

NATÁLIA CRISTINA CORRÊA DE OLIVEIRA

**GERMINAÇÃO DO COQUINHO-AZEDO [*Butia capitata*
(Mart.) Becc. (Arecaceae)]: ASPECTOS
MORFOANATÔMICOS E FISIOLÓGICOS**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Manejo e Conservação da Biodiversidade, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias.

Co-orientador: **Paulo Sergio Nascimento Lopes**

Orientador: **Flaviano OliveiraSilvério**

Montes Claros

2012

**O48g
2012**

Oliveira, Natália Corrêa de.

Germinação do coquinho-azedo: aspectos morfoanatômicos e fisiológicos / Natália Corrêa de Oliveira. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2012.

79 f: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Manejo e Conservação da Biodiversidade) Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.

Orientador: Prof. Flaviano Oliveira Silvério.

Banca examinadora: Marília Contin Ventrella, Maria Olívia Mercadantes-Simões, Leonardo Monteiro Ribeiro, Paulo Sérgio Nascimento Lopes, Flaviano Oliveira Silvério.

Inclui bibliografia: f. 72-79.

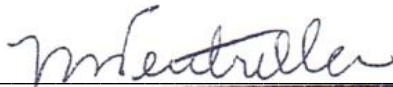
1. Coquinho azedo – Germinação. 2. Fruticultura. I. Silvério, Flaviano Oliveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 574.1

NATÁLIA CRISTINA CORRÊA DE OLIVEIRA

Aprovada em 26 de abril de 2012.

**GERMINAÇÃO DO COQUINHO-AZEDO: ASPECTOS
MORFOANATÔMICOS E FISIOLÓGICOS**



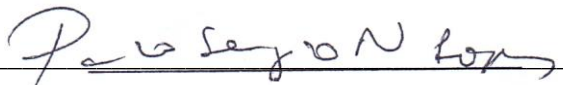
**Profª. Marília Contin Ventrella
(UFV)**



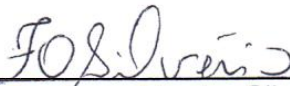
**Profª. Maria Olívia Mercadantes-Simões
(UNIMONTES)**



**Prof. Leonardo Monteiro Ribeiro
(UNIMONTES)**



**Prof. Paulo Sérgio Nascimento Lopes
Coorientador (ICA/UFMG)**



**Prof. Flaviano OliveiraSilvério
Orientador (ICA/UFMG)**

Montes Claros

2012

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me fortalecer nos momentos mais difíceis e principalmente pela graça de ter paciência para esperar o tempo certo de cada coisa.

Aos meus familiares que souberam entender minha ausência, em especial aos meus pais, Jair e Mariza, por proporcionarem mais uma realização de um sonho. Às minhas irmãs Virgínia, Gerusa e “Silvinha”, por estarem sempre me apoiando. Aos meus cunhados, Cássio e Helder, as palavras de conforto, e em especial, à minha sobrinha Helena, que, com o seu sorriso, me fez encher de esperança quando tudo parecia impossível. Ao Pedro, a paciência, o amor e o companheirismo, que, mesmo distante, esteve sempre ao meu lado, durante os momentos mais difíceis.

Aos meus orientadores: Paulo Sergio Nascimento Lopes, que, após tantos anos de convivência, esteve sempre disponível e contribuindo para o meu crescimento profissional; Leonardo Monteiro Ribeiro, a atenção, os ensinamentos e a enorme contribuição aos meus trabalhos e ao professor Flaviano as colaborações.

Ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, constituído por todo seu corpo docente e funcionários (especialmente ao Sr. Adão, o exemplo; Teddy e Gilberto as boas conversas e Edélzia, as contribuições). Ao Grupo de Estudos em Frutíferas Exóticas e Nativas e a todos os seus integrantes, em especial aqueles que estiveram sempre ajudando “dia e noite” nas árduas tarefas dos experimentos, Lucas, Edilson, Guilherme, Evellyn, Diemesson, Herick, Julian, Rafael, Dáffine, Daiane e Welha, enfim, a oportunidade de trabalho em equipe e o aprendizado em diversas áreas do conhecimento. Ao Bruno Francisco Sant’Anna Santos, a amizade e os ensinamentos em docência e, principalmente, por despertar o interesse em anatomia vegetal.

Aos amigos da Unimontes, a recepção, em especial a Silma, por estar sempre disponível e a professora Maria Olívia, a paciência e os ensinamentos em anatomia vegetal.

Às amigas de república, que jamais esquecerei: Anna Crystina, Germana e Antonella e aos demais amigos: Janaína, Cíclia, Wellington, Antônio, Marco Túlio e Altina e a todos os colegas do mestrado, que, por mais que o tempo fosse corrido, sempre se mostraram solidários.

Ao CNPq, que, por meio do projeto “Pesquisa e extensão com sistemas agroextrativistas de agricultores familiares tradicionais do Alto-Médio São Francisco, norte do Estado de Minas Gerais”, contribuiu financeiramente para os meus trabalhos e à Capes/Reuni pela bolsa de estudos.

Por fim, a todos que, de algum modo, contribuíram para a realização desse projeto.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2 - EMBEBIÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES E EMBRIÕES DE COQUINHO-AZEDO

- GRÁFICO 1 -** Incremento de massa (g) germinação (%) durante o período de embebição (horas) em sementes vivas de coquinho azedo (*Butiacapitata*), Montes Claros, 2012. (A) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 30°C. (B) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 40°C. (C) Sementes submetidas aos tratamentos adicionais: ambiente, estufa e sem opérculo a 25°C..... 34
- GRÁFICO 2 -** Incremento de massa (g) durante o período de embebição (horas) em sementes mortas de coquinho azedo (*Butiacapitata*), Montes Claros, 2012. (A) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 30°C. (B) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 40°C. (C) Sementes submetidas aos tratamentos adicionais: ambiente, estufa e sem opérculo a 25°C..... 35
- GRÁFICO 3 -** Efeito do período de embebição sobre a formação de plântulas de *B. capitata* em sementes recém-colhidas. (A) Massa seca da bainha; (B) Massa seca do pecíolo; (C) Desenvolvimento da bainha secundária; (D) Desenvolvimento da raiz primária. 37
- GRÁFICO 4 -** Umidade em embriões de *B. capitata* durante o período de embebição (horas) em sementes..... 40
- GRÁFICO 5 -** Germinação de diásporos de *Butia capitata* submetidos a escarificação..... 41

CAPÍTULO 3 - ESTRUTURA DA SEMENTE, GERMINAÇÃO E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM BUTIA CAPITATA (ARECACEAE)

- FIGURA 1 -** Morfologia da semente e plântulas de *Butia capitata*..... 56
- FIGURA 2 -** Estrutura da semente de *Butia capitata*..... 60

FIGURA 3 -	Secções anatômicas do embrião de <i>Butia capitata</i> em sementes não germinadas com opérculo.....	63
FIGURA 4 -	Secções anatômicas de sementes de <i>Butia capitata</i> sem opérculo, submetidas a testes histoquímicos.....	64
FIGURA 5 -	Secções anatômicas em sementes de <i>Butiacapitata</i> com opérculo.....	65
GRÁFICO 1 -	Características de estruturas das sementes e plântulas de <i>Butia capitata</i> oriundos de: A, B, C) Sementes com opérculo D, E, F) Sementes sem opérculo A, D) Comprimentos e diâmetros das estruturas do embrião e das plântulas B, E) Teores de água dos componentes da semente e das plântulas B) com percentuais de germinação obtidos nas sementes sem opérculo C, F) Massa seca das estruturas do embrião e plântulas.....	57

LISTA DE TABELAS

- 1 - Matéria seca e presença de partes de plântulas de coquinho-azedo cultivadas *in vitro* e teste de tetrazólio, em diferentes tempos de pré-embebição em sementes recém-colhidas, Montes Claros-MG, 2012..... 38
- 2 - Desenvolvimento de plântulas de *Butia capitata* provenientes de diferentes diásporos, Montes Claros, Minas Gerais, 2012..... 43
- 3 - Ocorrência de microrganismos associados em diferentes diásporos de coquinho azedo. Montes Claros-MG, Minas Gerais, 2012..... 44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Cc -	células colapsadas
Cn -	nó cotiledonar
Cp -	pecíolo cotiledonar
DOR -	Dormente
ed -	Endosperma
em -	Embrião
ep -	Epiderme
GERM -	germinativo.
Gm -	meristema fundamental
ha -	Haustório
me -	Promeristema
ml -	camada mucilaginosa do arilo
MTA -	Morta
mz -	zona M
ot -	tegumento opercular
pa -	Parênquima
pc -	Procâmbio
pd -	Protoderme
pl -.	plúmula.
PLANOR -	plântula anormal
PLNOR -	plântula normal
PRDA –	Paralisada
rc -	Coifa
ro -	Raiz
s1 -	primeira bainha foliar
s2 -.	segunda bainha foliar.
SEMBR -	sem embrião
te -	Tegumento
va -	eixo vegetativo
vb -	feixe vascular

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
	RESUMO.....	10
	ABSTRACT.....	11
1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Identificação e Descrição do Coquinho-Azedo [Butia capitata (Mart.) Becc.]	13
1.2	Usos e Importância do Gênero Butia.....	14
1.3	Germinação e Dormência em Palmeiras.....	15
1.4	Morfologia e Anatomia de Embriões e Plântulas no Processo Germinativo.....	18
2	OBJETIVOS.....	20
	CAPÍTULO 2 - EMBEBIÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES E EMBRIÕES DE COQUINHO-AZEDO.....	21
	RESUMO.....	21
	ABSTRACT.....	22
1	INTRODUÇÃO.....	23
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1	Obtenção do Material Botânico.....	26
2.2	Caracterização da Absorção de Água por Sementes de Butia Capitata Submetidos a Diferentes Métodos e Temperaturas.....	26
2.3	Avaliação da Viabilidade de Embriões de Butia Capitata Submetidos a Diferentes Tempos de Pré-Hidratação.....	28
2.4	Germinação de Diásporos com Diferentes Tipos Escarificação.....	29
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32

3.1	Caracterização da Absorção de Água por Sementes de Butia Capitata Submetidos a Diferentes Métodos e Temperaturas.....	32
3.2	Avaliação da Viabilidade de Embriões de Butia Capitata Submetidos a Diferentes Tempos de Pré-Hidratação.....	36
3.3	Germinação de Ddiásporos com Diferentes Tipos Escarificação.....	40
4	CONCLUSÃO.....	45
	CAPÍTULO 3 - ESTRUTURA DA SEMENTE, GERMINAÇÃO E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM BUTIA CAPITATA (ARECACEAE)	46
	RESUMO.....	46
	ABSTRACT.....	47
1	INTRODUÇÃO.....	48
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	51
2.1	Obtenção do Material Botânico.....	54
2.2	Morfologia.....	51
2.3	Anatomia e Histoquímica.....	52
3	RESULTADOS.....	54
3.1	Morfologizada Semente e Biometria de Embriões e Plântulas.	54
3.2	Anatomia e Histoquímica.....	57
4	DISCUSSÃO.....	67
	REFERÊNCIAS.....	72

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

RESUMO

O coquinho-azedo (*Butia capitata*) é uma palmeira nativa do cerrado, que apresenta grande importância econômica, devido à exploração de seus frutos, bem como ao uso ornamental. Contudo, essa espécie encontra-se ameaçada pelo extrativismo predatório, fato que é agravado a dificuldade de germinação de suas sementes, limitando desta forma sua exploração comercial. Na família Arecaceae é comumente observado a baixa taxa de germinação de suas sementes, esse fator pode estar relacionado a dormência, que muitas vezes está associada a um envoltório rígido, o que dificulta a embebição e a entrada e saída de gases, como também a imaturidade do embrião. Desta forma o processo germinativo, segue um padrão trifásico de embebição de água, sendo a primeira um processo puramente físico, de entrada e saída de água na semente. A segunda, já representa a ativação do metabolismo, enquanto a terceira caracteriza a germinação ou protrusão da raiz primária. Entretanto, nem sempre o processo de retirada do endocarpo e opérculo apresentam resultados positivos a germinação, necessitando estudos mais aprofundados a fim de entender o processo germinativo, como a mobilização das reservas embrionárias e o estabelecimento de parâmetros sobre o tipo de dormência estabelecida na semente.

