

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

Marco Aurélio dos Santos Júnior

**Alterações Fisiológicas nas Sementes Armezenadas de *Butia capitata* e Seus Impactos na Germinação de Embriões Cultivados
*In Vitro***

Montes Claros
2024

Marco Aurélio dos Santos Júnior

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS NAS SEMENTES
ARMEZENADAS DE *Butia capitata* E SEUS IMPACTOS NA
GERMINAÇÃO DE EMBRIÕES CULTIVADOS *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Produção Vegetal da Universidade
Federal de Minas Gerais, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Produção
Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio
Nascimento Lopes

Santos Junior, Marco Aurélio dos.

S237a
2025

Alterações fisiológicas nas sementes armazenadas de *Butia capitata* e seus impactos na germinação de embriões cultivados *in vitro* [manuscrito] / Marco Aurélio dos Santos Júnior. Montes Claros, 2024.
45 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Paulo Sérgio Nascimento Lopes.

Banca examinadora: Leticia Renata de Carvalho, Cristina de Paula Martins, Daniel Pereira Miranda, Paulo Sérgio Nascimento Lopes.

Inclui referências: f. 32-36.

1. Germinação – Teses. 2. Longevidade – Teses. 3. Deterioração – Teses. I. Lopes, Paulo Sérgio Nascimento. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 631.53

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 30 dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e quatro, às 8:00 horas, sob a Presidência do Professor Paulo Sérgio Nascimento Lopes, D. Sc. (Orientador – UFMG/ICA) e com a participação da Professora Letícia Renata de Carvalho, D. Sc. (UFMG/ICA), dos Pós-Doutorandos Cristina de Paula Santos Martins (UFMG/ICA) e Daniel Pereira Miranda (UFMG/ICA), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de Defesa de Dissertação de **Marco Aurélio dos Santos Junior**, aluno do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. Após avaliação da defesa de Dissertação do referido aluno, a Banca Examinadora procedeu à publicação do resultado da defesa de Dissertação intitulada: **“Alterações fisiológicas nas sementes armazenadas de *Butia capitata* e seus impactos na germinação de embriões cultivados in vitro”**, sendo o aluno considerado Aprovado. E, para constar, eu, Professor Paulo Sérgio Nascimento Lopes, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: O aluno somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 65 do regulamento do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 65 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, 1 (um) exemplar impresso e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 30 de dezembro de 2024.

Documento assinado digitalmente
 PAULO SERGIO NASCIMENTO LOPES
Data: 02/01/2025 20:36:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Paulo Sérgio Nascimento Lopes
Orientador

Documento assinado digitalmente
 LETICIA RENATA DE CARVALHO
Data: 06/01/2025 08:29:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Letícia Renata de Carvalho
Membro

Documento assinado digitalmente
 CRISTINA DE PAULA SANTOS MARTINS
Data: 31/12/2024 11:13:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Cristina de Paula Santos Martins
Membro

Documento assinado digitalmente
 DANIEL PEREIRA MIRANDA
Data: 31/12/2024 12:13:44-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Daniel Pereira Miranda
Membro

DEDICATÓRIA

Àqueles que em momento algum me deixaram fraquejar, e sempre acreditaram que seria possível.

Dedico à minha família

AGRADECIMENTO

Primeiramente a Deus, por me conceder a saúde e sabedoria necessárias para enfrentar todos os desafios empostos, sem acreditar em Sua presença, nada disso seria possível.

Aos meus pais, em especial à minha mãe, por sempre se encher de orgulho sabendo de seu dever cumprido, colocando-me sempre no caminho da educação, conhecimento e busca de algo sempre melhor.

À minha esposa Tânia, por estar sempre ao meu lado, com palavras de incentivo e amor. Por gerar em mim a confiança necessária e ser o pilar para que tudo fosse possível.

Às minhas filha, Júlia e Laura sem as quais nada disso faria sentido. Cada palavra de incentivo, cada sorriso foi combustível para sempre querer seguir em frente

Às minhas irmãs, nas quais sempre me espelhei.

Ao professor e orientador Paulo Sérgio, pelo incentivo e dedicação que dispensou a mim.

Aos integrantes do Grupo de Estudos em Frutíferas Exóticas e Nativas (GEFEN), por toda ajuda e principalmente pela amizade e carinho que sempre demonstraram por mim.

Ao Laboratório de Micropropagação da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), por toda ajuda na execução do experimento.

À Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e Unimontes por todos os recursos, espaços e materiais fornecidos.

Àqueles que direta ou indiretamente torceram e me ajudaram a vencer. A todos vocês, meu muito obrigado!

RESUMO

O armazenamento de sementes pode levar à superação de dormência das sementes, bem como a sua deterioração. Entretanto, em espécies tropicais, esse tema é pouco estudado. Nós avaliamos as alterações fisiológicas em sementes de coquinho azedo (*Butia capitata*), espécie frutífera nativa do Cerrado Brasileiro, ao longo do tempo e em condições diferentes de armazenamento. Pirênios (endocarpo+semente) recém-dispersos de *B. capitata* foram armazenados a sombra e monitorados por 150 dias quanto ao conteúdo de água, germinação, índice de velocidade de emergência (IVG), teor de malondialdeído (MDA), condutividade elétrica (CE) e resistência do opérculo. Em outro estudo, pirênios armazenados em areia, sombra e refrigeração por 270 dias, tiveram seus embriões excisados, cultivados *in vitro* e avaliados em relação ao alongamento do pecíolo cotiledonar, emissão da bainha e de raiz. O conteúdo de água diminuiu ao longo do armazenamento até estabilização após os 120 dias. A taxa de germinação, o IVG e a resistência do opérculo mantiveram-se estáveis até os 90 dias, com redução significativa aos 120 e 150 dias. Ao contrário, o MDA e CE aumentam ao longo do tempo, principalmente a partir de 90 dias de estocagem da semente. A refrigeração das sementes proporcionou maior taxa de alongamento ao longo do tempo em relação aos demais tratamentos, permitindo que mais de 75% dos embriões apresentassem crescimento do pecíolo com 210 dias de armazenamento. A emissão de bainha e raízes foi reduzida durante o período de estocagem, principalmente após 90 dias, independente da condição de armazenamento. O armazenamento promove redução da dormência das sementes de *B. capitata*, mas também reduz a viabilidade e o vigor, especialmente após 90 dias de armazenamento. A condição de refrigeração amplia a longevidade das sementes, porém reduz a capacidade de emissão de bainha e raízes no cultivo *in vitro*.

Keywords: germinação; longevidade; deterioração; cultivo de embriões; cultivo *in vitro*

ABSTRACT

Seed storage can lead to both dormancy breaking and seed deterioration. However, this topic remains understudied in tropical species. We evaluated physiological changes in seeds of *Butia capitata* (a native fruit species of the Brazilian Cerrado) over time under different storage conditions. Freshly dispersed pyrenes (endocarp+seed) of *B. capitata* were stored in shade and monitored for 150 days for water content, germination, emergence speed index (ESI), malondialdehyde (MDA) content, electrical conductivity (EC), and operculum resistance. In another study, pyrenes stored in sand, shade, and refrigeration for 270 days had their embryos excised, cultured *in vitro*, and evaluated for cotyledonary petiole elongation, sheath emission, and root development. Water content decreased throughout storage until stabilization after 120 days. Germination rate, emergence speed index (ESI), and operculum resistance remained stable until 90 days, showing significant reduction at 120 and 150 days. Conversely, malondialdehyde (MDA) content and electrical conductivity (EC) increased over time, particularly after 90 days of seed storage. Refrigerated storage promoted significantly greater elongation rates compared to other treatments, enabling over 75% of embryos to exhibit petiole growth after 210 days of storage. Sheath emission and root development were reduced during the storage period, particularly after 90 days, regardless of storage conditions. Storage promoted dormancy reduction in *B. capitata* seeds but simultaneously decreased viability and vigor, particularly after 90 days of storage. While refrigeration extended seed longevity, it reduced sheath emission and root development capacity during *in vitro* cultivation.

