitável e irreversível, no presente estudo o aumento gradual da porcentagem de germinação das sementes armazenadas em sacos de polietileno acondicionadas no freezer, refrigerador doméstico e sala climatizada após os 6 meses de armazenamento pode ser explicado devido à sua saída do estado de repouso fisiológico, desencadeando dessa forma o processo de germinação.

Outra provável causa da redução na porcentagem de germinação nos primeiros meses de armazenamento pode ser devido ao desequilíbrio na semente entre as substâncias promotoras e inibidoras da germinação (Marcos Filho, 2015), a exemplo dos compostos fenólicos que estão presentes na semente e podem atuar como inibidores da germinação (Bewley et al., 2013). É importante destacar que em sementes armazenadas, os mecanismos bioquímicos de reparo em membranas não ocorrem em organismos biológicos secos (Golovina et al., 2010), conseqüentemente, a germinação das sementes é profundamente afetada no início do processo de deterioração uma vez que não ocorrem reparos (Jyoti & Malik, 2013). Dentre os testes utilizados para classificação do vigor baseado no desempenho das plântulas destacam-se o da primeira contagem da germinação, fundamentado na premissa de que os lotes que apresentam maior porcentagem de plântulas normais, na primeira avaliação, são os mais vigorosos; e o índice de velocidade de germinação, realizado em condições controladas de laboratório, baseando-se no princípio de que lotes que apresentam maior velocidade de germinação são aqueles de maior qualidade fisiológica (Nakagawa, 1999).

O teste de primeira contagem pode ser utilizado como indicativo da deterioração de sementes, uma vez que analisa a redução no vigor das plântulas na fase inicial de crescimento (Carvalho & Nakagawa, 2012). Assim, os resultados da primeira contagem da germinação (Figura 2A) demonstram tendência de redução do número de plântulas normais, que inicialmente foi de 87%. Verifica-se que, aos três meses de armazenamento, houve o pior desempenho para as sementes armazenadas a -20 °C (48%), desempenho este que se manteve até aos nove meses de armazenamento e que foi restabelecido dos 12 aos 15 meses (81%).

Ainda sobre os resultados da primeira contagem de germinação (Figura 2A), constatou-se que houve a tendência de maiores valores para as sementes conservadas às temperaturas de 6 e 27 °C quando comparadas àquelas mantidas a -20 °C ao longo do tempo.

Figura 2. Primeira contagem de germinação (A), índice de velocidade de germinação de sementes (B) e massa seca de plântulas (C) de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas ($-20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 15 meses



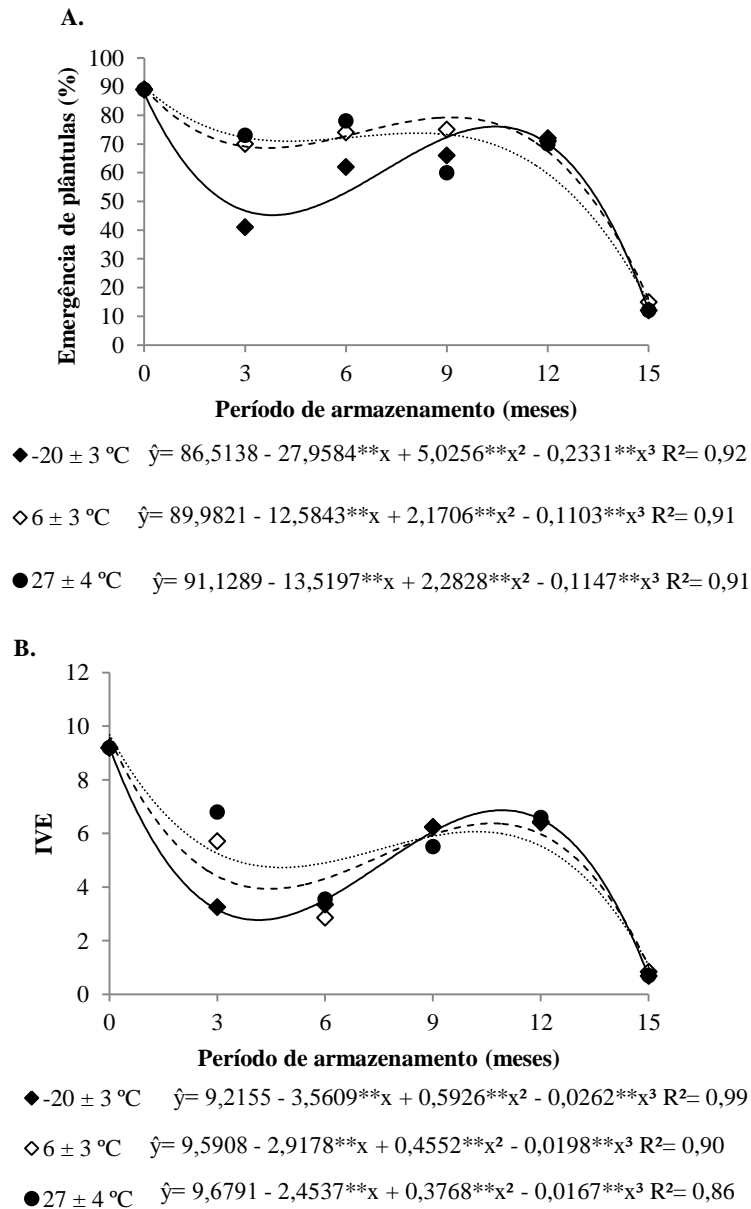
** Significativo a 1% de probabilidade. * Significativo a 5% de probabilidade.