Palavras-chave: *Butia capitata*. Embebição. Mobilização de reservas.

CHAPTER 1 - THEORETICAL REFERENCE

ABSTRACT

Coquinho-azedo (*Butia capitata*) is a palm tree native of cerrado, which presents great economic importance due to the exploitation of its fruits, as well as its ornamental use. However, this species is threatened by predatory extractivism, a fact that is compounded due to the difficulty of germination of their seeds, thus limiting its commercial exploitation. In the family *Arecaceae* is commonly observed the low rate of germination of their seeds, this factor may be related to dormancy, which often is associated with a rigid wrap, which make difficult the imbibitions and the entry and exit of gases, as well as the immaturity of embryo. Thus, the germinative process follows a triphasic pattern of water imbibitions, being the first a purely physical process of entry and exit of water in the seed. The second already represents the activation of metabolism, while the third characterizes germination or primary root protrusion. However, not always the process of removal of the endocarp and operculum present positive results of germination, requiring further studies in order to understand the germinative process, as the mobilization of the embryonic reserves and the establishment of parameters about the type of dormancy established in the seed.

Keywords: *Butia capitata*. Imbibitions. Mobilization of reserves.

1 INTRODUÇÃO

O coquinho-azedo (*Butia capitata*) é uma palmeira nativa do cerrado, região central do Brasil (LORENZI *et al.*, 2010). A espécie é bastante explorada, uma vez que os seus frutos são intensamente utilizados na fabricação de sucos, de picolés e de sorvetes, além de possuir potencial como planta ornamental em projetos de paisagismo (LORENZI *et al.*, 2010; MERCADANTE-SIMÕES *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2010b). Entretanto a exploração comercial dessa palmeira é limitada pela dificuldade de obtenção de mudas. Essa dificuldade está associada à dormência das sementes, que impõe uma taxa de germinação inferior a 1% ao longo de um ano de plantio (LOPES *et al.*, 2011).

A dormência em palmeiras é atribuída a várias causas, mas principalmente à presença do envoltório rígido, que dificulta a embebição das sementes e a entrada e a saída de gases. O processo de retirada do endocarpo tem apresentado em alguns casos bons resultados, quando se trata de superação de dormência em sementes de palmeiras, proporcionando uma redução significativa no período germinativo (AQUINO *et al.*, 2008; FERNANDES, 2008; FERREIRA; GENTIL, 2006; MOURA, 2008). Porém, para essa espécie, os melhores resultados obtidos na germinação ocorrem com a retirada do endocarpo e do opérculo (FIOR *et al.*, 2011).

A retirada do endocarpo e opérculo é um processo lento e trabalhoso e pode gerar danos à semente e ao embrião. Além disso, pouco se sabe como a extração dessas estruturas interfere no processo de embebição da semente e do embrião, uma vez que a hidratação desses é fundamental para a germinação.

A permeabilidade da semente e as condições em que ocorre a hidratação interferem bastante na curva de embebição e, conseqüentemente, na germinação. A permeabilidade está associada à estrutura, à composição química e à umidade inicial das sementes, enquanto que as condições de embebição estão ligadas à temperatura, à umidade e à composição do substrato (BEWLEY; BLACK, 1994). Vertucci e Leopold (1983), em embriões de soja, verificaram que o aumento na temperatura eleva a velocidade de absorção de água. Já Ferreira *et al.* (2006) observaram que houve diferenças

no período de duração das fases I e III, conforme o meio utilizado (rolo de papel, papel no Gerbox e sementes submersas em água) durante a curva de absorção de água pela semente de atemoia.

Outro fator que interfere na germinação é a mobilização das reservas embrionárias, que começa normalmente durante a fase inicial de embebição das sementes (BEWLEY, 1997; NONAGAKI *et al.*, 2010). Além disso, o acesso às reservas seminíferas é determinante para o estabelecimento das plântulas, sendo o seu padrão componente da interação das espécies com o ambiente (BEWLEY; BLACK, 1994; HARTMANN *et al.*, 2002). No caso das palmeiras, o processo de mobilização de reservas é especialmente complexo, em função das sementes apresentarem endosperma rígido (GONG *et al.*, 2005) e elevados teores de óleo (ALANG *et al.*, 1988; DEMASON 1988a; MOURA *et al.*, 2010b), o que leva ao desenvolvimento de um haustório altamente especializado, a partir de um embrião diminuto (DEMASON *et al.*, 1985, 1988b; RIBEIRO *et al.*, 2012). Apesar da importância e da diversidade na família, estudos relacionados à caracterização e à mobilização de reservas em sementes em Arecaceae estão restritos a poucas espécies (ALANG *et al.*, 1988; DEMASON, 1985, 1988a, 1988b; MOURA *et al.*, 2010a; PANZA *et al.*, 2004; ROBERTO *et al.*, 2011; THOMSON, 1981).

1.1 Identificação e Descrição do Coquinho-Azedo [*Butia capitata* (Mart.) Becc.]

A palmeira *Butia capitata* (Mart.) Becc., popularmente conhecida como coquinho azedo, pertence à família Arecaceae, que apresenta cerca de 2700 espécies reunidas em mais de 240 gêneros (LORENZI *et al.*, 2010), compreendendo um grande número de espécies de importância econômica ambiental e ornamental, muito utilizadas em regiões tropicais (ALVES; DEMATTE, 1987). A partir de estudos realizados por Lorenzi *et al.* (2010) as espécies de butiás, presentes nos estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia, mantiveram a denominação de *Butia capitata*, enquanto as decorrentes em áreas de restinga do Rio Grande do Sul e Uruguai são chamadas de *Butia odorata*.

Henderson *et al.* (1995) caracterizaram a *B. capitata* como uma palmeira monoica, de estipe solitário, possuindo pecíolos com espinhos ao longo das margens, folíolos glaucos e rígidos, arranjados regularmente formando um “V”. As suas folhas são pinadas e arqueadas de coloração verde acinzentada, de folíolos lineares de ápice culminado (LORENZI *et al.*, 2010). As inflorescências são semelhantes à de outras espécies pertencentes à família Arecaceae, sendo do tipo paniculada, formada pelo pedúnculo (ráquis), espigas (ráquias) e flores amarelas, protegidas por brácteas, que se abrem naturalmente (LIMA, 2003). As flores estaminadas são amarelas, dispostas espiraladamente em tríades e principalmente em díades e solitárias, na porção distal da ráquila, com cerca de 7,5 mm de comprimento e 6 mm de largura e sépalas e pétalas valvares, com seis estames (MARCATO; PIRANI, 2006).

Fonseca (2006) destaca o fenômeno da protandria para o coquinho-azedo, contribuindo, assim, para uma polinização xenogâmica na espécie, caracterizado pela baixa ocorrência de sincronia das fenofases masculinas e femininas de uma mesma inflorescência. O fruto é do tipo drupa oval e comestível, formado por epicarpo amarelado ou avermelhado (arroxeado), mesocarpo carnoso e fibroso e endocarpo duro e denso com três poros, sendo funcional apenas a quantidade de poros semelhantes à quantidade de sementes. Cada fruto pode conter de uma a três sementes (MARTINS, 2003; REITZ, 1974; SILVA, 1998).

Os frutos de *B. capitata* são climatérios, com picos de produção de etileno e de respiração, seguidos por mudanças físicas e químicas, como a evolução da cor, redução da firmeza de polpa e da acidez total titulável, que caracterizam o processo de maturação (NEUWALD *et al.*, 2004).

1.2 Usos e Importância do Gênero *Butia*

As palmeiras do gênero *Butia* apresentam diversas possibilidades de usos, possuindo, assim, grande procura. Os frutos são utilizados na fabricação de geleia, de doces, de licores, de cachaça, de óleo; as fibras, no artesanato, forragem de animais (considerado estimulante da secreção láctea

das vacas) e enchimento de colchões, que se tornou uma atividade industrial com auge na década de 1950, pelo mel ou vinho de palma, que é a seiva retirada do tronco ou da inflorescência, utilizada tradicionalmente como medicinal na cura de problemas respiratórios (ROSSATO; BARBIERI, 2007).

O mesocarpo dos frutos (polpa) é rico em fibras, em vitamina A (betacaroteno) e em C (ácido ascórbico), sendo utilizado para o consumo *in natura* ou processado na forma de sucos, de sorvetes e de picolés, enquanto as sementes (amêndoas) são utilizadas para a fabricação de óleo comestível (MARTINS, 2003). Conforme Moura (2008), as sementes do coquinho-azedo também podem ser utilizadas para substituição do amendoim, na composição da canjica.

De acordo com Sodré (2005), essa palmeira tem importância no emprego ornamental, devido à beleza característica da planta, sendo também utilizado no reflorestamento e em programas de reintrodução da fauna pelo *B. capitata* var *odorata*, conforme Rosa *et al.* (1998).

Silva (2008), em trabalho realizado em duas comunidades presentes no norte de Minas Gerais, verificou que o extrativismo do coquinho-azedo é uma fonte alternativa importante de renda para as populações rurais. Os preços variam em função da época e do mercado explorado, havendo atualmente cooperativas especializadas na compra da polpa desses frutos, além da possibilidade de vendas das polpas congeladas, de frutos *in natura* e da chamada “bala” (endocarpo sem a polpa, com sementes) em feiras.

1.3 Germinação e Dormência em Palmeiras

Segundo Bewley e Black (1994), a germinação de uma semente inicia-se com a embebição de água e finaliza-se com o alongamento do eixo embrionário, ou protusão da radícula. Contudo há um complexo processo envolvendo o metabolismo dessa semente durante esse período e, apesar de haver diversos estudos que envolvam a germinação, muito ainda necessita ser descoberto.

A água é um fator fundamental no processo de germinação, pois é responsável pela reidratação dos tecidos, com a consequente intensificação

da respiração e de todas as outras atividades metabólicas que culminam com o fornecimento de energia e nutrientes necessários à retomada do crescimento, por parte do eixo embrionário. Além disso, a absorção de água desempenha outros papéis que contribuem para o sucesso da germinação, como o aumento do volume da semente, provocando o rompimento da estrutura de revestimento, o que facilita a subsequente emergência da plântula (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; BRADFORD, 1995; GALLARDO *et al.*, 2001; PEREIRA *et al.*, 2007).

Bewley e Black (1994) descrevem a germinação em um modelo trifásico de absorção de água. A primeira fase apresenta rápida absorção de água, sendo um processo puramente físico. Essa fase chega ao final, quando o conteúdo de água da semente, em geral, alcança um nível de platô, mantido relativamente constante ou aumenta pouco e muito lentamente, por um período conhecido como intervalo ou fase de preparação e ativação do metabolismo, ou apenas fase II da embebição. Nesse momento, as células no interior das sementes não absorvem água ou absorvem em quantidade muito pequena, em função de que essas não podem mais expandir. Porém, quando se retira o embrião da semente, esse continua a beber, indicando que os tecidos que o envolvem limitam a sua expansão (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Nesse sentido a retirada do opérculo da semente sem endocarpo (escarificação) do coquinho-azedo pode contribuir para uma melhor embebição do embrião, reduzindo o tempo da fase II e proporcionando uma germinação mais rápida e uniforme.