Keywords: germination; longevity; deterioration; embryo culture; *in vitro* culture

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Conteúdo de água em sementes de *B. capitata* obtidas de pirênios armazenados em galpão por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$ 21
- Figura 2 – Porcentagem de germinação (A) e índice de velocidade de emergência (IVG) (B) em sementes de *B. capitata* obtidas de pirênios armazenados em galpão aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$ 22
- Figura 3 - Conteúdo de Malondialdeído (MDA) em embriões de sementes de *B. capitata* armazenadas em galpão por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$ 22
- Figura 4 – Figura 4 - Condutividade elétrica das sementes de *B. capitata* armazenadas em galpão por 15, 60 e 90 dias (A) e durante seu período de embebição em água por 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas (B). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 15$ 23
- Figura 5 - Resistência à ruptura dos opérculos em sementes de *B. capitata* armazenadas em galpão por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si à 5% de significância pelo teste Tukey. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$ 24
- Figura 6 - Alongamento de pecíolo cotiledonar (a), presença de bainhas foliares (b) e emissão de raiz primária (c) de embriões cultivados *in vitro*, em função dos métodos (areia, sombra e refrigeração) e tempos (0, 30, 90, 150, 210, 270 dias) de armazenamento em galpão de sementes de *B. capitata*. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P<0,05$). Letras maiúsculas compara os métodos de armazenamento dentro de cada tempo, enquanto letras minúsculas compara os tempos dentro de cada método. As barras verticais representam o erro padrão de cada média 25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABA	Ácido Abscísico
ANOVA	Análise de Variância
BOD	Demanda Biológica de Oxigênio
CE	Condutividade Elétrica
ICA	Instituto de Ciências Agrárias
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
IVG	Índice de Velocidade e Germinação
MDA	Malondialdeído
UR	Umidade Relativa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Importância econômica do Coquinho Azedo.....	13
2.2 Dormência de sementes em palmeiras.....	13
2.3 Germinação em palmeiras.....	15
2.4 Condições de Armazenamento de Sementes.....	15
3 MATERIAIS E METODOLOGIA.....	17
3.1 Experimento I: Armazenamento de pirênios.....	17
3.1.1 Obtenção do material vegetal e armazenamento de pirênios.....	17
3.1.2 Avaliação do conteúdo de água e germinação.....	17
3.1.3 Quantificação do indicador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA).....	18
3.1.4 Estimativa da funcionalidade das membranas - avaliação da condutividade elétrica (CE).....	18
3.1.5 Estimativa da intensidade de dormência – avaliação da resistência do Opérculo.....	18
3.2 Experimento II: Condições para o armazenamento de pirênios.....	19
3.3 Análise estatística.....	19
4 RESULTADOS.....	20
4.1 Experimento I: Armazenamento de pirênios.....	20
4.1.1 Avaliação do conteúdo de água, germinação e vigor.....	20
4.1.2 Quantificação do indicador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA).....	21
4.1.3 Estimativa da funcionalidade das membranas - avaliação da condutividade elétrica.....	22
4.1.4 Estimativa da intensidade de dormência – avaliação da resistência do opérculo.....	22
4.2 Experimento II: Condições para o armazenamento de pirênios.....	23
5 CONCLUSÕES.....	28
REFERÊNCIAS.....	29

1 INTRODUÇÃO

O coquinho azedo (*Butia capitata*) é uma palmeira nativa e endêmica do Cerrado que tem se destacado pelo intenso uso alimentar e paisagístico, além da importância ecológica, fonte de alimento e abrigo para a fauna (BARBOSA *et al.*, 2021; SÁ *et al.*, 2020; SANT'ANNA-SANTOS, 2021). Todas essas aplicabilidades servem de justificativa para a implantação de projetos de cultivo e de restauração de áreas degradadas com a espécie, o que é ainda limitado em função da dificuldade de obtenção de mudas. As sementes de *B. capitata* apresentam dormência (MAGALHÃES *et al.*, 2013), a qual resulta em uma germinação lenta, desuniforme, e em baixas taxas (MAGALHÃES *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2013), o que restringe a produção de mudas em larga escala.

A dormência de *B. capitata* é classificada atualmente como morfofisiológica (SOARES *et al.*, 2021). Esse tipo de dormência consiste na presença de embriões subdesenvolvidos associada ao componente fisiológico. A superação da dormência morfofisiológica demanda, após a superação do componente fisiológico (ajuste do balanço hormonal), um período de crescimento do embrião dentro da semente, até que seja adquirida a força necessária para a protrusão da plântula (BASKIN; BASKIN, 2021; JAGANATHAN, 2021). Os diásporos (pirênios) de *B. capitata*, no entanto, constituem um sistema complexo, pois além do opérculo (estrutura da semente composta pelo tegumento opercular e endosperma micropilar), também atua na restrição ao crescimento do embrião a placa do poro germinativo, tecido lignificado do pericarpo (CARVALHO *et al.*, 2015; MAGALHÃES *et al.*, 2013; MAZZOTTINI-dos-SANTOS *et al.*, 2018; SOARES *et al.*, 2021).

A forma usual de superação da dormência em sementes de *B. capitata* é a retirada das sementes do endocarpo e a remoção mecânica do opérculo. A eliminação dessas estruturas permite, em menos de uma semana, uma elevada taxa de germinação (DIAS *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2013; SOARES *et al.*, 2021). Outra alternativa é o cultivo *in vitro* de embriões isolados (BASKIN & BASKIN, 2021; GOETEN *et al.*, 2024; MAGALHÃES *et al.*, 2013), que consiste no desenvolvimento de embriões imaturos ou maduros em condições assépticas e meios nutritivos, visando à obtenção de plantas viáveis (GOETEN *et al.*, 2024). Esses métodos, no entanto, são trabalhosos e sujeitos à contaminação microbiana, o que destaca a necessidade de sua associação com outras técnicas, visando o aumento da eficiência.

O armazenamento das sementes pode causar alterações fisiológicas e estruturais na semente e/ou no pirênio, conhecidas como pós-maturação, levando à superação da dormência (BASKIN & BASKIN, 2021; JAGANATHAN, 2021). As mudanças fisiológicas podem proporcionar a síntese de giberelinas (GAs) e a degradação do ácido abscísico (ABA), determinando entre estes um balanço favorável à germinação (BICALHO *et al.*, 2019; PINTO *et al.*, 2024). Modificações estruturais também podem ocorrer, principalmente, proporcionando o crescimento do embrião e reduzindo a resistência nos tecidos adjacentes ao embrião (BASKIN; BASKIN, 2021; JAGANATHAN, 2021; SOARES *et al.*, 2021). Por outro lado, o armazenamento pode causar a deterioração da semente, uma vez que processos químicos continuam nas sementes secas, o que leva a perda de vigor, redução na taxa de germinação e aumento da mortalidade (PINTO *et al.*, 2024; SOUSA *et al.*, 2017). Tais processos, em sementes oleaginosas como a de *B. capitata*, estão relacionados à peroxidação da abundante reserva lipídica e

aos danos das membranas celulares causados durante a reidratação das sementes (PINTO *et al.*, 2024; SOUSA *et al.*, 2017; GONÇALVES *et al.*, 2020). No entanto, poucos são os trabalhos aprofundados que avaliam o efeito do armazenamento sobre a germinação e a viabilidade em sementes de palmeiras.

Outro fator importante durante a estocagem das sementes é a condição do ambiente de armazenamento. Temperaturas de congelamento e refrigeração têm proporcionado conservação da qualidade das sementes de palmeiras do Cerrado (DIAS *et al.*, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2012; SALEH *et al.*, 2017). Ao contrário, temperaturas mais elevadas podem levar a redução da viabilidade e vigor (Dias *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2012; SALEH *et al.*, 2017). A deterioração da semente, nessas condições, pode ser resultado de maior estresse oxidativo e ineficiência do sistema antioxidante durante o armazenamento (BAILLY, 2019; SOUZA *et al.*, 2022). Informações sobre o efeito das condições de armazenamento sobre a viabilidade, vigor e dormência das sementes ao longo do tempo são valiosas para o sistema de produção de mudas de *B. capitata* em larga escala. Além disso, esses conhecimentos têm importância ecológica, por possibilitarem inferências sobre a dinâmica de bancos de sementes no solo e mecanismos de adaptação de *B. capitata* às condições de Cerrado, bioma fortemente marcado pela sazonalidade climática (SOARES *et al.*, 2021; SOUZA *et al.*, 2022).

O presente trabalho propôs avaliar o efeito do armazenamento e das condições de estocagem sobre a germinação de sementes de *B. capitata*. Procurou-se responder às seguintes perguntas: I) Qual a influência do armazenamento sobre a germinação, qualidade fisiológica e estrutura das sementes? II) Qual a condição de armazenamento é mais eficiente na preservação da qualidade fisiológica das sementes?

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância econômica do Coquinho Azedo

O *Butia capitata*, popularmente conhecido como coquinho-azedo, é uma palmeira nativa do Cerrado brasileiro, com ocorrência predominante no norte de Minas Gerais (LORENZI, 2022). Seus frutos são amplamente apreciados e utilizados na produção de sucos, licores, sorvetes e doces, desempenhando um papel significativo na economia local por meio do extrativismo (REGINATTO *et al.*, 2022). Além disso, as sementes (amêndoas) são aproveitadas na fabricação de óleo comestível (RAMOS *et al.*, 2022). A espécie, também, tem grande potencial ornamental, a semelhança do que ocorre com uma palmeira do mesmo gênero, *Butia odorata*, bastante utilizada em projetos paisagístico no Brasil e exterior (STUMPF *et al.*, 2023).

No norte de Minas Gerais, o coquinho-azedo tem desempenhado uma importante função social e econômica, sendo fonte de alimento, renda e emprego para as comunidades locais (ALMEIDA *et al.*, 2023). No entanto, a crescente demanda por seus frutos tem levado à sobre-exploração, colocando a espécie em risco, especialmente devido ao extrativismo intenso e à expansão agropecuária que ameaça seu *habitat* natural (SILVA *et al.*, 2023). Nesse sentido, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias de manejo sustentável e conservação da espécie, aliadas à valorização de seus produtos no mercado regional e nacional. A implementação de projetos de plantios comerciais e de recuperação de áreas podem assegurar a conservação da espécie e, simultaneamente, promover o desenvolvimento econômico das comunidades que dependem de seus recursos. Portanto, a produção de mudas de *B. capitata* em larga escala contribui para implementação desses projetos e auxilia na conservação do recurso natural.