Os dados do IVG ajustaram-se ao modelo cúbico nas três condições de armazenamento. Na Figura 2B, percebe-se redução do vigor avaliada pelo índice de velocidade de germinação das sementes de *A. mangium* em todas as condições de armazenamento, com queda acentuada até os 12 meses. Nota-se que ao serem armazenadas a temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ as sementes apresentaram melhor expressão do vigor avaliado pelo IVG (3,68) aos 15 meses. Ainda neste mesmo período, observou-se resultado semelhante para o IVG quando as sementes foram armazenadas às temperaturas de $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (3,97) e $27\text{ }^{\circ}\text{C}$ (3,95).

Na Figura 2C, encontram-se os valores da massa seca de plântulas de *A. mangium* antes e durante o armazenamento em diferentes temperaturas. Com relação aos resultados obtidos, houve a tendência de redução do vigor, avaliado pela massa seca, nas três condições testadas. No início do armazenamento, as plântulas apresentaram massa seca de 2,84 mg. Ao final do armazenamento (15 meses) observa-se o menor valor de massa seca das plântulas originadas de sementes submetidas às três condições térmicas de armazenamento, na ordem de 1,23; 1,46 e 0,87 mg para freezer, refrigerador doméstico e sala climatizada, respectivamente. Tal redução da massa seca das plântulas de *A. mangium*, pode estar relacionada à menor eficiência na mobilização de reservas durante o processo de germinação, assim, sementes mais vigorosas produzirão plântulas com maior acúmulo de biomassa (Oliveira et al., 2012).

Em relação ao teste de emergência de plântulas, os resultados evidenciaram predisposição de redução na porcentagem de plântulas emersas ao longo do armazenamento nas três condições térmicas. Obtiveram-se 89% de plântulas emersas oriundas das sementes do tratamento controle (tempo 0). Tais resultados revelaram ajuste do modelo cúbico decrescente, independente da condição de armazenamento empregada. Observa-se que a menor porcentagem de emergência ocorreu nas sementes armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Aos 12 meses de armazenamento, a porcentagem de emergência ainda manteve-se elevada, atingindo 71 ($-20 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$), 72 ($6 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) e 70% ($27 \pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$). A partir desse período, houve perda acentuada do vigor, com redução na porcentagem de emergência para 12, 15 e 12%, nas respectivas condições térmicas anteriormente citadas, aos 15 meses de armazenamento (Figura 3A).