Na fase II, são ativados os processos metabólicos requeridos para o crescimento do embrião e a conclusão do processo germinativo. É nessa fase que ocorre o início da degradação das reservas e quando as estruturas circunvizinhas do embrião são enfraquecidas e/ou afrouxadas, por meio do processo de degradação enzimático. A duração dessa fase depende principalmente da temperatura, mas também do potencial hídrico da semente, sendo que esses mais baixos (potencial hídrico pouco negativo) estendem-na. Da mesma maneira, quando as sementes estão dormentes, a duração da fase II pode ser consideravelmente prolongada, uma vez que os processos metabólicos não são ativados ou ativados muito lentamente

(FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Então, em sementes dormentes, é muito interessante determinar o início da fase II, pois, nesse ponto, a aplicação de reguladores de crescimento, ácido giberélico, é mais eficiente, proporcionando uma maior ativação dos processos metabólicos. É importante lembrar que o ácido giberélico é um ativador enzimático de destaque e que a sua aplicação exógena pode dobrar a síntese proteica em sementes (ALVARENGA, 2004). Nas fases I e II, observa-se que há tolerância à dessecação, o que define o processo germinativo (*stricto sensu*) (BEWLEY, 1997; BEWLEY; BLACK, 1994; BRADFORD, 1990; GALLARDO *et al.*, 2001).

Já a fase III é conhecida como uma fase de germinação pós-absorção de água, que é determinado pela protrusão da raiz primária, com um expressivo aumento da umidade das sementes, sendo que somente as viáveis pode alcançar essa fase (BEWLEY; BLACK, 1994, MANZ *et al.*, 2005, PEREIRA *et al.*, 2007). Uma vez iniciado o crescimento, as sementes perdem rapidamente a sua tolerância à desidratação, geralmente marcam um “ponto sem retorno” para a semente, que se encontra comprometida com a germinação e com o desenvolvimento da plântula (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

A dormência em sementes de palmeiras é observada frequentemente, sendo considerada um dos principais fatores que impedem a germinação dessas espécies. Muitas vezes, está atribuída à estrutura morfológica e à imaturidade de seu embrião.

O conceito de dormência é que a semente não germina por um período, mesmo com um conjunto de condições físicas e ambientais propícias a tal processo (BASKIN; BASKIN, 2004). No entanto definições de dormência são complexas, pois não há como quantificar a intensidade da dormência, sendo apenas mensuradas pelo fenômeno da germinação como não dormentes e pela ausência da germinação como o máximo de dormência (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Baskin e Baskin (2004) propuseram um sistema de classificação, incluindo cinco classes: fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física e a combinação física e fisiológica. Apesar da escassez de estudos sobre o tema, a dormência é considerada a principal causa da baixa germinabilidade

em diversas palmeiras (BROSCHAT; DONSELMAN, 1987) e têm sido relacionada à estrutura peculiar dos diásporos, os quais podem possuir endocarpo pétreo, sementes com endosperma rígido e embrião imaturo no momento da dispersão (BASKIN; BASKIN, 1998; GONG *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2002; OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003). Por outro lado, estudos recentes demonstraram que a dormência em *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart. (RIBEIRO *et al.*, 2011b), *B. odorata* (FIOR *et al.*, 2011) e *B. capitata* (FIOR *et al.* 2011, MAGALHÃES *et al.* 2013), é do tipo fisiológica não profunda (BASKIN; BASKIN, 2004), relacionada à dificuldade do embrião em superar as limitações ao crescimento impostas pelos tecidos adjacentes. Apesar de estudos envolvendo a descrição da estrutura do embrião e do processo germinativo em *B. capitata* (MAGALHÃES *et al.*, 2013) e em outras palmeiras (DEMASON, 1988a; DEMASON; THOMSON, 1981; PANZA *et al.*, 2004, RIBEIRO *et al.*, 2012) não existem estudos que detalhem a estrutura dos tecidos envolvidos na dormência fisiológica na família.

1.4 Morfologia e Anatomia de Embriões e Plântulas no Processo Germinativo

Os diásporos de *B. capitata* apresentam características importantes e afetam, diretamente, a germinação e seguem os mesmos padrões morfológicos observados em outras palmeiras (LORENZI *et al.*, 2010), com endocarpo grande e fusiforme, que não se separa facilmente da semente (OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003). No entanto, as sementes dessa espécie possuem pequenos embriões, quando comparados ao seu tamanho, além de conterem grande quantidade de endosperma envolvendo-os, podendo, assim, ser classificados como lineares, por representarem menos de 1% do volume da semente.

A germinação em *B. capitata* está relacionada, principalmente, a duas porções distintas: região de transição entre o pecíolo e o haustório e região "M". Ribeiro *et al.* (2011a), cultivando *A. aculeata* *in vitro*, observaram crescimento celular na região de transição, enquanto Demason e Thomson (1981) e Magalhães (2011) notaram haver divisão meristemática e provável

alongamento das células do parênquima localizadas na região “M”, favorecendo a protrusão do pecíolo cotiledonar em *P. dactylifera* e *B. capitata*, respectivamente.

Anteriormente foi relatado para palmeiras a presença de abundantes reservas lipídicas, amiláceas e proteicas nas regiões do endosperma e embrião. Panza *et al.* (2009) observaram haver grande quantidade de amido na forma de carboidratos em *E. edulis*, espalhada por toda a região do haustório. Já as reservas lipídicas foram notadas na forma de corpos lipídicos na espécie *A. aculeata* por Ribeiro *et al.* (2011a). Com relação às reservas proteicas, foram notadas em *P. dactylifera* e *E. edulis* por Demason (1985), enquanto em *A. aculeata*, percebe-se a presença de inclusões cristaloides (MOURA *et al.*, 2010a).

2 OBJETIVOS

Caracterizar a curva de absorção de água em sementes submetidas a diferentes formas de embebição e temperaturas, avaliando a germinação e a viabilidade de embriões cultivados *in vitro* e a eficiência de distintos métodos de escarificação de sementes sobre a germinação do coquinho-azedo.

Caracterizar a estrutura da semente de *Butia capitata*, avaliando o papel dos componentes da semente no controle da germinação, o padrão do crescimento das plântulas e o padrão da mobilização de reservas na semente.

CAPÍTULO 2 - EMBEBIÇÃO E GERMINAÇÃO DE SEMENTES E EMBRIÕES DE COQUINHO-AZEDO

RESUMO

O coquinho-azedo, *Butia capitata* (Mart.) Becc., é uma palmeira encontrada na região central do Brasil, apresentando grande importância econômica, tanto para aproveitamento e extração de polpa de seus frutos, como para o uso ornamental. Contudo as suas sementes apresentam dormência, fator que limita a produção de mudas em escala comercial. Dessa forma, objetivou-se com a presente pesquisa, caracterizar a curva de absorção de água das sementes, avaliar o desenvolvimento de embriões *in vitro* em pré-hidratação e a sua viabilidade pelo teste de tetrazólio. Além disso, estudou-se o efeito das estruturas que envolvem a semente, como o opérculo, sobre os diferentes diásporos. Verificou-se que tanto em sementes vivas quanto em mortas as primeiras fases de embebição seguem o mesmo padrão, independente do método e da temperatura utilizados. A pré-embebição favorece o desenvolvimento dos embriões cultivados *in vitro* e o teste de viabilidade, por meio do tetrazólio, pode ser utilizado para embriões de coquinho azedo. A germinação é favorecida pela retirada do opérculo nos diferentes diásporos.

Palavras-chave: *Butia capitata*. Absorção de água. Tegumento opercular. Germinação. Diásporos.

CHAPTER 2 - IMBIBITIONS AND GERMINATION OF SEEDS AND EMBRYOS OF COQUINHO AZEDO

ABSTRACT

Coquinho-azedo, *Butia capitata* (Mart.) Becc., is a palm tree found in central Brazil, presenting great economic importance, both for use and extraction of pulp of its fruit as for ornamental use. However, their seeds present dormancy, factor that limits seedling production on a commercial scale. Thus, the aim of the present study, to characterize the curve of water uptake of seeds, to evaluate the development of embryos in vitro in pre-hydration and their viability by test of the tetrazolium test. In addition, we studied the effect of the structures that involve the seed, as the operculum, about the different diaspores. It was found that both in live seeds as killed the first stages of imbibitions follow the same pattern, regardless of the method and temperature used. The pre-imbibitions favors the development of embryos cultured in vitro and the viability test, through the tetrazolium, can be used for embryos of coquinho-azedo. Germination is favored by the removal of the operculum in the different diaspores.

Keywords: *Butia capitata*. Water absorption. Opercular integument. Germination. Diaspores.

1 INTRODUÇÃO

O coquinho-azedo, *Butia capitata* (Mart.) Becc., é uma palmeira nativa do cerrado, região central do Brasil (LORENZI *et al.*, 2010). A espécie é bastante explorada, uma vez que os seus frutos são intensamente utilizados na fabricação de sucos, de picolés e de sorvetes, além de possuir potencial como planta ornamental (LORENZI *et al.*, 2010; MERCADANTE-SIMÕES *et al.*, 2006; MOURA *et al.*, 2010b). Entretanto a sua exploração comercial é limitada, pela dificuldade de obtenção de mudas, em função da dormência de suas sementes, que impõem uma taxa de germinação inferior a 1% ao longo de um ano de plantio (LOPES *et al.*, 2011).

A dormência em sementes de *B. capitata* tem sido atribuída principalmente à presença do endocarpo (BROSCHAT, 1998), que pode dificultar a embebição das sementes e a penetração dos gases (BASKIN; BASKIN, 2004). Apesar disso, mesmo com a retirada dessa estrutura, nem sempre a taxa de germinação alcançada é suficiente para a obtenção de mudas em larga escala (LOPES *et al.*, 2011). Recentemente, Fior *et al.* (2011) demonstraram que, além da retirada do endocarpo, é necessário também extrair o opérculo, estrutura que contempla o tegumento que envolve o endosperma micropilar, revestindo externamente o embrião, para realmente superar a dormência em coquinho-azedo e obter-se uma germinação com uma taxa próxima a 90%. Entretanto a retirada do endocarpo e opérculo é um processo lento e trabalhoso e pode gerar danos à semente e ao embrião. Além disso, pouco se sabe como a extração dessas estruturas interfere no processo de embebição da semente e do embrião, uma vez que a hidratação desses é fundamental para a germinação. Nesse sentido, torna-se importante testar outros métodos de superação de dormência no coquinho-azedo e conhecer a cinética de embebição da semente e do embrião de *B. capitata*.

A água é um fator essencial no processo de germinação, pois é responsável pela reidratação dos tecidos com a consequente intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, culminando com o fornecimento de energia e nutrientes necessários à retomada do crescimento, por parte do eixo embrionário. A absorção de água durante a embebição de

sementes segue um padrão trifásico. A fase I representa uma rápida absorção de água, sendo um processo puramente físico, chegando ao final quando o conteúdo de água da semente, em geral, alcança um nível de platô. Na fase II, o nível de absorção é mantido relativamente constante ou aumenta pouco e muito lentamente, por um período conhecido como intervalo ou fase de preparação e ativação do metabolismo. Já a fase III é conhecida como uma fase de germinação pós-absorção de água, que é determinada pela protrusão da raiz, com um expressivo aumento da umidade das sementes, sendo que somente as que se apresentam viáveis podem alcançar essa fase (BEWLEY; BLACK, 1994).

Os conhecimentos sobre as três fases de embebição são fundamentais para o entendimento do processo de germinação, pois permitem verificar o nível de influência do envoltório sobre a hidratação da semente, estudar a dormência física (BEWLEY; BLACK, 1994; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006), determinar a época e a duração de tratamentos com reguladores de crescimento (BEWLEY, 1997; JIMENEZ *et al.*, 2008; ROBERTO; HABERMAAN, 2010), estabelecer parâmetros para o condicionamento osmótico (VARGAS; FERRAZ, 2008) e para pré-hidratação (ANASTÁCIO; SANTANA, 2010; PÉREZ; BASKIN, 2008).