2.2 Dormência de sementes em palmeiras

As sementes possuem importância tanto ecológica quanto econômica, sendo fundamentais na preservação e manutenção de biodiversidade, bem como fonte de renda e sustento. Do ponto de vista ecológico, as sementes promovem a propagação e o estabelecimento de espécies vegetais em habitats diferentes, servindo, também, como fonte de alimento e abrigo para uma diversidade de organismos (FENNER & THOMPSON, 2005). Seu papel na recuperação e regeneração de ambientes degradados é fundamental e constitui a base para programas de restauração ecológica (MERRITT & DIXON, 2011). Também, é fonte de alimentos para a população mundial, diretamente ligadas à produção de grãos e frutos, além de serem matérias-primas para diversos setores, como a indústria farmacêutica, cosmética e de biocombustíveis (FAO, 2014).

A germinação das sementes e a capacidade de estabelecimento das plântulas em condições ambientais variadas, são influenciadas por diversos fatores, entre estes, sua estrutura morfológica e composição (BEWLEY *et al.*, 2023; MAZZOTTINI-DOS-SANTOS *et al.*, 2023). As sementes de angiosperma, em geral, são constituídas por três estruturas: o tegumento, o embrião e endosperma (BEWLEY *et al.*, 2023). O tegumento tem origem materna e é responsável por proteger o embrião contra desidratação, danos mecânicos e ataques de patógenos, além de desempenhar um papel em processos

como a dormência (BEWLEY *et al.*, 2013). O embrião contém as estruturas iniciais da nova planta, como eixo embrionário (plúmula, radícula, hipocótilo e epicótilo) e cotilédones, que se alongam durante a germinação (TAIZ *et al.*, 2017; NONOGAKI *et al.*, 2010). O endosperma possui a função básica de armazenar reservas nutricionais e fornecer energia e substratos necessários para o crescimento inicial do embrião, antes que a planta se torne autotrófica (NONOGAKI *et al.*, 2010). O estudo da germinação e estabelecimento de plântulas dependem do entendimento e funcionamento dessas estruturas, uma vez que atuam em processos importantes como a embebição da semente, alongamento do embrião, crescimento da plântula etc. (BEWLEY *et al.*, 2023).

As sementes de palmeiras também são constituídas por estas três estruturas já mencionadas (CARVALHO *et al.*, 2015). Entretanto, em geral, a unidade de dispersão (diásporo) das espécies da família arecaceae é o pirênio, que envolve a semente mais o endocarpo duro. No endocarpo há um poro germinativo obstruído por fibras e por uma placa do poro (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, *et al.*, 2014). Abaixo destes, ocorre uma região opercular, composta pelo tegumento opercular e o endosperma micropilar, no qual o embrião está inserido (MAGALHÃES *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.* 2020). O embrião de palmeiras é peculiar, constituído externamente pela região de pecíolo cotiledonar e haustório, e, tendo internamente um eixo embrionário (OLIVEIRA *et al.* 2020).

A dormência é um fenômeno em que as sementes não germinam mesmo quando expostas a condições ambientais favoráveis, por causa da ação de fatores internos ou causas determinadas pela própria semente (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005). Isso é um mecanismo que distribui a germinação no tempo e no espaço, o que favorece e garante a sobrevivência das espécies (MURDOCH; ELLIS, 2000). No entanto, é um mecanismo limitante, do ponto de vista da implantação de cultivos comerciais, uma vez que proporciona uma germinação lenta e desuniformidade, o que afeta negativamente a produção de mudas em larga escala (BASKIN; BASKIN, 2022).

Apesar de alguns autores indicarem como fisiológica a dormência de *B. capitata* (MAGALHÃES *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013), que é a incapacidade do embrião em superar a resistência imposta pelos tecidos que o circundam (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; BASKIN; BASKIN, 2014a), estudo recente demonstra que a classificação mais adequada é morfofisiológica (SOARES *et al.*, 2021). Esse tipo de dormência consiste na presença de embriões subdesenvolvidos mais um componente fisiológico. Em geral, a dormência morfofisiológica requer um período considerável para o embrião crescer dentro da semente até determinado tamanho, quando ocorre a protrusão da radícula (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; BASKIN; BASKIN, 2014). Portanto, em *B. capitata*, o embrião tem que crescer, adquirir determinado tamanho, e romper os tecidos adjacentes, como o opérculo e poro germinativo. O opérculo é uma estrutura composta pelo tegumento opercular e endosperma micropilar, enquanto o poro germinativo é obstruído por tecido lignificado do pericarpo (MAGALHÃES *et al.*, 2011; MAZZOTTINI-DOS-SANTOS *et al.*, 2018; CARVALHO *et al.*, 2015; SOARES *et al.*, 2021).

Uma das formas de superar a dormência em sementes de *B. capitata* é retirada dos tecidos que oferecem resistência ao crescimento do embrião, como o endocarpo (poro germinativo) e o opérculo. A eliminação dessas estruturas permite uma elevada germinação em menos de uma semana (OLIVEIRA *et al.*, 2013; DIAS *et al.*, 2017; SOARES *et al.*, 2021). Entretanto, o processo para obtenção da semente

isolada e sem opérculo é oneroso, trabalhoso e exige mão de obra qualificada e estrutura de laboratório, além de possuir elevado risco de contaminação (LOPES *et al.*, 2023; NEVES *et al.*, 2022).

2.3 Germinação em palmeiras

Durante a germinação ocorre eventos biológicos caracterizados por uma sequência ordenada de eventos bioquímicos, morfológicos e fisiológicos (BEWLEY *et al.*, 2013). A germinação começa com entrada de água na semente, retomada do crescimento do embrião e termina com a protrusão radicular (BASKIN ;BASKIN, 2014). Em palmeiras a germinação é um processo singular, uma vez que o eixo embrionário é interno ao pecíolo cotiledonar (BASKIN; BASKIN, 2014). Portanto, nessas espécies a germinação é caracterizada pelo alongamento do pecíolo cotiledonar, que atravessa o poro germinativo, seguido da saída do eixo embrionário de dentro desta estrutura e produção de bainhas e raiz principal, originando a plântula (MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, *et al.*, 2018).

Há interação de fatores complexos, tanto interno quanto externos na germinação de sementes, os quais determinam o início do crescimento embrionário (NONOGAKI *et al.*, 2023; BEWLEY *et al.*, 2022). A integridade do embrião e qualidade das reservas nutricionais determinam a viabilidade interna das sementes e, ao mesmo tempo, a dormência age como um mecanismo adaptativo impedindo que o embrião germine sem que haja condições apropriadas (NONOGAKI *et al.*, 2010). A disponibilidade de água ativa processos metabólicos e enzimáticos que são requeridos para a retomada do desenvolvimento (NONOGAKI *et al.*, 2010). Temperatura também é requerida para o processo de germinação, regulando a velocidade das reações (TAIZ *et al.*, 2017). Existem faixas de temperatura mais apropriadas para a germinação, assim como faixas de temperatura limitantes (LABORIAU, 1983; BASKIN; BASKIN, 1998). Por fim, o oxigênio como fator preponderante para a respiração celular, fornece energia para que os processos metabólicos da germinação possam acontecer, especialmente em condições aeróbicas (NONOGAKI *et al.*, 2010).

Durante a germinação ocorrem alterações bioquímicas e fisiológicas, sobretudo na mobilização das reservas nutricionais armazenadas no endosperma ou cotilédones. Nessa fase, os carboidratos, lipídios e proteínas são degradados em moléculas menores que servem como fonte de energia e blocos de construção para o crescimento do embrião (BEWLEY *et al.*, 2013). Enzimas específicas agem desempenhando papéis cruciais para que o processo ocorra: a amilase catalisa a quebra do amido em açúcares simples, como glicose e maltose; a lipase hidrolisa os lipídios, liberando ácidos graxos e glicerol, que são utilizados na via do glioxilato para produção de energia; e a protease degrada proteínas em aminoácidos, que são usados na síntese de novas proteínas e como fonte de carbono e nitrogênio (TAIZ *et al.*, 2017). Somado a isso, o metabolismo energético é intensificado, com aumento na atividade respiratória para suprir a demanda de ATP necessária para o desenvolvimento inicial da plântula (NONOGAKI *et al.*, 2010). Assim, a integração desses processos bioquímicos e fisiológicos é fundamental para o sucesso da germinação e o estabelecimento das plantas.

2.4 Condições de Armazenamento de Sementes

A conservação da biodiversidade, bem como o desenvolvimento de técnicas de agricultura é

muitas vezes garantida pelo armazenamento de sementes, que por fim asseguram também a disponibilidade de recursos genéticos (LI *et al.*, 2023). A conservação protege espécies ameaçadas, contribuindo para a restauração ecológica e a sustentabilidade dos ecossistemas (ELLIS *et al.*, 1990). Na agricultura, é essencial assegurar a preservação da qualidade e variedade das sementes destinadas ao cultivo, com consequências diretas na produtividade e eficiência nos processos agrícolas (BEWLEY, *et al.*, 2013). As sementes são classificadas quanto ao comportamento no armazenamento em três categorias principais: ortodoxas, que toleram a dessecação e podem ser armazenadas por longos períodos sob condições de baixa temperatura e umidade; recalcitrantes, que são sensíveis à dessecação e à baixa temperatura, dificultando sua conservação a longo prazo; e intermediárias, que apresentam características entre as duas categorias anteriores (ROBERTS, 1973; HONG; ELLIS, 1996). Em *B. capitata* as sementes foram consideradas recalcitrantes por suportar a desitratção, mas não as baixas temperaturas (DIAS *et al.*, 2016). Entretanto, todas as estratégias de manejo e conservação são específicas para cada tipo de semente, e são determinadas a partir desse sistema de classificação.