Figura 3. Emergência (A), e índice de velocidade de emergência de plântulas (B) de *A. mangium* originadas de sementes armazenadas sob diferentes condições térmicas ($-20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 15 meses



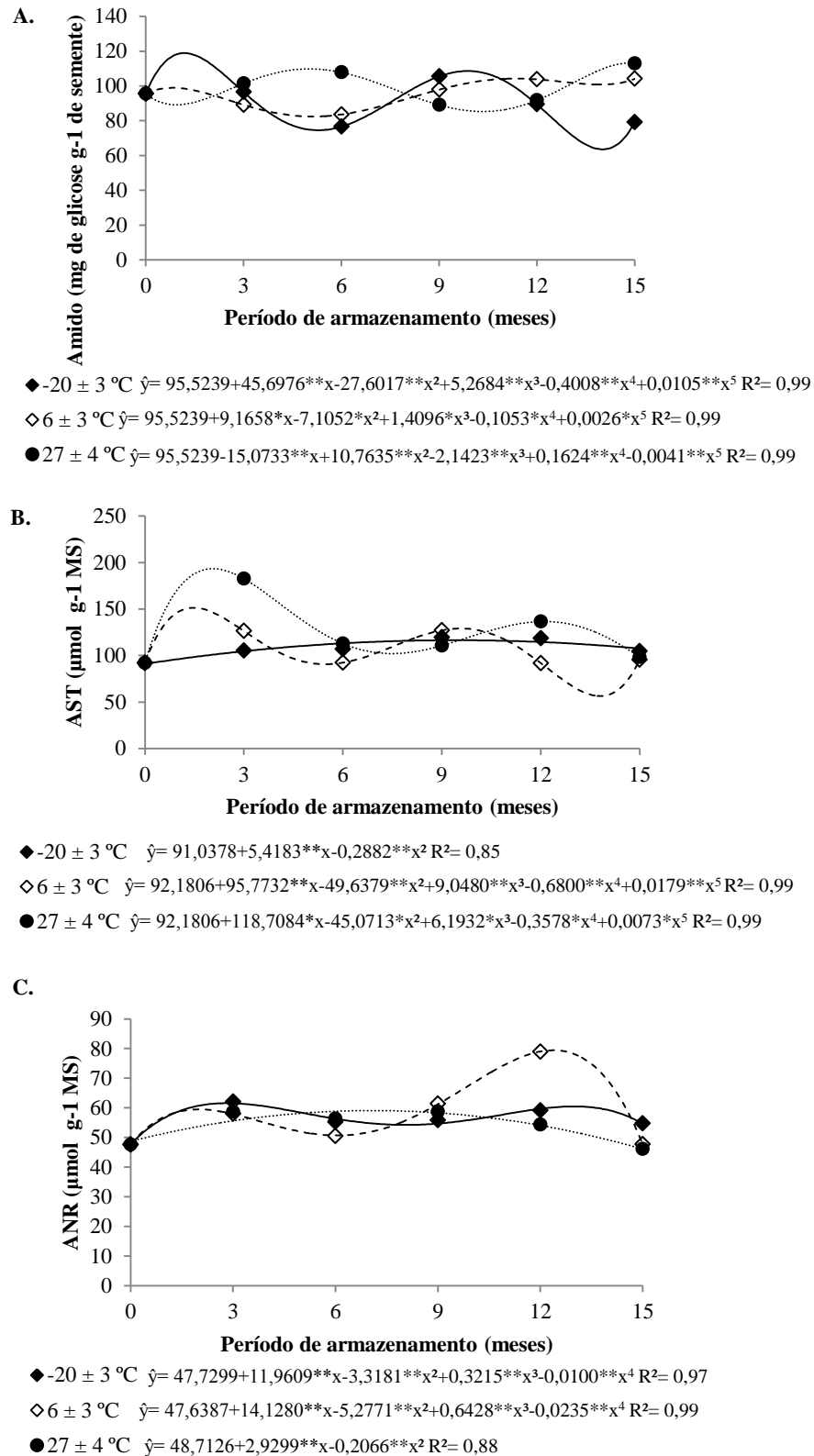
** Significativo a 1% de probabilidade. * Significativo a 5% de probabilidade.

A análise do IVE evidenciou ajuste do modelo cúbico decrescente para as sementes conservadas nas três condições térmicas. Observa-se que houve a tendência de menores valores de IVE para as sementes armazenadas à temperatura de $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ quando comparadas às mantidas sob as temperatura de 6 e $27 \text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 3B). As três condições de armazenamento proporcionaram menor IVE aos 15 meses (0,68 – freezer; 0,69 – refrigerador doméstico; 0,84

– sala climatizada). A redução da velocidade de emergência de plântulas é uma das consequências da interação do potencial fisiológico das sementes com as condições do ambiente. Desta forma, em condições ambientais desfavoráveis há declínio do vigor, promovendo assim, uma proporção cada vez mais elevada de sementes que se mostram mais susceptíveis aos estresses (Marcos Filho, 2015).