A permeabilidade da semente e as condições em que ocorre a hidratação interferem bastante na curva de embebição e, conseqüentemente, na germinação. A permeabilidade está associada à estrutura, à composição química e à umidade inicial das sementes, enquanto que as condições de embebição estão ligadas à temperatura, à umidade e à composição do substrato (BEWLEY; BLACK, 1994). Vertucci e Leopold (1983), em embriões de soja, verificaram que o aumento na temperatura eleva a velocidade de absorção de água. Já Ferreira *et al.* (2006) observaram que houve diferenças no período de duração das fases I e III, conforme o meio utilizado (rolo de papel, papel no Gerbox e sementes submersas em água) durante a curva de absorção de água pela semente de atemoia.

O cultivo *in vitro* de embriões também é outro tipo que auxilia o entendimento do processo germinativo e do desenvolvimento de plântulas (HU; FERREIRA, 1998; TZEC-SIMA *et al.*, 2006), além de se constituir em

uma alternativa para a propagação de espécies que apresentam dormência com as limitações impostas pelos envoltórios (GARCIA *et al.*, 2002; TZEC-SIMA *et al.*, 2006), como é o caso do coquinho-azedo. Por meio do cultivo *in vitro*, também é possível testar a viabilidade de embriões, por meio de testes rápidos. Em semente de *B. capitata*, o teste padrão de germinação é muito longo e inviável de ser aplicado. Em alguns trabalhos com palmeiras, como em macaúba (*Acrocomia aculeata*), Butiá-da-Serra (*Butia eriostatha*) e Buriti (*Mauritia flexuosa*), o cultivo *in vitro* possibilitou avaliar a viabilidade de embriões de sementes sob diferentes condições, validar o teste do tetrazólio e concluir sobre a classificação da semente quanto à tolerância à dessecação (RIBEIRO *et al.*, 2010; SPERA *et al.*, 2001).

Outros métodos menos laboriosos e que não geram riscos para a semente e o embrião podem também ser utilizados para superar a dormência de coquinho-azedo. A escarificação das fibras endocárpicas e do opérculo sem extração do endocarpo pode ser uma alternativa importante, uma vez que a quebra do endocarpo invariavelmente gera danos à semente. Além disso, somente retirada do poro germinativo já aumenta a germinação (LOPES *et al.*, 2011) e quando associada à extração do opérculo pode ainda elevar mais a taxa de protrusão da raiz.

Portanto, o objetivo da presente pesquisa foi caracterizar a curva de absorção de água em sementes submetidas a diferentes formas de embebição e temperaturas, bem como avaliar a embebição, a germinação e a viabilidade de embriões cultivados *in vitro* e a eficiência de distintos métodos de escarificação de sementes sobre a germinação do coquinho-azedo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do Material Botânico

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratório de Propagação de Plantas (LAP) da Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias (ICA) e Laboratório de Micropropagação (LAM) da Universidade Estadual de Montes Claros (UNIMONTES).

Os frutos de *B. capitata* foram coletados de uma área de ocorrência natural da espécie, localizada em fitofisionomia de cerrado *sensu stricto*, no município de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil e pomar experimental localizado no Instituto de Ciências Agrárias (ICA), da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. Retiraram-se os frutos de cachos sadios que apresentavam estágio de maturação completo, isto é, com o exocarpo completamente amarelo. As sementes foram obtidas após a despolpa manual e a quebra do endocarpo com o auxílio de um grampo tipo C de 3”.

Inicialmente, antes da instalação dos experimentos, determinou-se o grau de umidade inicial dos lotes de sementes pelo método de estufa a 105°C, durante 24 horas, conforme Brasil (2009). O grau de umidade foi obtido por meio das médias de quatro repetições de 25 sementes e, expresso em porcentagem de massa de água da matéria fresca da semente.

Foram montados experimentos, com o intuito de avaliar a curva de embebição de água em sementes vivas e mortas, a germinação em embriões cultivados *in vitro* e a germinação em diásporos submetidos a diferentes métodos de escarificação.

2.2 Caracterização da Absorção de Água por Sementes de *Butia Capitata* Submetidos a Diferentes Métodos e Temperaturas

As sementes utilizadas neste experimento possuíam um grau de umidade de 7% e embriões considerados de boa viabilidade, realizado por meio do teste tetrazólio, segundo metodologia de Ribeiro *et al.* (2010b).

Foram montados dois experimentos de embebição: um, com sementes vivas e outro, com mortas (sementes autoclavadas por um período de 20 minutos, com temperatura a 121°C e pressão constante). Adotaram-se os delineamentos em DIC (delineamento inteiramente casualizado) em esquema fatorial 2 (métodos de embebição) x 2 (temperaturas) + 3 tratamentos adicionais, quatro repetições e 25 sementes por parcela. Utilizou-se o mesmo delineamento, tratamento, repetições e número de sementes por parcela em ambos os experimentos.

Os tratamentos foram constituídos por dois métodos de embebição, semelhantes aos descritos por Ferreira *et al.* (2006): 1) sementes embebidas em béquer contendo 200 mL de água destilada sob aeração; 2) sementes envoltas por papel Germitest umedecido com água destilada, cuja quantidade de água foi estabelecida em 2,5 vezes o peso do papel (BRASIL, 2009). Todas as parcelas descritas acima foram acondicionadas em duas câmaras de germinação (BOD), na ausência de fotoperíodo e reguladas à temperatura constante de 30 e 40°C.

Os tratamentos adicionais foram: 1) sementes envoltas por vermiculita umedecida, a 60% do fator de retenção de água, deixadas sob condições de ambiente de laboratório (temperatura máxima 31,04°C e mínima 24,5°C) e plantadas em bandejas de isopor; 2) sementes envoltas por vermiculita sob estufa (temperatura máxima 34,8°C e mínima 30°C) e plantadas em bandejas de isopor e 3) sementes envoltas por areia média umedecida a 60% do fator de retenção de água, sem opérculo, acondicionadas em BOD a 25°C e plantadas em caixas de polietileno, tipo Gerbox, conforme metodologia de Fior *et al.* (2011).

A curva de embebição foi caracterizada por meio da pesagem de quatro repetições de 25 sementes de cada tratamento, após intervalos de tempo pré-determinados: 1º dia - a cada três horas; 2º dia - a cada seis horas; 3º dia - a cada 12 horas; 4º ao 12º dia - a cada 24 horas e 12º até o 73º dia - a cada 48 horas. Em cada tempo, as sementes foram secadas superficialmente com papel de filtro, pesadas, contadas as que germinaram (por meio da protrusão do pecíolo cotiledonar) e retiradas do experimento as que apresentavam mais de 50% de sua área deteriorada. A partir daí, foram

contabilizadas as que estavam viáveis, sendo em seguida colocadas novamente no germinador, segundo método descrito por Baskin e Baskin (2001).

2.3 Avaliação da Viabilidade de Embriões de *Butia Capitata* Submetidos a Diferentes Tempos de Pré-Hidratação

Os tratamentos foram constituídos pelos tempos (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 horas) de pré-umidificação dos embriões em água destilada, com cinco repetições e 10 embriões por parcela. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado (DIC).

As sementes isoladas de *B. capitata* foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 6% por 15 minutos, seguido de três lavagens em água destilada. Posteriormente, essas foram levadas em câmara de fluxo laminar, onde se extraíram os embriões com o auxílio de um estilete, colocando-os em uma solução de 100 ppm de ácido ascórbico. Em seguida, os embriões foram colocados em béqueres com capacidade para 50 mL, contendo água destilada para a realização da pré-hidratação, conforme cada tratamento. Após cada tempo de pré-condicionamento em água, efetuou-se a desinfestação dos mesmos em solução de hipoclorito de sódio 0,5% por 10 minutos, seguido de tríplice lavagem em água destilada autoclavada e inoculados em tubos de ensaio 12 x 1 cm de dimensões contendo 2 mL de meio autoclavado a 121° C por 20 min composto por: sais MS a 75% de concentração (RIBEIRO *et al.*, 2010a); 30 g L⁻¹ de sacarose; 0,5 g L⁻¹ de caseína; 0,1 g L⁻¹ de mio-inositol; 3 g L⁻¹ de carvão ativado; 6 g L⁻¹ de Ágar; 0,5 mg L⁻¹ de tiamina; 1 mg L⁻¹ de piridoxina e 0,5 mg L⁻¹ de ácido nicotínico, pH ajustado para 5,7 (RIBEIRO *et al.*, 2011c).

Após 30 dias de cultivo, avaliaram-se as seguintes características: ocorrência de oxidação e contaminação, além dos aspectos relacionados ao desenvolvimento das plântulas, como: alongamento do pecíolo cotiledonar, emissão da primeira e segunda bainha foliar e eófilo, emissão da raiz primária e secundária.

De forma complementar, mais embriões foram extraídos, utilizando-se

os mesmos procedimentos descritos anteriormente. Determinaram-se a massa seca e teor de umidade e o teste de tetrazólio, empregando-se cinco repetições com 10 embriões por parcela. Após cada tempo de embebição (tratamentos), foram destinados à mensuração de massa seca e teor de umidade, realizada pelo método de estufa a 105°C por 24 horas, e os outros destinados ao teste tetrazólio.

Os embriões destinados ao teste de tetrazólio foram submersos em tubos de ensaio com as mesmas capacidades relatadas para o meio de cultura, contendo solução de 0,5% de 2,3,5 trifenil-cloreto de tetrazólio, com pH 7,1, e deixados por quatro horas, na ausência de luz, à temperatura de 35°C em câmara de germinação. Após esse período, efetuou-se a lavagem dos mesmos em água destilada e avaliou-se sob esteriomicroscópio, classificando-os quanto à viabilidade, em função da intensidade de coloração das estruturas dos embriões, conforme descrito por Ribeiro (2010).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, após a transformação dos dados em porcentagem (%), segundo Arco Seno da Raiz Quadrada de $X/100$, onde X representava o valor percentual obtido para cada variável. As médias foram ajustadas à regressão polinomial, quando necessário. Antes da realização da ANOVA, os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Lilliefors) e de homogeneidade (Cochran). Para comparação dos resultados de cada tratamento do teste de tetrazólio, em relação aos da cultura *in vitro* dos embriões (alongamento do pecíolo cotiledonar), utilizou-se o teste qui-quadrado a 5% de probabilidade.

2.4 Germinação de Diásporos com Diferentes Tipos Escarificação

A umidade inicial das sementes avaliadas encontrava-se em torno de 7% e o teste de tetrazólio do mesmo lote classificou os embriões como viáveis, conforme metodologia descrita por Ribeiro (2010).

O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos: sementes com endocarpo, sementes com endocarpo e escarificação do poro germinativo, sementes com endocarpo e poro germinativo escarificado e sem opérculo, sementes sem

endocarpo, sementes sem endocarpo e sem opérculo. Adotaram-se quatro repetições de 25 sementes por parcela.

A desinfestação ocorreu conforme descrito por Fior *et al.* (2011), em imersão por um minuto em etanol 70%, seguida de 20 minutos em hipoclorito de sódio a 2% de i.a. e, posteriormente, efetuada a tríplice lavagem em água destilada esterilizada.

Após a desinfestação, utilizou-se uma faca para a escarificação do poro germinativo e lâmina de barbear para a retirada do opérculo em sementes sem endocarpo e agulha para a retirada do opérculo em diásporos que continham o endocarpo. Com o auxílio de um estereomicroscópio XTL-101 e imediatamente após a aplicação do tratamento, os diásporos foram plantados em caixas de polietileno, tipo gerbox (esterilizadas em etanol 70% por 1 minuto e em hipoclorito de sódio a 2% de i.a.), preenchidas com 150 mL de areia média, pré-umedecida com água destilada a 60% da capacidade de retenção de água (BRASIL, 2009).