O armazenamento das sementes pode causar alterações fisiológicas e estruturais na semente e/ou no pirênio, levando à superação da dormência (BEWLEY *et al.*, 2013). As mudanças fisiológicas podem proporcionar a síntese de giberelinas (GAs) e a degradação do ácido abscísico (ABA), determinando entre estes um balanço favorável à germinação. Modificações estruturais também podem ocorrer, principalmente, proporcionando o crescimento do embrião e reduzindo a resistência nos tecidos adjacentes ao embrião (opérculo e poro germinativo) (NONOGAKI *et al.*, 2010). Por outro lado, o armazenamento pode causar a deterioração da semente, uma vez que processos químicos continuam nas sementes secas, o que leva a perda de vigor, redução na taxa de germinação e aumento da mortalidade (BARRETO *et al.*, 2014; BEWLEY *et al.*, 2013). Esses processos, em sementes oleaginosas como a de *B. capitata*, estão relacionados à peroxidação da abundante reserva lipídica e aos danos das membranas celulares causados durante a reidratação das sementes (BEWLEY *et al.*, 2013; SOUSA *et al.*, 2017a). No entanto, poucos são os trabalhos que avaliam o efeito do armazenamento sobre a germinação e a viabilidade em sementes de palmeiras do Cerrado, especialmente em *B. capitata*.

Como outro fator importante durante a estocagem das sementes, destacam-se as condições do ambiente de armazenamento. Temperaturas de congelamento e refrigeração têm proporcionado maior conservação da qualidade das sementes de palmeiras do Cerrado, inclusive de *B. capitata* (DIAS *et al.*, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2012; SALEH *et al.*, 2017). Ao contrário, temperaturas mais elevadas, em condições de ambiente sombreado, o armazenamento leva a redução da viabilidade e vigor, avaliados pelo alongamento do pecíolo cotiledonar e emissão da bainha foliar e de raízes em embriões cultivados *in vitro* (DIAS *et al.*, 2016; RIBEIRO *et al.*, 2012; SALEH *et al.*, 2017). A deterioração da semente, nessas condições, pode ser resultado de maior estresse oxidativo e ineficiência do seu sistema antioxidante durante o armazenamento (BAILLY 2004, 2019; JOB *et al.* 2005).

3 MATERIAIS E METODOLOGIA

3.1 Experimento I: Armazenamento de pirênios

3.1.1 Obtenção do material vegetal e armazenamento de pirênios

Neste trabalho foram utilizados frutos de duas procedências. Para os estudos envolvendo sementes, os frutos foram coletados em matrizes do banco de germoplasma de *B. capitata* da Universidade Federal de Minas Gerais, *campus* Instituto de Ciências Agrárias (ICA), no município de Montes Claros – norte do estado de Minas Gerais, Brasil (16°40'54.3"S 43°50'21.5"W). Os pirênios (semente envolta pelo endocarpo, o qual constitui a unidade de dispersão da espécie) foram obtidos pela remoção mecânica do exocarpo e mesocarpo e tratados com inseticida fumegante, à base de Fosfeto de alumínio (Gastoxin ®B57), por sete dias.

Os pirênios foram armazenados por 150 dias, em local sombreado e arejado, com temperatura e umidade relativa do ar, variando, respectivamente, entre 22 e 27 °C e 50 a 55 %, segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (<https://portal.inmet.gov.br/>), no período de outubro de 2022 a março de 2023. Aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de armazenamento, as sementes foram extraídas dos pirênios, utilizando um martelo. As sementes que apresentaram injúrias, danos ocasionados por insetos e pelo seu processo de obtenção, má formação, murchas ou necroses foram descartadas.

3.1.2 Avaliação do conteúdo de água e germinação

Cinco repetições de 20 sementes, obtidas após cada período de armazenamento, foram destinadas à avaliação do conteúdo de água, germinação. O conteúdo de água foi determinado por meio da relação entre as massas frescas e secas das sementes, após a desidratação em estufa, a 105±3 °C, por 24 horas (BRASIL, 2009).

As sementes foram desinfetadas com hipoclorito de sódio e álcool, além de tratadas com os fungicidas carboxina (100 g L⁻¹) e tiram (100 g L⁻¹) (VitavaxThiram®), conforme metodologia de Oliveira et al., 2013. Em seguida, as sementes tiveram seu opérculo retirado (superação da dormência) e semeadas em bandejas de polietileno transparente, contendo vermiculita média, umedecida com água destilada a 80% da capacidade de retenção (OLIVEIRA et al., 2013 e DIAS et al., 2017). As bandejas foram mantidas em câmara de germinação (BOD), a 30°C, com fotoperíodo de 12 horas. As sementes foram avaliadas diariamente, por 30 dias, sendo consideradas germinadas aquelas que apresentaram protrusão de pecíolo cotiledonar de pelo menos 2 mm de comprimento acima da superfície da semente. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi determinado pelo somatório da razão entre o número de sementes germinadas em cada dia e o número de dias após a semeadura (MAGUIRRE, 1962).

3.1.3 Quantificação do indicador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA)

Quatro repetições de trinta miligramas de embriões, extraídos de sementes armazenadas por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias, foram macerados em nitrogênio líquido e misturados e homogeneizados a 1,5mL de tampão tricloroacético (TCA) 1% (v/v) em vórtex por 2 minutos e centrifugados por 15 min a 12000 rpm. Após isso, 1 mL do sobrenadante foi pipetado e adicionado a 3 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5%. Incubado em banho termostático em tubos com rosca a 95°C por 60 minutos em chapa aquecedora. Os tubos foram banhados em gelo, seguida de uma nova centrifugação a 9000 rpm por 10 minutos. Os valores foram lidos em espectrofotômetro (Shimadzu Modelo UV-1800) nas absorvâncias 532 e 600 nm. Os valores de MDA foram calculados pela fórmula: $\left\{ \frac{(ABS_{532} - ABS_{600})}{155000} \right\} * 10^6$; em que A_{532} indica a máxima absorvância do complexo MDA-TBA a 532 nm, A_{600} é a absorvância que corrige interferências não específicas e 155000 é o coeficiente molar de extinção do MDA. Os resultados foram expressos em nanomol por grama de peso fresco.

3.1.4 Estimativa da funcionalidade das membranas - avaliação da condutividade elétrica (CE)

Cinco repetições de 20 sementes, para o período de armazenamento de 15, 90 e 150 dias, foram dispostas em beckeres contendo 200 mL de água destilada, à temperatura ambiente e aeração constante por 72 horas. A cada 12 horas, a água contida nos beckeres era analisada quanto a condutividade elétrica dos lixiviados da semente, por meio do condutivímetro (LUTRON modelo PCD-432, fabricado no Reino Unido).

3.1.5 Estimativa da intensidade de dormência – avaliação da resistência do Opérculo

A resistência do opérculo foi medida testando-se a força necessária para que haja o seu deslocamento, segundo metodologia proposta por MAZZOTTINI-DOS-SANTOS *et al.*, (2016), simulando o esforço realizado pelo embrião, em sementes armazenadas por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Para isso, a semente foi seccionada transversalmente numa região logo abaixo de onde se encontra o opérculo. Esse corte expõe o embrião, que foi retirado com uma pinça para que se pudesse evidenciar a parte interna do opérculo e introduzir a ponteira de medição de um dinamômetro (Impac modelo IP90DI). Os valores foram expressos em $N^{-1}.cm^{-1}$.

3.2 Experimento II: Condições do armazenamento de pirênios e cultivo *in vitro* de embriões

Cinco repetições de 10 pirênios tiveram as sementes extraídas com auxílio de um torno manual de bancada, as quais foram destinadas à avaliação do teor de água, pelo método da estufa, conforme descrito acima. Outras dez repetições de 10 sementes foram desinfestadas com hipoclorito de sódio 1%, por 10 minutos. Em câmara de fluxo laminar, os embriões foram extraídos com estiletes e dispostos em solução de 100 ppm de ácido ascórbico para evitar oxidação (MELO, 2000). Após desinfestação em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 10 minutos e posterior lavagem por três vezes em água destilada e autoclavada, os embriões foram inoculados em tubos de ensaio, com dimensões de 7,5 x 1 cm, contendo 2 mL do meio: Sais MS (Murashige & Skoog, 1962), em 75% da concentração original; 0,4 mg/L de tiamina; 1 mg/L de piridoxina; 0,5 mg/L de ácido nicotínico; 100 mg/L de mio-inositol; 0,5 g/L de caseína hidrolisada; 3 g/L de carvão ativado; 30 g/L de sacarose; 6 g/L de ágar e pH ajustado para 5,7, a partir de protocolo adaptado de Ribeiro et al., (2011). Depois de inoculados os embriões, os tubos foram envoltos em papel alumínio e mantidos na ausência de luz, em germinador, em temperatura de 30°C.

Os pirênios adicionais foram armazenados em três condições: à sombra, acondicionados em sacos de papel, em condição de laboratório; em areia úmida, em casa de vegetação e em refrigerador à 10° C, embalados em sacos de polietileno. Aos 30, 90, 150, 210 e 270 dias de cada tipo de armazenamento, 10 repetições de 10 pirênios foram retirados e os embriões foram isolados, inoculados e cultivados nas condições descritas. O experimento foi estabelecido em esquema fatorial 3 (métodos de armazenamento) X 5 (tempos de armazenamento), sendo o tempo 0 considerado tratamento adicional. Em cada cultivo, utilizou-se delineamento inteiramente atualizado, com 10 repetições de 10 tubos de ensaio com um embrião cada.