O conteúdo de amido (Figura 4A), de AST (Figura 4B) e de ANR (Figura 4C) variou segundo o modelo polinomial de quinta ordem. De acordo com os resultados obtidos não foi possível detectar a degradação desses compostos de reserva como resposta à deterioração ao longo do armazenamento das sementes, sob as três condições térmicas. De fato, o conteúdo de amido, AST e ANR nas sementes foi de 95,5 mg.g⁻¹ MS, 92,1 µmol.g⁻¹ MS e 47,6 µmol.g⁻¹ MS, respectivamente, em sementes recém coletadas. Foi possível verificar variações nos conteúdos destes compostos entre os tratamentos, assim como no decorrer do tempo. Entretanto, com base nestas variações, não se observa claramente a diminuição do conteúdo de amido, AST e ANR ao longo do armazenamento.

Figura 4. Conteúdo de amido (A), açúcares solúveis totais (AST) (B) e açúcares não redutores (ANR) (C) nas sementes de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas ($-20 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $6 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$; $27 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 15 meses

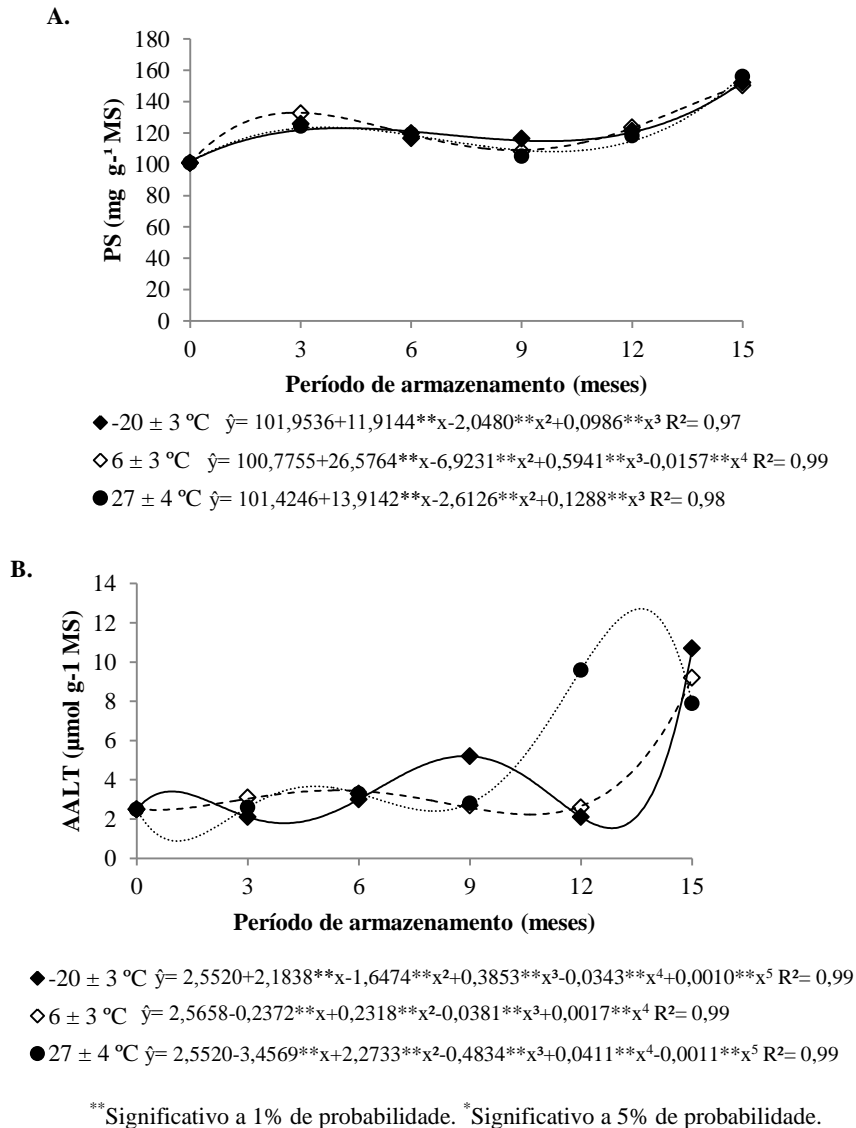


** Significativo a 1% de probabilidade. * Significativo a 5% de probabilidade.

A degradação das reservas por meio de reações hidrolíticas e oxidativas tem sido considerada uma das principais causas da deterioração das sementes durante o envelhecimento natural (Black et al., 2006). Os carboidratos são importantes reservas energéticas e os açúcares não redutores têm sido relacionados à estabilidade do estado vítreo em sementes ortodoxas (Bewley et al., 2013). À medida que o período de armazenamento se estende, espera-se o decréscimo dos conteúdos de açúcares solúveis e amido em paralelo com o acúmulo de açúcares redutores (Moncaleano-Escandon et al., 2013; Marcos Filho, 2015). Esta condição pode promover as reações de Maillard, as quais contribuem para a deterioração das sementes pela formação de complexos entre açúcares redutores e proteínas (Murthy et al., 2003).

Na Figura 5A encontram-se os resultados para os conteúdos de PS nas sementes de *A. mangium* ao longo do armazenamento. Tal conteúdo pode ser descrito pelo modelo polinomial de terceira ordem. Nota-se que houve acréscimo dos conteúdos destas reservas nos três ambientes testados. Antes do armazenamento, as sementes apresentavam conteúdo de $100,8 \text{ mg.g}^{-1}$ MS, revelando acréscimo de 51, 49 e 55%, aos 15 meses de armazenamento, para as condições térmicas de $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, $6 \text{ }^\circ\text{C}$ e $27 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente.