Em seguida ao plantio, as caixas gerbox contendo os diásporos foram levadas para BOD tipo Eletrolab modelo EL202, com temperatura constante de 25°C e intensidade luminosa constante. As avaliações ocorreram diariamente, até o 30º dia após o plantio, sendo considerado o número de sementes germinadas, utilizando-se como critério a protrusão de pelo menos 2 mm do pecíolo cotiledonar (FIOR *et al.*, 2011).

Ao final do experimento, foram calculados o percentual de sementes germinadas, de plântulas formadas, de plântulas normais e o índice de velocidade de germinação. A massa seca (raiz, bainha, haustório, pecíolo e endosperma) foi determinada em estufa a 105°C, durante 24 horas. Além disso, foram contabilizados e identificados os patógenos presentes nas sementes. Identificaram-se também as sementes que não apresentaram embriões, as que se encontravam em estado de dormência, estabelecendo-se viabilidade dessas por meio do teste de tetrazólio aplicado ao embrião e analisados os resultados, conforme descrito por Ribeiro (2010).

Os dados obtidos ao longo do experimento foram submetidos à análise de variância, após a transformação dos dados em porcentagem (%) segundo Arco Seno da Raiz Quadrada de $X/100$, onde X representava o valor

percentual obtido para cada variável. As médias foram comparadas pelo teste de tukey a 5% de probabilidade. Antes da realização da ANOVA, os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Lilliefors) e de homogeneidade (Cochran).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização da Absorção de Água por Sementes de *Butia Capitata* Submetidos a Diferentes Métodos e Temperaturas

As curvas de embebição de sementes vivas são apresentadas nas GRÁF. 1 A, B, C, enquanto as das sementes mortas estão na GRÁF. 2A, B, C. O tempo de duração da fase I das sementes vivas a 30°C (GRÁF. 1 A) foi de aproximadamente 72 horas em água e 96 horas em papel, porém a 40°C essa fase apresentou-se mais curta, tendo duração de 42 horas em água e 30 horas em papel. Já em sementes mortas (GRÁF. 2A, B), o término da fase I ocorreu no mesmo tempo 48 horas, para todos os métodos e temperaturas utilizados. Para os tratamentos adicionais, a fase I estendeu-se por 72 horas para sementes vivas (GRÁF. 1C) e 42 horas para sementes mortas (GRÁF. 2C).

No coquinho-azedo, a fase I pode ser considerada longa, uma vez que, de forma geral, em outras espécies, esse estágio é rápido, com uma duração entre uma a duas horas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2008). Um dos fatores mais importantes na determinação da taxa de embebição de água é a permeabilidade da semente (BEWLEY; BLACK, 1994). No caso da *B. capitata*, essa permeabilidade é menor, em função do elevado teor de lipídio do seu endosperma (FARIA *et al.*, 2008), que retarda a absorção de água.

Outros fatores que interferem na duração das fases de embebição são as condições durante a hidratação, como a temperatura, a umidade e a composição do substrato (BEWLEY; BLACK, 1994). Na temperatura de 40°C, a fase I foi mais curta para todos os métodos, concordando com Vertucci e Leopold (1983), que identificaram em embriões de soja um aumento na velocidade de absorção de água, em função do aumento da temperatura. Nesta pesquisa, também observou-se que houve variação no tempo da fase I relacionada ao método de embebição. Esse fato foi verificado por Ferreira *et al.* (2006), em sementes de atemoia, com o tempo de duração da fase I de 27, 34 e 47 horas para os métodos, respectivamente, teste padrão de

germinação, papel embebido em água e sementes submersas em água. Entretanto Bewley e Black (1994) alertam que a taxa de embebição não é necessariamente afetada por esses fatores de maneira previsível, mas fruto de uma complexa interação entre eles.

A fase II foi caracterizada pela absorção de água em baixo nível e relativamente constante, porém o ponto de transição para a fase III não foi detectado. A mudança entre essas fases se dá com um expressivo aumento da umidade das sementes e com a protrusão da radícula (BEWLEY; BLACK, 1994), o que não ocorreu na maioria dos tratamentos.

Por outro lado, em dois tratamentos, observou-se a germinação, porém em níveis muito baixos, duas sementes, quando se utilizou método do papel, submetido em BOD a 30°C (GRÁF. 1A) e uma em condição ambiente (GRÁF. 1C). Somente no tratamento que retirava o opérculo, obteve-se uma germinação significativa, em torno de 76%, semelhante aos resultados observados por Fior *et al.* (2011) (GRÁF. 1C). Entretanto, na curva de embebição da semente sem o opérculo não se verificou a fase III.

Na literatura, diversos trabalhos relatam que temperaturas mais elevadas, aliadas ao processo de hidratação, contribuem para a germinação de sementes de palmeiras (COSTA; MARCHI, 2008; MEEROW, 2004; OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003). Entretanto, esse não parece ser o caso do coquinho-azedo, pois mesmo utilizando altas temperaturas, em torno de 40°C, não se obteve germinação. Ao contrário, com a retirada do opérculo a 25°C, a germinação alcançou níveis aceitáveis, indicando que essa estrutura é que impede o crescimento do embrião e a protrusão da radícula, corroborando assim com Fior *et al.* (2011), os quais admitem que temperaturas elevadas não são determinantes para a quebra de dormência em *B. capitata*.

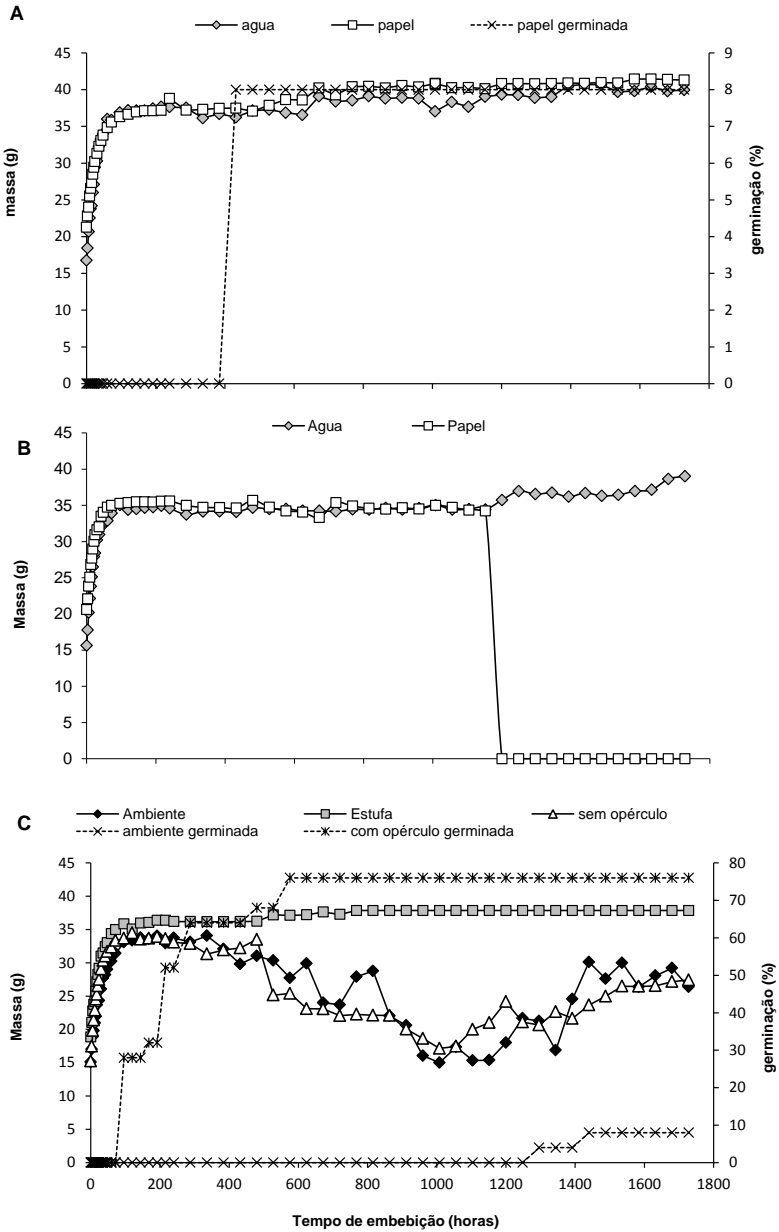


GRÁFICO 1 - Incremento de massa (g) germinação (%) durante o período de embebição (horas) em sementes vivas de coquinho azedo (*Butiacapitata*), Montes Claros, 2012. (A) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 30°C. (B) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 40°C. (C) Sementes submetidas aos tratamentos adicionais: ambiente, estufa e sem opérculo a 25°C.

Fonte: Da autora.

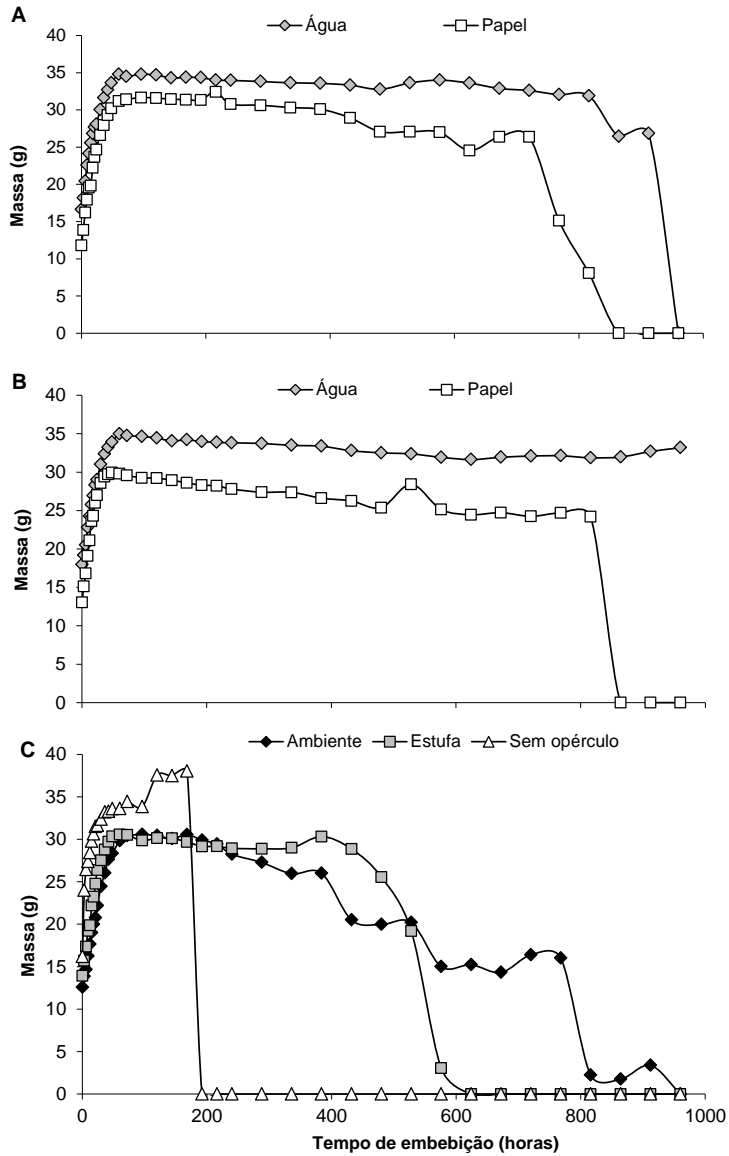


GRÁFICO 2 - Incremento de massa (g) durante o período de embebição (horas) em sementes mortas de coquinho azedo (*Butiacapitata*), Montes Claros, 2012. (A) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 30°C. (B) Sementes submetidas a dois métodos de embebição: água e papel, com temperatura a 40°C. (C) Sementes submetidas aos tratamentos adicionais: ambiente, estufa e sem opérculo a 25°C

Fonte: Da autora.