Após trinta dias, os tubos foram retirados do germinador e os embriões avaliados quanto à ocorrência de alongamento do pecíolo cotiledonar, considerada indicativo da germinação, além das características relacionadas ao desenvolvimento das plântulas: emissão de bainhas foliares e emissão da raiz primária. O alongamento foi considerado quando o comprimento do embrião superou 1 cm.

3.3 Análise estatística

No estudo com sementes, o delineamento experimental adotado foi o inteiramente atualizado, sendo os tratamentos os períodos de armazenamento. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao 5% de probabilidade. No caso do conteúdo de água e MDA, também, ajustou-se uma equação de regressão. Os resultados das variáveis foram analisados pelo software R.

No estudo com cultivo *in vitro*, os dados foram tomados por contagem do número de embriões ou plântulas apresentando o evento, calculados em percentuais que, posteriormente, foram transformados em arco seno $(x/100)^{0.5}$. Utilizou-se análise de variância e, quando constatada diferença significativa entre os tratamentos pelo teste F, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Também, os tratamentos foram comparados com o controle por meio da análise de Dunnet ao nível de 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada através do programa estatístico SAS – The SAS System for Windows Version 8 (SAS, 1990).

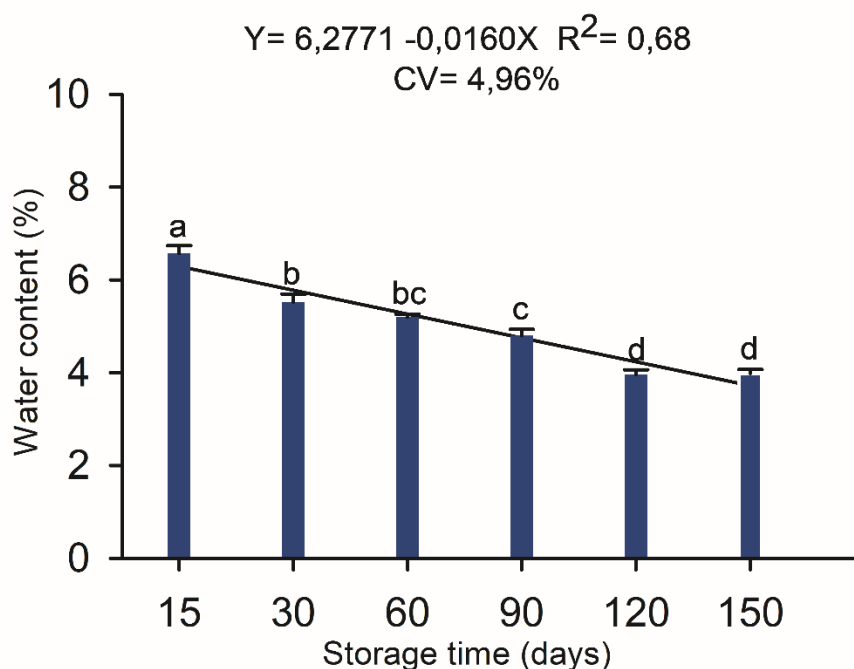
4 RESULTADOS

4.1 Experimento I: Armazenamento de pirênios

4.1.1 Avaliação do conteúdo de água, germinação e vigor

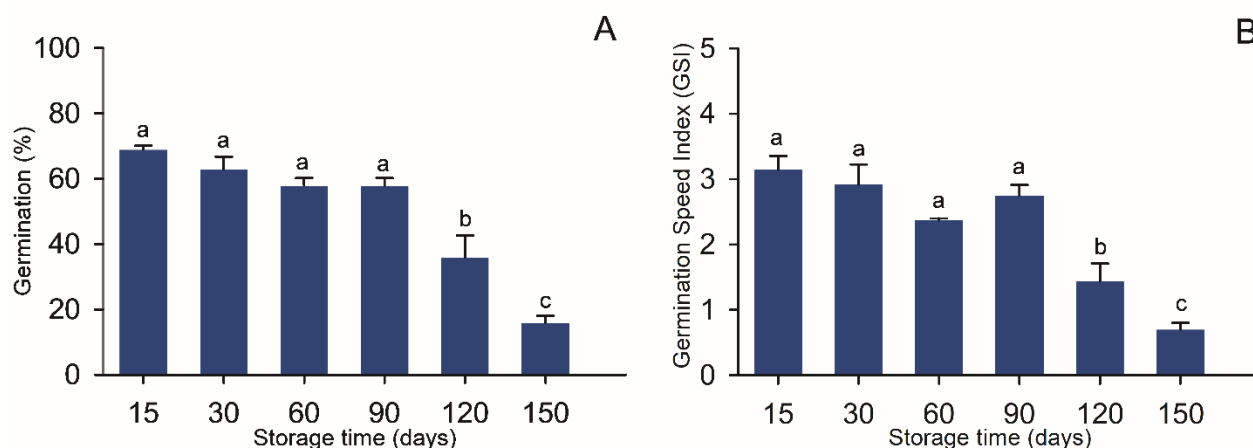
O conteúdo de água (6,5%) da semente reduziu ao longo tempo, até 120 dias. A partir desse tempo ocorreu estabilização, atingindo, ao final de 150 dias estocagem, percentual abaixo de 4,7%.

Figura 1 - Conteúdo de água em sementes de *B. capitata* obtidas de pirênios armazenados em galpão por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$



A germinação de sementes de *B. capitata* não foi alterada, até 90 dias de armazenamento, com germinabilidade média de 62%. Entretanto, a partir de 120 dias de estocagem, constatou-se declínio acentuado na taxa de germinação, com menor valor (16%) na última época de avaliação. De forma semelhante, o índice de velocidade de germinação (IVG) não apresentou diferenças significativas até os 90 dias, com média de 2,80. Entre 120 e 150 dias, ocorreu redução significativa do IVG, com média de 1,07 (FIGURA 2a) (FIGURA 2b).

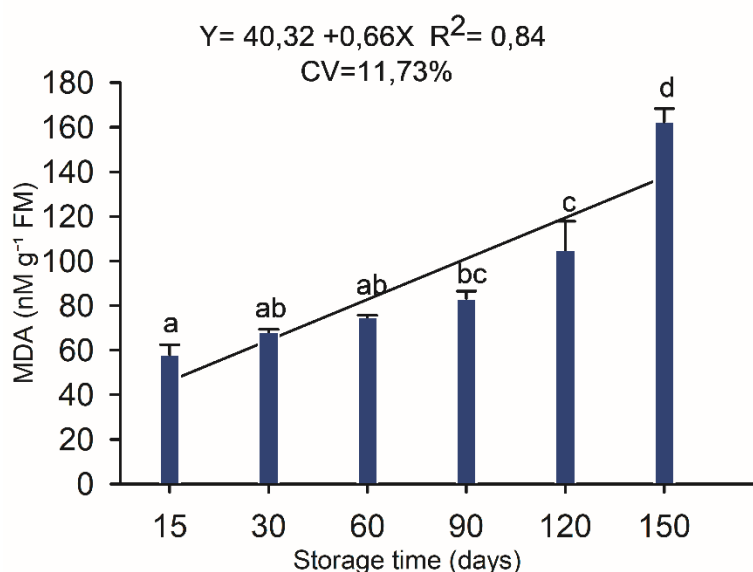
Figura 2 – Porcentagem de germinação (A) e índice de velocidade de emergência (IVG) (B) em sementes de *B. capitata* obtidas de pirêios armazenados em galpão aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$



4.1.2 Quantificação do indicador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA)

O conteúdo de MDA, indicador de peroxidação lipídica, foi alterado significativamente pelo armazenamento das sementes. A concentração não diferiu nos primeiros tempos de avaliação até os 60 dias, porém aos 90 dias constatou-se aumento significativo em relação aos 15 dias de estocagem. Aos 120 e 150 dias de armazenamento, detectou-se elevados conteúdos de MDA (FIGURA 3).