Figura 5. Conteúdo de proteínas solúveis (PS) (A) e aminoácidos livres totais (AALT) (B) em sementes de *A. mangium* armazenadas sob diferentes condições térmicas (-20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C; 27 ± 4 °C) durante 15 meses



As globulinas e as albuminas são as principais proteínas de reserva em sementes de dicotiledôneas, sendo armazenadas nos vacúolos de estocagem de proteínas localizados nas células do eixo embrionário e principalmente nos tecidos de reserva (Bewley et al., 2013). Estas reservas atuam principalmente como fontes de nitrogênio, mas também podem ser utilizadas como fonte de energia após a germinação (Tan-Wilson & Wilson, 2012).

Tendo em vista que as sementes de *A. mangium* apresentaram teor de água entre 6,7 e 7,6% (Figura 1A) durante todo o experimento, independente do tratamento, estas sementes se encontravam no nível de hidratação II. Neste nível de hidratação, as moléculas de água estão

ligadas apenas a sítios hidrofílicos e iônicos, de forma que os fluidos intracelulares apresentam altíssima viscosidade (estado coriáceo a vítreo) e as reações metabólicas se encontram suspensas (Bewley et al., 2013). Desta maneira, o aparente aumento do conteúdo de PS nas sementes de *A. mangium* ao longo do armazenamento (Figura 5A) não pode ser atribuído à síntese proteica, a qual apresenta papel importante na deposição das proteínas de reserva durante a maturação das sementes (Tan-Wilson & Wilson, 2012). Pelo contrário, este aumento aparente pode estar relacionado a processos de deterioração. Em sementes ortodoxas maduras, as proteínas de reserva são depositadas sob a forma de aglomerados e clivagens das cadeias devido a reações de deterioração podem alterar os resultados obtidos pelo ensaio de Bradford, causando a falsa noção de que há aumento do conteúdo de PS nas amostras. De fato, a oxidação de proteínas pode favorecer a clivagem hidrolítica das cadeias e alterar a sua solubilidade (Job et al., 2005).

Na Figura 5B, observa-se acúmulo de AALT ao longo do armazenamento das sementes de *A. mangium*. Logo após a coleta, as sementes apresentaram conteúdo de AALT de $2,5 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$. O conteúdo destes compostos apresentou aumento significativo dos 12 aos 15 meses de armazenamento, alcançando o valor de $10,7$; $9,2$ e $7,9 \mu\text{mol g}^{-1} \text{MS}$ para -20 °C, 6 °C e 27 °C, respectivamente, ao final do experimento. Esta acumulação de AALT coincide com o aumento aparente do conteúdo de PS (Figura 5A), corroborando a provável ocorrência de reações de deterioração nas proteínas de reserva.