3.2 Avaliação da Viabilidade de Embriões de *Butia Capitata* Submetidos a Diferentes Tempos de Pré-Hidratação

Somente as características matéria seca da bainha e pecíolo cotiledonar e presença da bainha secundária e das raízes primárias foram significativamente ($p < 0,05$) influenciadas pelos períodos de pré-embebição, evidenciando que, quanto mais embebido o embrião, maiores os resultados obtidos para as características citadas acima (GRÁF. 3A, B, C, D). O pré-condicionamento da semente permite que sejam ativados inúmeros eventos do processo germinativo (respiração e acúmulo de ATP, reparo do DNA, síntese de mRNA, proteínas e DNA, ativação de polissomos, etc.), favorecendo a velocidade e a uniformidade de germinação e em alguns casos, aumentando a germinação, principalmente sob condições adversas (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2008; NASCIMENTO, 2004). No caso do coquinho-azedo, maiores tempos de pré-hidratação dos embriões podem ter levado a uma maior ativação metabólica desses, proporcionando o surgimento antecipado da bainha secundária e das raízes primárias, além de uma maior massa nas bainhas e no pecíolo cotiledonar. Nesse sentido, Pinedo e Ferraz (2008) demonstraram que o tempo de formação de partes de plântulas normais é reduzido significativamente pelo hidrocondicionamento das sementes de *Parkia pendula* (visgueiro).

Todos os embriões cultivados *in vitro* apresentaram alongamento do pecíolo cotiledonar e bainha primária, independente do tempo de pré-hidratação, enquanto a presença do eófilo e da raiz secundária quase não foi detectada. A viabilidade dos embriões manteve-se elevada em todos os períodos de embebição (TAB. 1).

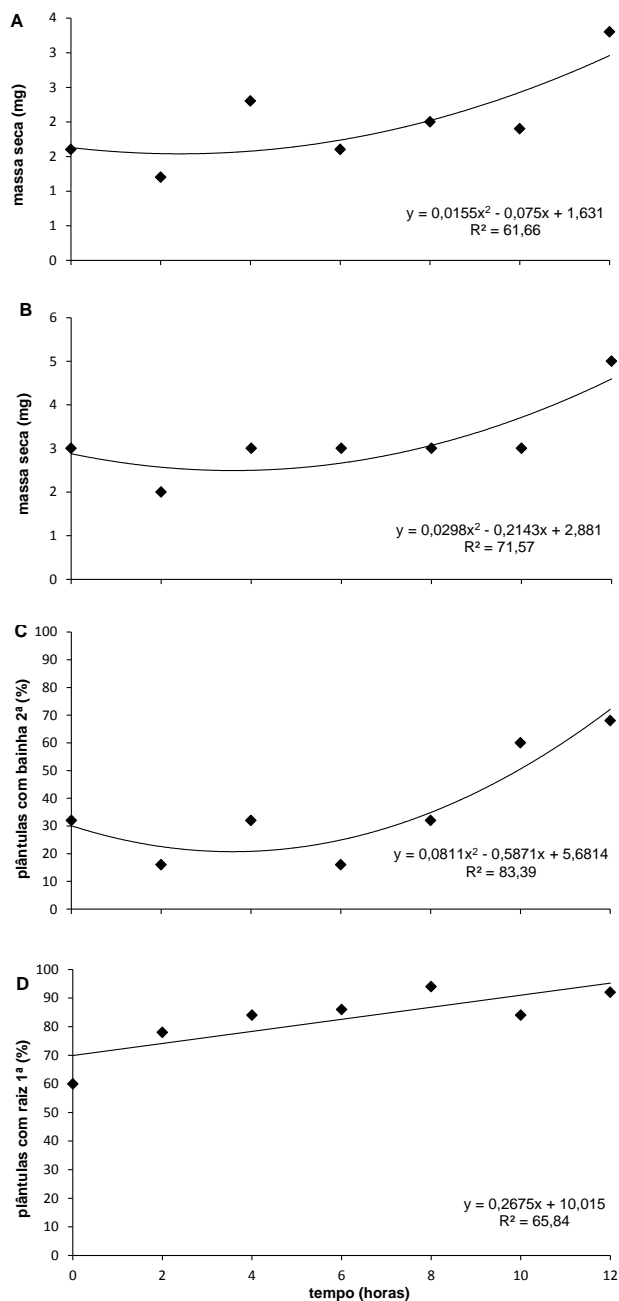


GRÁFICO 3 - Efeito do período de embebição sobre a formação de plântulas de *B. capitata* em sementes recém-colhidas. (A) Massa seca da bainha; (B) Massa seca do pecíolo; (C) Desenvolvimento da bainha secundária; (D) Desenvolvimento da raiz primária.

Fonte: Da autora.

TABELA 1

Matéria seca e presença de partes de plântulas de coquinho-azedo cultivadas *in vitro* e teste de tetrazólio, em diferentes tempos de pré-embebição em sementes recém-colhidas, Montes Claros-MG, 2012

Sementes Jovens							
Embebição (horas)⁻¹	Matéria seca (mg)		Cultura embriões (%)				Tetrazólio (%)
	Haustório	Raiz	Alongamento	Bainha 1^a	eófilo	Raiz 2^a	Viabilidade
0	1,0	1,0	96	70	0	0	100
2	0,3	1,0	98	80	4	2	100
4	0,4	1,0	98	88	4	2	100
6	0,3	0,9	94	84	0	0	98
8	0,4	1,0	100	90	2	2	100
10	0,4	1,0	96	86	0	0	100
12	0,6	1,0	98	92	4	0	98
Média	0,5	1,0	97,1	84,3	2,0	0,9	99,4

Notas: Não foram constatadas diferenças significativas entre os tratamentos para as características acima ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Não foram observadas diferenças significativas entre os resultados de cada tratamento do teste de tetrazólio, em relação aos resultados da cultura de embrião (alongamento do pecíolo) pelo teste Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora.

O alongamento do pecíolo cotiledonar é um indicativo morfológico de germinação (BEWLEY; BLACK, 1994), confirmando que o cultivo *in vitro* de embriões supera a dormência das sementes em coquinho azedo, como verificado por Magalhães (2011) e Ribeiro *et al.* (2010). Então, nestapesquisa, a avaliação após 30 dias de cultivo *in vitro*, independente do pré-condicionamento, permite a germinação do embrião e a formação da bainha primária, porém ainda não é suficiente para o surgimento do eófilo e raiz secundária, corroborando os resultados observados por Bandeira (2008), que, só após três semanas de cultivo notou-se os primeiros sinais de desenvolvimento da radícula e, posteriormente, da plúmula em *A. aculeata*.

Outro aspecto importante é que a viabilidade do embrião não foi influenciada pela pré-hidratação, semelhante aos resultados obtidos para macaúba (RIBEIRO *et al.*, 2010) e açazeiro (BRASIL, 2009), que dispensam o pré-condicionamento. Além disso, o teste de tetrazólio e o teste da cultura de embriões (alongamento do pecíolo cotiledonar) não apresentaram diferenças estatísticas quanto à viabilidade (TAB. 1), demonstrando elevada correlação entre a germinação *in vitro* e o teste de tetrazólio, como também verificado para outras espécies de palmeiras (RIBEIRO *et al.*, 2010; SPERA *et al.*, 2001).

Com relação à umidade inicial dos embriões em embebição (GRÁF. 5), percebe-se que esses já se encontravam com alto teor de umidade, em torno de 60%. Nas primeiras duas horas de embebição, ocorre uma rápida absorção de água, atingindo uma umidade em torno de 80%, permanecendo a partir daí inalterada até o período de oito horas. Em seguida, há um aumento considerável até alcançar o patamar de 86% de umidade. O desempenho dos embriões coquinho-azedo, nestapesquisa, em vários tempos de embebição segue o padrão geral de hidratação. Esse padrão é marcado, no começo, por rápida absorção de água e acelerado potencial hídrico do embrião, seguido de redução acentuada na velocidade de hidratação, sendo que, após isso, ocorre novamente aumento na velocidade da taxa de embebição em água (BEWLEY; BLACK, 1994, BRADFORD, 1994, WESTGATE, 1994).

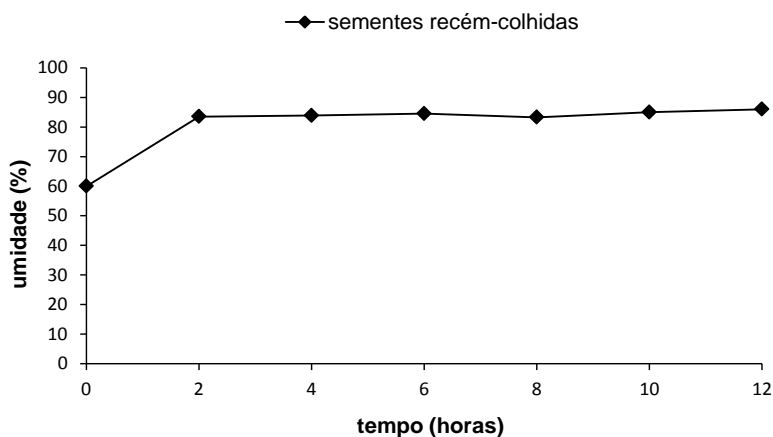


GRÁFICO 4 - Umidade em embriões de *B. capitata* durante o período de embebição (horas) em sementes

Fonte: Da autora.

3.3 Germinação de Diásporos com Diferentes Tipos Escarificação

As características analisadas não atenderam às premissas da anova quanto à homogeneidade e à normalidade.

Os diásporos sem o opérculo obtiveram germinação variando entre 30 e 80%, enquanto que, nos outros tratamentos, não houve germinação (FIG. 1). A retirada do endocarpo e opérculo, além de proporcionar uma germinação 2,66 vezes maior do que o diásporo com endocarpo e sem opérculo, também permite um índice de velocidade de germinação 3,17 vezes superior (TAB. 2). Isso confirma que a dormência do coquinho-azedo é realmente fisiológica não profunda, ligada à restrição mecânica do opérculo (BASKIN; BASKIN, 2004), sendo superada pela extração desse.

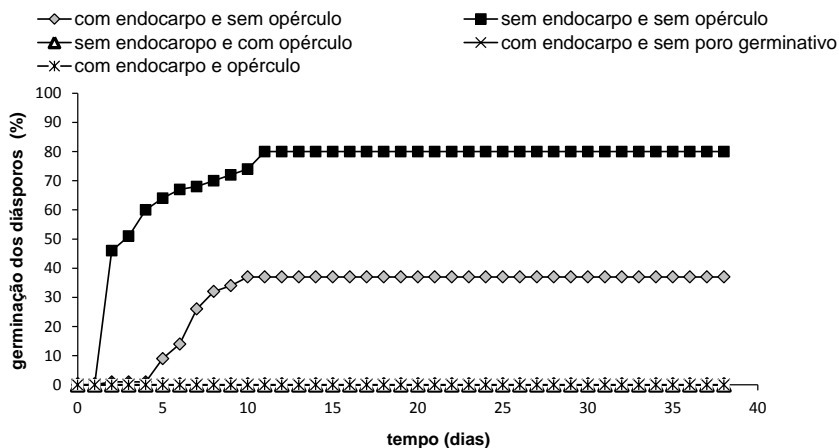


GRÁFICO 5 - Germinação de diásporos de *Butia capitata* submetidos a escarificação
Fonte: Da autora.

Na FIG. 1, pode-se observar também que a germinação é evidenciada a partir de dois dias do plantio em sementes sem endocarpo e opérculo, enquanto para com endocarpo e sem opérculo, iniciou-se ao quarto dia. Resultados semelhantes foram observados em *Butia capitata* após a retirada do opérculo, obtendo-se o índice de germinação em torno de 90% (FIOR *et al.*, 2011).