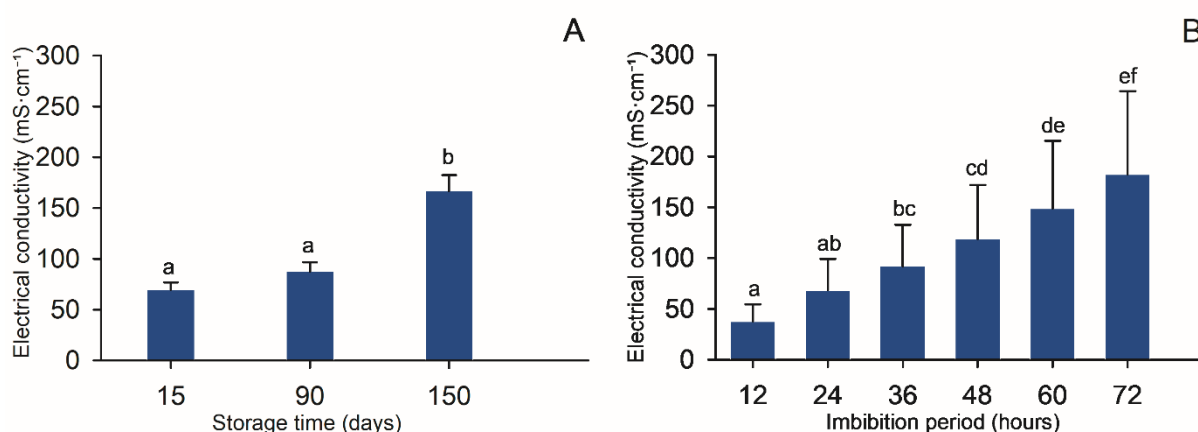
Figura 3 - Conteúdo de Malondialdeído (MDA) em embriões de sementes de *B. capitata* armazenadas em galpão por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$



4.1.3 Estimativa da funcionalidade das membranas - avaliação da condutividade elétrica

As sementes mantiveram o controle da lixiviação de solutos até os 90 dias de armazenamento, porém, com 150 dias observou-se aumento significativo da condutividade elétrica. Ao longo do período de embebição da semente ocorreu acréscimos na condutividade elétrica, principalmente, a partir das 36 horas (FIGURA 4A) (FIGURA 4B).

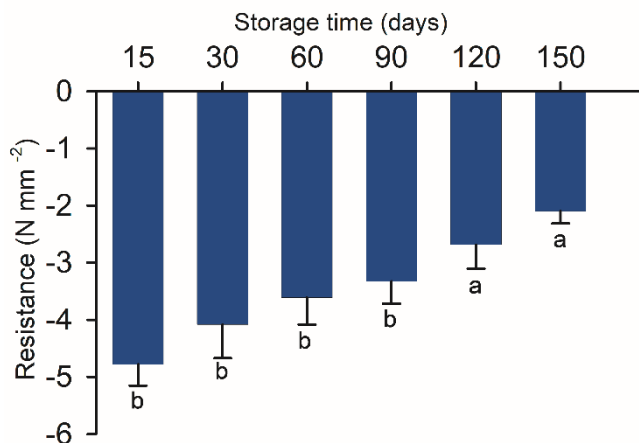
Figura 4 - Condutividade elétrica das sementes de *B. capitata* armazenadas em galpão por 15, 60 e 90 dias (A) e durante seu período de embebição em água por 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas (B). Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 15$



4.1.4 Estimativa da intensidade de dormência – avaliação da resistência do opérculo

A estimativa de intensidade de dormência, medida pela resistência do opérculo à ruptura, não apresentou alteração até os 90 dias de armazenamento. A partir desse tempo, a resistência do opérculo diminuiu, indicando menor intensidade de dormência nas duas últimas épocas (FIGURA 5).

Figura 5 - Resistência à ruptura dos opérculos em sementes de *B. capitata* armazenadas em galpão por 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si à 5% de significância pelo teste Tukey. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As barras verticais representam o erro padrão de cada média. $n = 30$



4.2 Experimento II: Condições para o armazenamento de pirênios

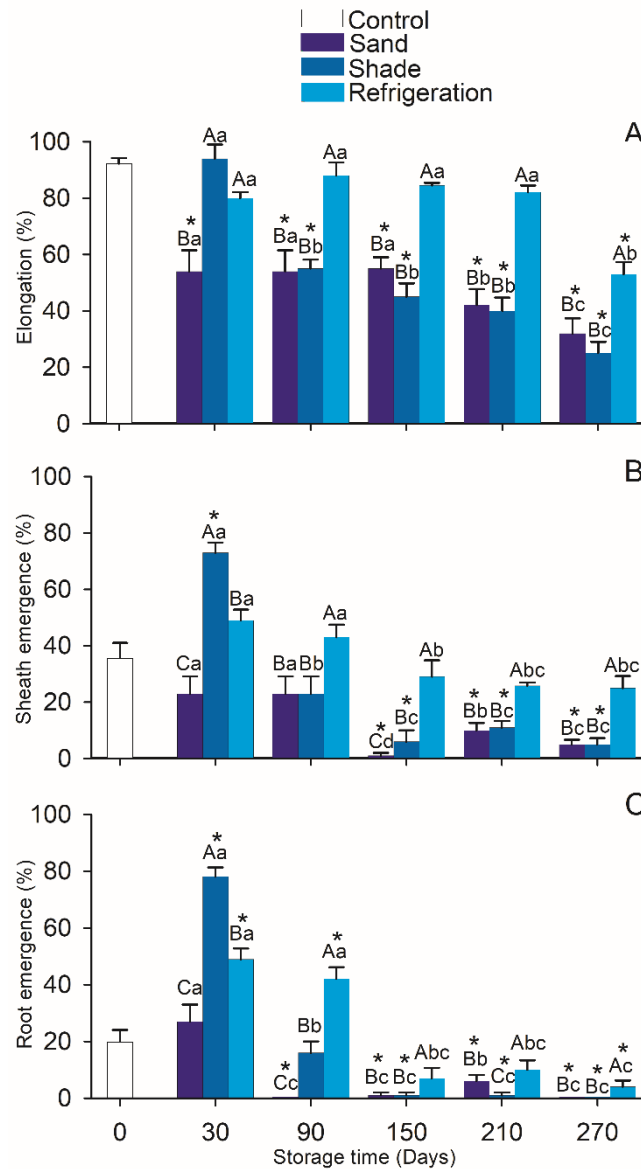
Todas as características avaliadas foram influenciadas pelo tempo ($P < 0,0001$), método ($P < 0,0001$) e interação do tempo e método ($P < 0,0001$). Noventa e dois por cento dos embriões obtidos de sementes de *B. capitata* antes do armazenamento apresentaram alongamento do pecíolo cotiledonar. O armazenamento em areia proporcionou menor alongamento, em relação ao refrigerador durante todo armazenamento e menor que à sombra, aos 30 dias. Os tratamentos à sombra e refrigerador até os 30 dias de armazenamento ocasionaram resultados equivalentes e não diferiram do tempo zero, porém, a partir deste tempo, o refrigerador foi superior. Os tratamentos proporcionaram perda da viabilidade ao longo do tempo, mas na refrigeração o declínio foi menor e, somente, após 270 dias (FIGURA 6a).

A emissão de bainhas foliares ocorreu em 36% das plântulas obtidas a partir de sementes na condição inicial. O armazenamento dos pirênios à sombra proporcionou maior percentual de emissão de bainhas que os outros tratamentos aos 30 dias, com redução até os 270 dias. A partir dos 90 dias, o refrigerador ocasionou maior percentual de emissão de bainhas em relação às demais condições de armazenamento, porém limitada diminuição na emissão desta estrutura ao longo do tempo. O armazenamento em areia levou a redução na emissão de bainhas até 150 dias, com variação não significativa até a última avaliação. Os tratamentos areia, em todos os tempos, e à sombra, a partir de 90 dias, proporcionaram resultados inferiores ao do tempo zero (FIGURA 6b).

No cultivo de embriões, realizado antes do armazenamento, 20% das plântulas desenvolveram raízes. Os melhores resultados foram atingidos com o armazenamento à sombra, aos 30 dias. Neste tempo, a emissão de raiz foi superior nos tratamentos refrigerador e sombra em comparação ao tempo zero. Aos 30 e 90 dias, o refrigerador ocasionou maior emissão de raízes, enquanto à sombra levou à redução na capacidade de enraizamento. A partir de 150 dias não houve diferença entre os métodos de armazenamento. Entretanto, os resultados proporcionados pelo refrigerador não diferiram

significativamente aos do tempo zero, enquanto areia e sombra foram inferiores.

Figura 6 - Alongamento de pecíolo cotiledonar (a), presença de bainhas foliares (b) e emissão de raiz primária (c) de embriões cultivados *in vitro*, em função dos métodos (areia, sombra e refrigeração) e tempos (0, 30, 90, 150, 210, 270 dias) de armazenamento em galpão de sementes de *B. capitata*. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Letras maiúsculas compara os métodos de armazenamento dentro de cada tempo, enquanto letras minúsculas compara os tempos dentro de cada método. As barras verticais representam o erro padrão de cada média



DISCUSSÃO

Alterações na qualidade fisiológica das sementes e germinação ao longo do tempo e da condição de armazenamento

As condições de armazenamento influenciam fortemente a germinação e a qualidade fisiológica de sementes de *B. capitata*. As sementes, mesmo após 15 dias de armazenamento, apresentam padrão decrescente de desidratação até os 90 dias, depois ocorre pouca variação (FIGURA 1). Essa espécie dispersa suas sementes com teor de água de aproximadamente 30%, porém em condições sombreada atinge 6%, após 30 dias pós-colheita (DIAS *et al.*, 2015), o que está de acordo com os resultados do presente trabalho. Entretanto, após esse período, a dessecação continua, até atingir umidade entre 4 e 3%, definida como a faixa mínima de conteúdo de água em sementes de *B. capitata*, quando secas em estufa e sílica gel (DIAS *et al.*, 2015). A temperatura e umidade relativa (UR) do ar interferem na umidade da semente, principalmente em ambientes abertos e com uso de embalagens porosas (HAY *et al.* 2022a; NADARAJAN *et al.* 2023). Por outro lado, sementes oleaginosas, como de *B. Capitata*, com teor de lipídeos acima de 31% (BARBOSA *et al.*, 2021), são pouco influenciadas pelas variações da temperatura e umidade relativa, quando armazenadas à sombra e ambiente aberto, como já constatado para outras espécies do Cerrado com alto teor de lipídeos, *Acrocomia aculeata* (PINTO *et al.*, 2024; RIBEIRO *et al.*, 2012). Isso pode explicar a pouca variação da umidade após 120 dias, quando é atingido o conteúdo de água mínimo. Contudo, não se pode excluir que alterações na temperatura e umidade relativa podem contribuir para o estresse oxidativo em *B. capitata* e comprometer a sua longevidade e germinação, como já relatado em diversos trabalhos (HAY *et al.* 2022a; HAY *et al.* 2022b; NADARAJAN *et al.* 2023; ZHU *et al.* 2021).