O processo de deterioração não ocorre de maneira uniforme em diferentes partes das sementes (Marcos Filho, 2015), visto que em dicotiledôneas o eixo embrionário é mais propenso ao envelhecimento e acúmulo de radicais livres (Shaban, 2013). Para a espécie em estudo, percebe-se que a porção cotiledonar é maior quando comparada ao eixo embrionário, o que pode ter mascarado os resultados moleculares.

Portanto, para uma melhor compreensão do processo de deterioração em sementes de *A. mangium*, estudos relacionados à elucidação dos eventos degenerativos devem ser aprofundados, visto que um melhor entendimento deste processo poderá fornecer subsídios importantes na tomada de decisão quanto à manutenção do potencial fisiológico de sementes desta espécie.

CONCLUSÕES

1. Sementes de *A. mangium* conservam a qualidade fisiológica por 12 meses quando armazenadas às temperaturas de -20 ± 3 °C; 6 ± 3 °C e 27 ± 4 °C.

2. Não foi possível detectar a ocorrência de reações de degradação das moléculas de carboidratos durante o armazenamento das sementes de *A. mangium*.
3. O acúmulo de AALT, dos nove aos 15 meses de armazenamento, nas três condições térmicas corrobora com a provável ocorrência de reações de deterioração nas proteínas de reserva.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio a esta pesquisa na concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS

Alfenas, A. C.; Peters, I.; Brune, W.; Passador, G. C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa – MG: SIF, 1991. 242p.

Bewley, J. D.; Bradford, K. J.; Hilhorst, H. W. M.; Nonogaki, H. Seeds – physiology of development, germination and dormancy. Springer: New York, ed. 3, 2013, 392p.

Black, M.; Bewley, J. D.; Halmer, P. The Encyclopedia of seeds. Science, technology and uses. CABI: Wallingford, 2006, 900p.

Bradford, M. M.; A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, San Diego, v. 72, p. 248-254, 1976.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instruções para a análise de sementes de espécies florestais. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2013. 98p.

Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. FUNEP: Jaboticabal, ed. 5, 2012. 590p.

Ferreira, A. G.; Borghetti, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

Golovina, E.A.; As, H.V.; Hoekstra, F.A. Membrane chemical stability and seed longevity. *European Biophysics Journal*, Berlin, v.39, p.657-668, 2010.

Gonçalves, F. G.; Lelis, R. C. C. Caracterização tecnológica da madeira de *Acacia mangium* Willd em plantio consorciado com eucalipto. *Floresta e Ambiente*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 03, p. 286-295, 2012.

Guimarães Júnior, J. B.; Araújo, E. F.; Aguiar, A. S.; Martins, E. H.; Lopes, O. Caracterização da madeira de desrama da *Acacia mangium* Willd cultivada no Sul do estado do Piauí para fins tecnológicos. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.18, p. 822, 2014.

Job, C.; Rajjou, L.; Lovigny, Y.; Belghazi, M.; Job, D. Patterns of Protein Oxidation in Arabidopsis Seeds and during Germination. *Plant Physiology*, American Society of Plant Biologists, Estados Unidos, v. 138, p. 790-802, 2006.

Jyoti; Malik, C. P. Seed deterioration: A review. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*, India, v. 2, n. 3, p. 374-385, 2013.

Laboriau, L. G. A germinação de sementes. Washington: Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, 1983, 174p.

Levin, J.; Fox, J. A. Estatística para Ciências Humanas. 9.ed. São Paulo: Prentice – Hall, 2004.

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

Marcos Filho, J. Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. Piracicaba: FEALQ, 2ed. 2015. 660p.

Martins, L.; Lago, A. A.; Sales, W. R. M. Conservação de sementes de ipê amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex A. DC.) Standl.) em função do teor de água das sementes e da temperatura do armazenamento. Revista Brasileira de Sementes, Londrina, v.31, n. 2, p. 86-95, 2009.

McCready, R. M.; Guggolz, J.; Silveira, V.; Owens, H. S. Determinations of starch and amylose in vegetables: application to peas. Analytical Chemistry, Washington, v. 22, n. 9, p. 1156-1158, 1950.