Nos tratamentos em que houve a germinação, os diásporos que não continham endocarpo e opérculo proporcionaram um desenvolvimento mais eficiente de raiz e de bainha e uma menor mortalidade das sementes. Contudo o índice de plântulas anormais e que cessaram o crescimento após o alongamento do pecíolo foi considerável (21%) (TAB. 2). Os diásporos que apresentavam endocarpo sem opérculo tiveram uma elevada mortalidade, provavelmente em função de algum dano ao embrião no momento da retirada do opérculo. A presença do endocarpo dificultava bastante a retirada do opérculo. Também foram observados diásporos que não continham embriões, indicando que frutos podem se desenvolver paternocarpicamente.

Os fungos detectados nas sementes *B. capitata*, expostos na TAB. 3, evidenciam a maior frequência de *Aspergillus* spp., enquanto *Chaetomium* sp., em menor frequência. Os fungos identificados nesta pesquisa foram os mesmos observados por Magalhães *et al.* (2008), em

sementes de *B. capitata*, à exceção do *Chaetomium* sp. Esses patógenos são verificados normalmente em sementes florestais, contaminando-as quando em contato com o solo e sendo propagados durante o beneficiamento e armazenamento dessas, podendo vir a comprometer a qualidade das sementes, reduzindo a germinação e conferindo a morte dos embriões (MAGALHÃES *et al.*, 2008). Entretanto, apesar dos diásporos sem opérculo e endocarpo apresentarem maior ataque de patógenos, foram também esses que tiveram maior germinação, indicando que os fungos aqui identificados não prejudicam, de forma significativa, a germinação.

TABELA 2

Desenvolvimento de plântulas de *Butia capitata* provenientes de diferentes diásporos, Montes Claros, Minas Gerais, 2012

TRATAMENTOS	BAINHA (%)			RAIZ (%)		OBSERVAÇÕES (%)						IVG
	1ª	2ª	ÉOFILO	1ª	2ª	PRDA	DOR	PLNOR	PLANOR	MTA	SEMBR	
Com endocarpo e sem opérculo	13	12	10	12	6	3	6	12	1	78	0	17
Sem endocarpo e sem opérculo	53	31	12	49	26	17	13	49	4	17	0	54
Sem endocarpo e com opérculo	0	0	0	0	0	0	79	0	0	16	5	0
Com endocarpo e sem poro Germ.	0	0	0	0	0	0	75	0	0	24	1	0
Com endocarpo e com opérculo	0	0	0	0	0	0	82	0	0	17	1	0

Nota: PRDA = paralisada; DOR= dormente; PLNOR = plântula normal; PLANOR= plântula anormal; MTA= Morta; SEMBR = sem embrião; Germ. = germinativo.

Fonte: Da autora.

TABELA 3

Ocorrência de microrganismos associados em diferentes diásporos de coquinho azedo. Montes Claros-MG, Minas Gerais, 2012

TRATAMENTOS	Observações (%)			
	Fungos			
	<i>Chaetomium sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>
Com endocarpo e sem opérculo	38	19	70	0
Sem endocarpo e sem opérculo	4	4	3	1
Sem endocarpo e com opérculo	0	0	7	1
Com endocarpo e sem poro Germinativo	0	0	6	0
Com endocarpo e com opérculo	0	0	6	0

Fonte: Da autora.

4 CONCLUSÃO

A fase I de embebição das sementes de coquinho-azedo é longa, variando de 42 a 96 horas, dependendo da temperatura e do substrato.

O aumento do tempo de pré-hidratação do embrião favorece o maior vigor de plântulas durante o cultivo in vitro.

O teste do tetrazólio pode ser utilizado para avaliar a viabilidade em sementes de coquinho-azedo.

A presença do opérculo é o principal responsável pela dormência em sementes de coquinho-azedo.

CAPÍTULO 3 - ESTRUTURA DA SEMENTE, GERMINAÇÃO E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM *BUTIA CAPITATA* (ARECACEAE)

RESUMO

Em Arecaceae, ainda há dúvidas sobre o papel dos componentes da semente na dormência, sobre o padrão de crescimento das plântulas e sobre a mobilização das reservas. *Butia capitata* é uma palmeira endêmica do Cerrado no Brasil, com grande potencial de uso ornamental e alimentar. Estapesequisa foi realizada com o objetivo de caracterizar a estrutura de sementes e plântulas, além de identificar aspectos anatômicos relacionados à pronunciada dormência da espécie. Descreveu-se a morfologia e avaliaram-se a biometria, a anatomia e a histoquímica de sementes e plântulas, a partir do acompanhamento por 20 dias de sementes com e sem opérculo. O tegumento é rico em compostos fenólicos e não é lignificado. O endosperma possui abundantes reservas proteicas e lipídicas e o embrião, além dessas, significativas reservas amiláceas. A germinação ocorre apenas nas sementes em que o opérculo (formado pelo tegumento opercular e pelo endosperma micropilar) é retirado e está relacionada ao alongamento das células do cotilédone e à atividade meristemática da “zona M”, localizada entre o eixo embrionário e a extremidade proximal do embrião. A mobilização das reservas do embrião inicia-se nas sementes embebidas e a mobilização das reservas do endosperma é evento pós-germinativo, associado à formação de epitélio secretor, de aerênquima e de vascularização no haustório. Nas sementes em que o opérculo não é retirado, também ocorre mobilização das reservas embrionárias e alongamento celular, indicando que a dormência em *B. capitata* é do tipo fisiológico não profundo e está relacionada à incapacidade do embrião em romper a estrutura do opérculo.

Palavras chave: Dormência. Opérculo. Haustório. Plântulas. Palmeiras.

CHAPTER 3 - STRUCTURE OF THE SEED, GERMINATION AND MOBILIZATION OF RESERVES IN BUTIA CAPITATA (ARECACEAE)

ABSTRACT

In Arecaceae there are still doubts about the role of the components of seed in dormancy on the growth pattern of seedlings and about the mobilization of the reserves. *Butia capitata* is a palm tree endemic to the Cerrado in Brazil with great potential for ornamental and feeding use. This work was conducted aiming to characterize the structure of seeds and seedlings, beyond to identify anatomic aspects related to pronounced dormancy of the species. It was described the morphology and evaluated the biometrics, anatomy and histochemistry of seeds and seedlings, from monitoring for 20 days of seeds with and without operculum. The integument is rich in phenolic compounds and is not lignified. The endosperm has abundant proteic and lipidic reserves and the embryo, besides these, significant starch reserves. Germination occurs only in the seed which the operculum (formed by the opercular integument and by the micropilar endosperm) is removed and is related to cell elongation of the cotyledon and meristematic activity of zone "M", located between the embryonic axis and the proximal end of the embryo. The mobilization of the reserves of the embryo begins in imbibed seeds and mobilization of the reserves of the endosperm is post-germinative event associated with the formation of secretory epithelium, aerenchyma and vascularization in the haustorium. In seeds where the operculum is not removed also occurs mobilization of embryonic reserves and cellular elongation indicating that dormancy in *B. capitata* is of the physiological type not deep and is related to the inability of the embryo to break the structure of the operculum.

Keywords: Dormancy. Operculum. Haustorium. Seedlings. Palm trees.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Butia* (Arecaceae) tem origem sul-americana, com ampla distribuição nas regiões sul e sudeste do Brasil (LORENZI *et al.*, 2010). As espécies apresentam importância ecológica, especialmente no fornecimento de recursos alimentares para a fauna (MAGALHÃES *et al.*, 2008; SARMENTO; VILELA, 2010). *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick; Lorenzi, que ocorre em ambientes de restinga no sul do Brasil, é largamente utilizada no paisagismo nessa região e no sul dos Estados Unidos (BROSCHAT, 1998). *Butia capitata* (Mart.) Becc., endêmica do bioma Cerrado, além do potencial de uso como ornamental, produz frutos muito utilizados para produção de sucos e de sorvetes (LORENZI *et al.*, 2010; MAGALHÃES *et al.*, 2008). As espécies apresentam germinação lenta e em baixos percentuais, o que limita a regeneração das populações naturais e o cultivo comercial (FIOR *et al.*, 2011; LOPES *et al.*, 2011).

Apesar da escassez de estudos sobre o tema, a dormência é considerada a principal causa da baixa germinabilidade em diversas palmeiras (BROSCHAT; DONSELMAN, 1987) e tem sido relacionada à estrutura peculiar dos diásporos, os quais podem possuir endocarpo pétreo, sementes com endosperma rígido e embrião imaturo no momento da dispersão (BASKIN; BASKIN, 1998; GONG *et al.*, 2005; HARTMANN *et al.*, 2002; OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003). Por outro lado, estudos recentes demonstraram que a dormência em *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex. Mart. (RIBEIRO *et al.*, 2011b), em *B. odorata* (FIOR *et al.*, 2011) e em *B. capitata* (FIOR *et al.*, 2011; MAGALHÃES *et al.*, 2013), é do tipo fisiológica não profunda (BASKIN; BASKIN, 2004), relacionada à dificuldade do embrião em superar as limitações ao crescimento impostas pelos tecidos adjacentes. Apesar de estudos envolvendo a descrição da estrutura do embrião e do processo germinativo em *B. capitata* (MAGALHÃES *et al.*, 2013) e em outras palmeiras (DEMASON, 1988; DEMASON; THOMSON, 1981; PANZA *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2012), não há estudos que detalhem a estrutura dos tecidos envolvidos na dormência fisiológica na família.

Os embriões das palmeiras possuem eixo embrionário microscópico e interno ao pecíolo cotiledonar, o que, associado à ocorrência de germinação do tipo hipógea e criptocotiledonar (DEMASON; THOMSON, 1981; OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003), dificulta a definição de critérios morfológicos para a identificação da germinação, para a padronização da terminologia (RIBEIRO *et al.*, 2010) e para a classificação da dormência (MAGALHÃES *et al.*, 2013, RIBEIRO *et al.*, 2012). Além disso, há grande diversidade no padrão de desenvolvimento das plântulas entre as espécies, o que ressalta a relevância de estudos sobre aspectos estruturais envolvendo a germinação e o desenvolvimento inicial em Arecaceae (HENDERSON, 2006). Magalhães *et al.* (2013) caracterizaram o desenvolvimento das plântulas de *B. capitata* obtidas a partir da germinação de embriões cultivados *in vitro*, no entanto não há trabalhos que descrevam os aspectos anatômicos, morfológicos e histoquímicos de sementes dormentes e não dormentes após a fase de plantio.

Para que a germinação ocorra, a mobilização das reservas embrionárias é essencial e se inicia normalmente durante a fase inicial de embebição das sementes (BEWLEY, 1997; NONAGAKI *et al.*, 2010). Além disso, o acesso às reservas seminíferas é determinante para o estabelecimento das plântulas, sendo seu padrão componente da interação das espécies com o ambiente (BEWLEY; BLACK, 1994; HARTMANN *et al.*, 2002). No caso das palmeiras, o processo de mobilização de reservas é especialmente complexo, em função das sementes apresentarem endosperma rígido (GONG *et al.*, 2005) e elevados teores de óleo (ALANG *et al.*, 1988; DEMASON, 1988a; MOURA *et al.*, 2010a), o que leva ao desenvolvimento de um haustório altamente especializado, a partir de um embrião diminuto (DEMASON *et al.*, 1985, 1988b; RIBEIRO *et al.*, 2012). Apesar da importância e da diversidade na família, estudos relacionados à caracterização e à mobilização de reservas em sementes em Arecaceae estão restritos a poucas espécies (ALANG *et al.*, 1988; DEMASON, 1985, 1988a, 1988b; DEMASON; THOMSON, 1981; MOURA *et al.*, 2010b; PANZA *et al.*, 2004; ROBERTO *et al.*, 2011).