O máximo nível de qualidade fisiológica e germinação em sementes de *B. capitata* ocorre até os 90 dias após o armazenamento. Nesse período, o máximo valor da germinação, vigor (associado ao IVG), alongamento, emissão da bainha e raízes em condições de armazenamento não controladas foram evidenciados (FIGURAS 2A-B, 6A-C). Entretanto, a estocagem prolongada de *B. capitata* (mais de 90 dias) reduz sua qualidade fisiológica e a capacidade de germinação. Estudo que avaliou sementes de *B. capitata*, após diferentes condições de estocagem, detectou também baixa germinação e emissão de bainhas e parte aérea no cultivo *in vitro*, depois de 90 dias de armazenamento à temperatura ambiente, aproximadamente 22 °C (DIAS *et al.* 2015). Isso ocorre em função das transformações degenerativas (lesões celular e molecular) que as sementes sofrem durante o armazenamento (DIAS *et al.*, 2024; PINTO *et al.*, 2024; SOUZA *et al.* 2022).

As baixas temperaturas proporcionam maior longevidade de sementes de *B. capitata*. O tratamento refrigerador ocasiona maiores percentuais de embriões alongados e emissão da bainha, em relação aos demais, principalmente após 90 dias (FIGURAS 6A-B). O uso de baixas temperaturas no armazenamento tem demonstrado maior conservação da capacidade de germinação e vigor em sementes oleaginosas de palmeiras nativas do Cerrado e do gênero *Butia*, como relatado para *A. aculeata* (RIBEIRO *et al.*, 2012), *Attalea speciosa* (SALEH *et al.*, 2017). Por outro lado, o uso de ambientes com temperaturas acima de 22 °C tem levado a deterioração das sementes dessas espécies e, também, da *B. capitata*, verificado em estudos de cultivo *in vitro*, por meio da baixa germinação e emissão estruturas aéreas e radiculares (DIAS *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2012; SALEH *et al.*, 2017;

SOARES *et al.*, 2021). Desta forma, a redução da temperatura promove diminuição do metabolismo e dos processos oxidativos, ampliando a longevidade da semente (DIAS *et al.*, 2015; GOETEN *et al.*, 2024; SALEH *et al.*, 2017).

O armazenamento de sementes isoladas de *B. capitata* em temperaturas entre -18 e -10 °C acarreta elevada perda da viabilidade dos embriões (DIAS *et al.*, 2015). Desta forma as sementes da espécie são classificadas como intolerante ao congelamento e de comportamento intermediário, segundo a classificação de HONG & ELLIS (1996). No trabalho citado, as sementes foram congeladas com embriões contendo elevada umidade, o que pode causar a formação de cristais e a injúria nas células (DIAS *et al.*, 2015). No presente trabalho não foram utilizadas temperaturas de congelamento, além disto, sementes envolvidas pelo endocarpo duro (pirênios) ficam protegidas durante o armazenamento das variações dos fatores ambientais (CARVALHO *et al.*, 2015; SOUSA 2017a, b), o que pode atenuar os efeitos deletérios de baixas temperaturas e favorecer a longevidade. Nesse sentido é importante investigar mais profundamente o papel do endocarpo, tanto no manejo das sementes quanto na ecologia reprodutiva da espécie.

Estresse oxidativo, longevidade e dormência

A baixa germinação de sementes de *B. capitata*, após 90 dias de armazenamento, está associada a incapacidade do controle do estresse oxidativo. Sementes estocadas a partir deste período geram altas concentrações de MDA (FIGURA 3) e elevada condutividade elétrica (CE) (FIGURA 4), associados com a redução da germinação (FIGURA 2A). Geralmente, durante a secagem das sementes (pós-maturação), o estresse hídrico resultante da desidratação leva a acumulação de espécies reativas ao oxigênio (EROs), as quais podem causar alto estresse oxidativo se o sistema antioxidante da semente for ineficiente para a sua remoção (BAILLY, 2019; DIAS *et al.*, 2024). O peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e os superóxidos estão entre os principais EROs, e, suas acumulações nas células causam estresse oxidativo. Entretanto, o H₂O₂, quando controlado, pode ter efeito positivo, reduzindo o nível de ácido abscísico (ABA) e superando a dormência (BICALHO *et al.*, 2019; DIAS *et al.*, 2024; PINTO *et al.*, 2024). Por outro lado, as enzimas ascorbato peroxidase (APX), catase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) controlam o acúmulo de EROs, como o superóxido e peróxido de hidrogênio, promovendo a desintoxicação das células (BAILLY, 2019; BICALHO *et al.*, 2019; DIAS *et al.*, 2024; PINTO *et al.*, 2024). Portanto, a falta de eficiência do sistema antioxidante, o aumento da produção de MDA, como consequência da peroxidação lipídica, e extravasamento de solutos (CE) podem ser as causas da baixa germinação e vigor de sementes de *B. capitata* armazenada após 90 dias, como constado em embriões da espécie sobre estresse hídrico (GONÇALVES *et al.*, 2020).

Armazenamento promove a redução da dormência em sementes de *B. capitata*. A resistência do opérculo, um dos componentes da dormência da semente em palmeira, é reduzido após 90 dias (Figura 5). A dormência de sementes de palmeiras, incluindo *B. capitata*, é classificada como morfofisiológica, ou seja, para que ocorra a germinação torna-se necessário o crescimento do embrião e o rompimento dos tecidos adjacentes (BASKIN & BASKIN, 2021; Soares *et al.*, 2021). Os tecidos que impedem a protusão do pecíolo cotiledonar em palmeiras são o opérculo e a placa do poro germinativo. Quando se utiliza a semente isolada, o principal limitante à germinação é o opérculo, que após o seu deslocamento ocorre protrusão do pecíolo cotiledonar (OLIVEIRA *et al.*, 2013; DIAS *et al.*, 2017; SOARES *et al.*, 2021).

Portanto, a redução na resistência do opérculo pode favorecer o crescimento do pecíolo cotiledonar e superar a dormência. O armazenamento tem promovido a diminuição da resistência dos tecidos em algumas espécies e, conseqüentemente, permitido a germinação (PINTO *et al.*, 2024; SILVA *et al.*, 2007, SOUSA *et al.*, 2017, SOUZA *et al.*, 2022). Entretanto, mesmo que a dormência seja superada, ocorre baixa taxa de germinação em função da deterioração das sementes, como já constatado em outra espécie do Cerrado, *C. brasiliense* (PINTO *et al.*, 2024; SOUSA *et al.*, 2017). Nesse sentido, torna-se importante estudar intervalos menores de armazenamento, tentando identificar épocas e condições de estocagem, que proporcionem menor intensidade de dormência, mas também, maior viabilidade e vigor das sementes. Essas informações são valiosas para compreender as estratégias ecológicas da espécie e estabelecer protocolos de produção de mudas em larga escala.

5 CONCLUSÕES

Sementes de *B. capitata*, recém-dispersas e armazenadas até 90 dias, mantêm sua capacidade germinativa e elevada qualidade fisiológica. A dormência, associada ao opérculo, é reduzida após 90 dias de armazenamento, porém, após este tempo, a deterioração aumenta, diminuindo a viabilidade e vigor das sementes.

Os pirênios armazenados sob refrigeração, conservam por mais tempo a capacidade de germinação e emissão de bainhas e raízes pelos embriões.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. F.; RIBEIRO, E. M. S.; SANTOS, R. M. Saberes tradicionais e uso sustentável do coquinho-azedo (*Butia capitata*) por comunidades quilombolas no norte de Minas Gerais. **Revista Sociedade & Natureza**, Uberlândia, v. 35, e65892, 2023.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 14, n. 2, p. 93-107, 2004.
- BAILLY, C. The signalling role of ROS in the regulation of seed germination and dormancy. **Biochemical journal**, v. 476, n. 20, p. 3019-3032, 2019.
- BARBOSA M.C. *et al.* Composition proximate, bioactive compounds and antioxidant capacity of *Butia capitata*. **Food Science and Technology**, v. 41, n. 2, p. 763–768, 2021.
- BARRETO, M. L. A. **Causa de dano na correlação entre condutividade elétrica e qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2014. xiv, 71 f., il. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília, Brasília, 2014.
- BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. What kind of seed dormancy might palms have? **Seed Science Research**, v. 24, n. 1, p. 17-22, 2014a.
- BASKIN; J. M.; BASKIN; C. C. The great diversity in kinds of seed dormancy: a revision of the NIKOLAEVA–BASKIN classification system for primary seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 31, n. 3, p. 249-277, 2021.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Breaking seed dormancy in commercial crops: physiological and agronomic challenges. **Seed Science and Technology**, Bassersdorf, v. 50, n. 1, p. 45-63, 2022.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAK, H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. New York: Springer, 2013.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. The Interplay Between Internal and External Factors in Seed Germination Regulation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 27, n. 8, p. 812-825, 2022.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 4. ed. New York: Springer, 2023. 392 p.
- BICALHO E. M. *et al.* Absciscic acid and the antioxidant system are involved in germination of *Butia capitata* seeds. **Acta Botanica Brasilica**, v. 3, n. 1, 2019.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília, MAPA/ACS, 2009.