Miranda, M. L. Correlação e regressão em curso de engenharia: uma abordagem com foco na leitura e interpretação de dados. 2008. 134 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Ensino de Ciências e Matemática, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

Moncaleano-Escandona, J.; Silva, B.C.F.; Silva, S.R.S.; Granjab, J.A.A.; Alvess, M.C.J.L.; Pompelli, M.F. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. Industrial Crops and Products, Netherlands, v.44, p.684-690, 2013.

Morris, D.L. Quantitative determination of carbohydrates with dreywood's anthrone reagent. Science, v. 107, n. 2775, p. 254-255, 1948.

Murthy, U.M.N.; Kumar, P.P.; Sun, W.Q. Mechanisms of seed ageing under different storage conditions for *Vigna radiata* (L.) Wilczek: lipid peroxidation, sugar hydrolysis, Maillard reactions and their relationship to glass state transition. Journal of Experimental Botany, United Kingdom, v.54, n.384, p.1057-1067, 2003.

Nakagawa, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: Krzyzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; França Neto, J. B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999, p. 2.1-2.24.

Oliveira, C.; Silva, B. M. S.; Sader, R.; Môro, F. V. Armazenamento de sementes de carolina em diferentes temperaturas e embalagens. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 42, n. 1, p. 68-74, 2012.

Oliveira, L. M.; Bruno, R. L. A.; Meneghello, G. E. Qualidade fisiológica de sementes de *Syzygium cumini* L. durante o armazenamento. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 25, n. 4, p. 921-931, 2015.

Peoples, M. B.; Faizah, A. W.; Reakasen, B.; Harridge, D. F. Methods for evaluating nitrogen fixation by nodulated legumes in the field. *Australian Centre for International Agricultural Research Caberra, Australian*, n. 11, 1989, 76p.

Pereira, M. D.; Dias, D. C. F. S.; Borges, E. E. L.; Martins Filho, S.; Dias, L. A. S.; Soriano, P. E. Physiological quality of physic nut (*Jatropha curcas* L.) seeds during storage. *Journal of Seed Science*, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-27, 2013.

Richardson, D. M.; Carruthers, J.; Hui, C.; Impson, F. A. C.; Miller, J. T.; Robertson, M. P.; Rouget, M.; Le Roux, J. J.; Wilson, J. R. U. Human – mediated introductions of Australian acácias – a global experiment in biogeography. *Diversity and Distributions*, Oxford, v. 17, p. 771 – 787, 2011.

Rodrigues, A. P. D'A. C.; Kohl, M. C.; Pedrinho, D. R.; Arias, E. R. A.; Favero, S. Tratamentos para superar a dormência de sementes de *Acacia mangium* Willd. *Acta Ciência Agronômica*, Maringá, v. 30, n. 2, p. 279-283, 2008.

Scalon, S. P. Q.; Mussury, R. M.; Salon Filho, H.; Francelino, C. S. F.; Florencio, D. K. A. Armazenamento e tratamentos pré germinativos em sementes de jacarandá (*Jacaranda cuspidifolia* Mart.). *Revista Árvore*, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 179-185, 2006.

Segura, T. E. S.; Zanão, M.; Silva Júnior, F. G. Potencial da madeira de Acácia para a produção de polpa celulósica kraft. In: XXI Encontro Nacional da TECNICELPA/VI CIADICYP. Lisboa, Portugal, 2010.

Shaban, M. Review on physiological aspects of seed deterioration. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences, Bangladesh*, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.

Silva, D. G.; Carvalho, M. L. M.; Nery, M. C.; Caldeira, C. M. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento de sementes de *Tabebuia serratifolia*. *Cerne, Lavras*, v. 17, n. 1, p. 1-7, 2011.

Tan-Wilson, A.L.; Wilson, K.A. Mobilization of seed protein reserves. *Physiologia Plantarum, Suécia*, v.145, p.140–153, 2012.

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

Walters, C.; Ballesterosa, D.; Vertucci, V. A. Structural mechanics of seed deterioration: Standing the test of time. *Plant Science, Netherlands*, v. 179, p. 565-573, 2010.

Yemm, E. W.; Willis, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal, Londres*, v. 57, p. 508-514, 1954.