BRIDGEN, M. P. **A review of plant embryo culture**, v. 29, n.11, 1994.

CARVALHO V. S. et al. Dormancy is modulated by seed structures in palms of the cerrado biome. **Australian Journal of Botany**, v. 63, p. 444-454, 2015.

DIAS D. S. et al. Tolerance of desiccation and cryopreservation of *Butia capitata* palm seeds. **Seed Science and Technology**, v. 43, n. 1, p. 90-100, 2015.

DIAS, D. S. et al. Hormonal profile and the role of cell expansion in the germination control of Cerrado biome palm seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, 168–177, 2017.

DIAS G. P. et al. Water stress resilience in *Mauritia flexuosa* (Arecaceae) embryos: New insights into the persistence of recalcitrant seed banks. **Environmental and Experimental Botany**, v. 226, 2024.

DEMIDCHIK, V. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and experimental botany*, v. 109, p. 212-228, 2015.

ESCOBAR, E. D. F.; CARDOSO, V. J. Longevity of seeds and soil seed bank of the Cerrado tree *Miconia chartacea* (Melastomataceae). **Seed Science Research**, Cambridge, v. 25, p. 386-394, 2015.

FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. *New phytologist*, v. 171, n. 3, p. 501-523, 2006.

GARCIA, J. L. et al. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 69, p. 95-100, 2002.

GOETEN D. et al. Embryos of *Butia catarinensis* are rudimentary and tolerant of desiccation and liquid nitrogen temperatures, but require GA₃ to germinate. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 156, n. 95, 2024.

GONÇALVES B. G. et al. Embryo responses to extreme water events provide insights into the behavior of *Butia capitata* (Arecaceae) seed banks during hydration cycles. *Environmental and Experimental Botany*, v. 169, 2020.

HAY F. R. et al. **Seed Moisture Isotherms, Sorption Models, and Longevity**. **Frontiers in Plant Science**, v.13, 2022a.

HAY, F R. et al. More on seed longevity phenotyping. **Seed Science Research**, v. 32, n. 3, p. 144-149, 2022b.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. A protocol to determine seed storage behaviour. **International Plant Genetic Resources Institute**, n.1, 1996.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia, 2024. **Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acesso em: 21 abr. 2024.

ISHIBASHI, Y. et al. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 275, 2017.

JAGANATHAN GK. Ecological insights into the coexistence of dormancy and desiccation-sensitivity in Arecaceae species. **Annals of Forest Science**, v. 78, n. 10, 2021.

JOB, C., RAJJOU, L., LOVIGNY, Y., BELGHAZI, M. and JOB, D. (2005) Patterns of protein oxidation in Arabidopsis seeds and during germination. **Plant Physiology**, v. 138, p. 790–802, 2005.

LI, D.-Z.; PRITCHARD, H. W. The science and economics of ex situ plant conservation. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 28, n. 4, p. 418-431, 2023.

LOPES, J. C. et al. Tecnologia de sementes de espécies florestais nativas: desafios no beneficiamento e implicações na qualidade fisiológica. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 45, 2023.

LORENZI, H. et al. **Flora brasileira: Arecaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2010. p. 382.

LORENZI, H. et al. **Flora Brasileira: Arecaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2022. 608 p

MAGALHAES, H. M. **Dormência e germinação de coquinho-azedo: substâncias inibidoras nos pirênios e morfoanatomia dos embriões e de plântulas**. Montes Claros: ICA/UFMG, 2011. 89 f: il. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia), Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.

MAGALHÃES, H. M. et al. Structure of the zygotic embryos and seedlings of *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, Berlin, p.1-12, 2013.

MAGUIRRE, J. D. Seeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.

MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, H.C. et al. Structural changes in the micropylar region and overcoming

dormancy in Cerrado palm seeds, **Tress**, v. 32, p. 1415-1428, 2018.

MAZZOTTINI-DOS-SANTOS, H. C. et al. Seed structure and germination ecology of *Butia capitata* (Arecaceae): roles of stony endocarp and environmental cues. **Flora**, Jena, v. 302, p. 152276, 2023.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962.

NADARAJAN, J. et al. Seed Longevity—The Evolution of Knowledge and a Conceptual Framework. **Plants**. V. 12, n. 3, 2023.

NEVES, S. C.; RIBEIRO, L. M.; CUNHA, I. R. Operculum removal in palm seeds: effects on germination and microbial contamination risks. **Seed Science and Technology**, Bassersdorf, v. 50, n. 2, p. 189-205, 2022.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination: still a mystery. **Plant Science**, v.179, p.574-581, 2010.

NONOGAKI, H. Seed Biology Updates: From Basic Science to Application. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 74, p. 253-279, 2023.

OLIVEIRA, N. G. et al. Morfologia e histoquímica de sementes de *Butia capitata* (Arecaceae): aspectos relacionados à germinação. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 34, n. 2, p. 345-356, 2020.

OLIVEIRA NCC, LOPES PSN, RIBEIRO LM, MERCANDANTE-SIMÕES MO, OLIVEIRA LAA, SILVÉRIO FO. Seed structure, germination, and reserve mobilization in *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, v. 27, p. 1633–1645, 2013.

OLIVEIRA, T. G. S. et al. Use of phytohormones in overcoming macaw palm seed dormancy. **Acta Scientiarum**, v. 35, p. 505-511, 2023.

PAIVA, P. D. O. et al. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.) **Ciência Agrotécnica**, v. 28, p.1031-1037, 2004.

PINTO, V. O. et al. Oxidative stress and ABA dynamics modulate dormancy and longevity of stored *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) Seeds. **Journal of Plant Growth Regulation**, 2024.

RAMOS, M. I. L. et al. Caracterização físico-química e potencial antioxidante do óleo extraído das amêndoas de *Butia capitata* (Mart.) Becc. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 52, n. 6, 2022.

REGINATTO, F. H. et al. *Butia capitata* (Mart.) Becc.: uma revisão sobre aspectos botânicos,

composição química e potencial econômico no Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 44, n. 3, e-083, 2022.

RIBEIRO, L. M. et al. Overcoming dormancy in macaw palm diaspores, a tropical 63 species with potential for use as bio-fuel. **Seed Science & Technology**, v.39, p.303-317, 2012.

RIBEIRO, L.M. et al. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento in vitro de coquinhoazedo. **Revista Ceres**, v.58, n.2, p.133-139, 2011.

RIBEIRO, L. M. et al. The behaviour of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) seeds during storage. **Seed Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 344-353, 2012.

SÁ, D. et al. Effects of ecological and anthropogenic factors on population demography of the harvested *Butia capitata* palm in the Brazilian Cerrado. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, p. 1571–1588, 2020.

SALEH, E. O. L. et al. Determination of physiological and environmental conditions for the storage of babassu palm seeds (*Attalea speciosa*). **Seed Science and Technology**, v. 45, n. 1, p. 139-150, 2017.

SANT'ANNA-SANTOS, B. F. A new endemic and critically endangered species of *Butia capitata* (Arecaceae) with comments on morpho-anatomical novelties in the genus. **Plant Systematics and Evolution**, v. 307, n. 1. 2021.

SILVA, E. A. A. et al. Germination ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. *Annals of botany*, v. 99, n. 5, p. 823-830, 2007.

SILVA, A. V. et al. Sustentabilidade do extrativismo de *Butia capitata* (Mart.) Becc. no Cerrado mineiro: impactos da colheita predatória e perda de habitat. **Biodiversidade Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 45-60, 2023.

SOARES, J. R. et al. Hydration cycles and overcoming dormancy in *Butia capitata* (Arecaceae) diaspores. **Trees**, v. 35, p. 1511–1524, 2021.

SOUZA, A. et al. Armazenamento de sementes sob diferentes classes de tamanho e coloração do tegumento promovem germinação máxima de *Pochota fendleri*? **Anais... III CoBICET – Trabalho completo Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia “15 anos dos BIs e LIs: retrospectiva, resistência e futuro, 2017a.**

SOUSA, A. M. S. Germination and storage of *Caryocar brasiliense* seeds. **Seed Science and Technology**. v. 45, n. 3, 2017.

SOUZA, J. N. et al. Seasonality and the control of longevity and dormancy in macauba palm diaspores. **Industrial Crops and Products**, 2020.

STUMPF, E. R. T. et al. Potencial ornamental de espécies nativas brasileiras: avanços e desafios. **Ornamental Horticulture**, Campinas, v. 29, n. 1, p. 15-28, 2023.

WASZCZAK, C. et al. Reactive oxygen species in plant signaling. **Annual review of plant biology**, v. 69, n. 1, p. 209-236, 2018.

WOODSTOCK, L. W. **Physiological and biochemical tests for seed vigor**, 1973.

WOJTYLA, Ł. et al. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 66, 2016.

ZHU, Z. H. et al. Effects of seed priming treatments on the germination and development of two rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under the co-influence of low temperature and drought. **Plos one**, v. 16, n. 9, 2021.