O objetivo desta pesquisa foi caracterizar a estrutura da semente de *Butia capitata* e responder aos seguintes questionamentos: i) qual o papel dos componentes da semente no controle da germinação? ii) qual o padrão do crescimento das plântulas? iii) qual o padrão da mobilização de reservas na semente?

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do Material Botânico

Cachos de *B. capitata* maduros (com pericarpo amarelo) foram coletados manualmente, em pomar experimental, localizado no Instituto de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Minas Gerais, em Montes Claros, estado de Minas Gerais, Brasil. Os frutos foram despulpados com o auxílio de facas e os pirênios (sementes envolvidas pelo endocarpo pétreo), armazenados à sombra por três meses, até que as sementes, aderidas ao endocarpo no momento da abscisão, sofressem desidratação parcial, permitindo a sua extração. Para a realização dos experimentos, as sementes foram isoladas do endocarpo, por meio de pressão gradual em torno manual.

2.2 Morfologia

Inicialmente, cinquenta sementes foram seccionadas longitudinalmente, com o auxílio de estiletes. Os embriões foram excisados e fotografados, utilizando-se câmera portátil Sony DSC-49 8,1 MP. Como as pequenas dimensões dos embriões dificultam medições diretas, as imagens obtidas foram analisadas pelo aplicativo Corel DRAW, sendo realizadas mensurações do comprimento e do diâmetro do haustório e do pecíolo cotiledonar e do comprimento total do embrião. A massa fresca das sementes e das estruturas foi determinada, utilizando-se balança analítica. A massa seca foi avaliada, após a desidratação em estufa a 105°C, durante 24 horas e o teor de água foi calculado (BRASIL, 2009).

Para a avaliação da morfologia das plântulas, 700 sementes foram desinfestadas por meio de imersão, durante um minuto, em etanol 70%, 15 minutos em hipoclorito de sódio a 6%, seguida por tríplice lavagem em água destilada esterilizada. Metade das sementes teve o opérculo retirado com uma lâmina de barbear, com o auxílio de um estereomicroscópio GX modelo XTL-101 (FIOR *et al.*, 2011). As sementes foram acondicionadas em caixas de polietileno, tipo gerbox, preenchidas previamente com 150 cm³ de areia

média, pré-umedecida com água destilada a 60% da capacidade de retenção de água (BRASIL, 2009). O material foi mantido em temperatura de 25°C e intensidade luminosa constante em câmara BOD, modelo EL202, ELETROLAB (FIOR *et al.*, 2011).

Aos 2, 4, 6, 8, 10, 15 e 20 dias, após o plantio, contendo cinco repetições de 10 sementes de cada tratamento (com e sem opérculo) foram retiradas e avaliadas a percentagem de germinação e a morfologia de sementes e plântulas. A semente foi considerada germinada, quando houve a protrusão de pelo menos dois milímetros do pecíolo cotiledonar (FIOR *et al.*, 2011). A morfologia dos embriões não germinados e das plântulas, assim como o teor de água foram avaliados como descrito acima para as sementes. No caso das plântulas, avaliaram-se o comprimento e o diâmetro do haustório, do pecíolo cotiledonar, da raiz e da bainha foliar.

2.3 Anatomia e Histoquímica

Avaliaram-se o opérculo, fragmentos de tegumento, o endosperma e o embrião de sementes secas, as sementes embebidas e de plântulas, obtidas a partir da germinação em 50 sementes submetidas a dois tratamentos: retirada do opérculo (FIOR *et al.*, 2011) e controle. Os procedimentos referentes à retirada do opérculo e à manutenção do material foram os mesmos descritos anteriormente. No caso das sementes sem opérculo, o material foi coletado aos dois (após a estabilização da embebição); três (durante o início do alongamento do pecíolo cotiledonar) e oito dias da semeadura (por ocasião da emissão da raiz). O material do tratamento controle foi obtido após 2, 10 e 20 dias da semeadura.

As amostras foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), desidratadas em série etílica e incluídas em 2(hidroxi-etil)-metacrilato (Leica®) (PAIVA *et al.*, 2011). Secções transversais e longitudinais seriadas, com 5µm de espessura, foram obtidas em micrótomo rotativo, coradas com vermelho de Rutênio (JOHANSEN, 1940) e azul de Toluidina a 0,5%, pH 4,9 (O' BRIEN *et al.*, 1964, modificados) e montadas em Entellan®.

As avaliações histoquímicas foram realizadas em secções de material incluído em resina obtido a partir de todas as fases descritas acima. As secções foram submetidas aos testes com Sudan IV (FORSTER, 1949), para detecção de lipídeos totais; lugol (JOHANSEN, 1940), para detecção de amido e Xilidine Ponceau (O'BRIEN; MCCULLY, 1981), para detecção de proteínas. As secções foram registradas e analisadas utilizando-se fotomicroscópio Zeiss Lab. AI/Axion Cam ICc 3.

3 RESULTADOS

3.1 Morfologia da Semente e Biometria de Embriões e Plântulas

As sementes de *B. capitata* apresentam formato reniforme; tegumento de coloração avermelhada, recoberto por várias fibras endocárpicas brancas; rafe disposta ao longo do maior comprimento e opérculo na extremidade proximal, com formato de escudo cônico (FIG. 1A). O tegumento é delgado e o endosperma é oleaginoso, não ruminado e delimita uma cavidade que contém o embrião (FIG. 1B,C). O embrião é basal e permanece conectado ao opérculo (FIG. 1C), apresentando formato falciforme, com extremidade proximal cilíndrica, de coloração amarelada, correspondendo ao pecíolo cotiledonar e porção distal curva, com coloração branca e brilhante, correspondendo ao haustório (FIG. 1B).

Não ocorreu germinação nas sementes em que o opérculo foi mantido. Após quatro dias da sementeira, em aproximadamente 20% das sementes em que o opérculo foi retirado (GRAF. 1 e FIG. 1B), ocorre a protrusão de uma estrutura esbranquiçada, que corresponde ao pecíolo cotiledonar alongado (FIG.1D, E). Aos oito dias, observou-se a protrusão da radícula e crescimento do pecíolo cotiledonar; a região do haustório encontrou-se dilatada e as células, esbranquiçadas, com aspecto esponjoso (FIG. 1F). Aos 15 dias, observou-se a emissão de bainhas foliares, a partir de uma região tubular, formada pela expansão do pecíolo cotiledonar; a raiz apresentou significativo crescimento e o haustório bastante desenvolvido já havia consumido aproximadamente um quinto do endosperma (FIG.1G).

Nas sementes com opérculo, observa-se um pequeno aumento nas dimensões do embrião nos primeiros quatro dias após a sementeira (GRAF. 1A, B). Já sementes em que o opérculo foi retirado apresentaram, durante os quatro primeiros dias após a sementeira, um incremento expressivo em suas dimensões (GRAF. 1. e FIG.1A). Nesse período, o processo germinativo já está em curso, com aproximadamente 20% das sementes (GRAF. 1 e FIG.1B), apresentando protrusão do pecíolo cotiledonar e expansão do haustório. Pecíolo e haustório, em sementes com opérculo, após o período

inicial de semeadura mantêm as suas dimensões praticamente inalteradas (GRAF. 1A), enquanto, nas sementes sem opérculo, há um aumento de seu comprimento proporcionalmente até os oito dias, quando a germinação alcança 73% (GRAF. 1 e FIG. 1A, B). A partir dos 10 dias, o pecíolo passa a ter maior crescimento, quando comparado ao haustório, sendo que o diâmetro de ambas as estruturas, aumenta de forma gradual (GRAF. 1 e FIG. 1A). O percentual de germinação alcançou 88% ao final da avaliação (GRAF. 1B). Os teores de água do pecíolo e do haustório aumentam significativamente nos quatro primeiros dias, independente da presença ou não do opérculo; em seguida, torna-se menos expressivo até atingir 80% (semente sem opérculo) e 70% (semente com opérculo) de umidade. No endosperma e no tegumento, a estabilização da embebição ocorre mais cedo, aos dois dias, com 30% de água para os dois tipos de sementes (GRAF. 1B).

As massas secas do pecíolo e haustório apresentaram decréscimo nos quatro primeiros dias, caracterizando consumo de reservas embrionárias. Entretanto, a partir desse período e de forma mais expressiva após os 10 dias, ocorreu aumento na massa das estruturas das plântulas, associado ao consumo das reservas endospermicas, diminuição da massa endosperma+tegumento (GRAF.1C).

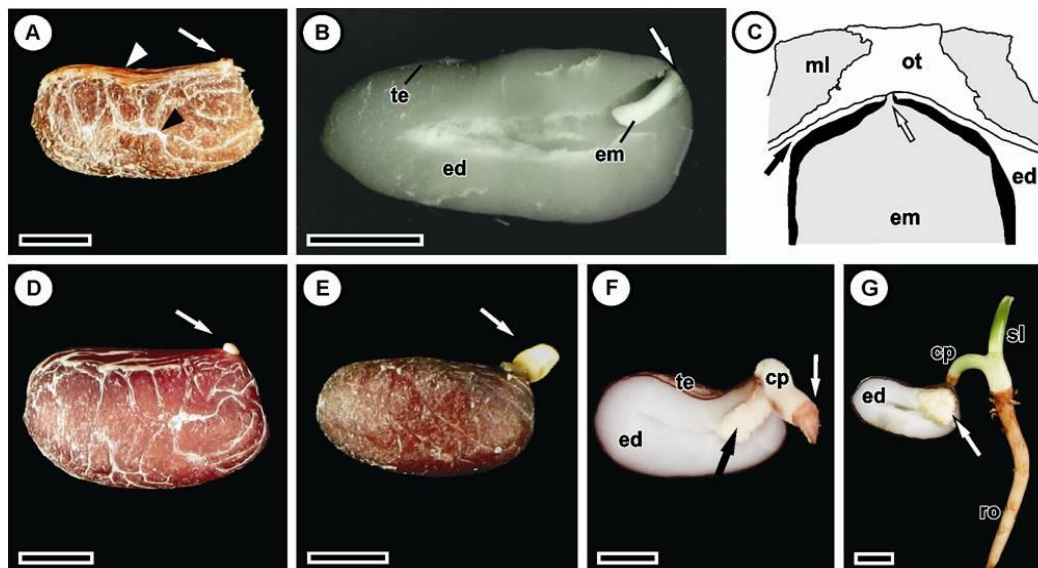


FIGURA 1 - Morfologia da semente e plântulas de *Butia capitata*. Visão lateral da semente seca, com seta indicando o opérculo, ponta de seta preta indicando fibras endocárpicas brancas e ponta de seta branca mostrando a rafe:
 a) Semente seccionada longitudinalmente destacando o opérculo (seta)
 b) Esquema da região micopilar destacando a região de conexão entre o embrião e o opérculo (seta branca) e o endosperma micopilar (seta preta)
 c) Semente, após quatro dias da sementeira, evidenciando a protrusão do pecíolo cotiledonar (seta)
 d) Semente, após oito dias da sementeira, mostrando o pecíolo cotiledonar alongado (seta)
 e) Semente, após 15 dias da sementeira, seccionada longitudinalmente, evidenciando o desenvolvimento do haustório (seta preta) e o início da protrusão da radícula (seta branca)
 f) Secção longitudinal da semente, após 30 dias da sementeira, destacando o haustório dilatado e com aspecto esponjoso (seta)
 g) cp: pecíolo cotiledonar, ed.: endosperma, em: embrião, ml: camada mucilaginosa do arilo, ot: tegumento opercular, ro: raiz, sl: primeira bainha foliar, te: tegumento. barras de escala: 5 mm.

Fonte: Da autora.

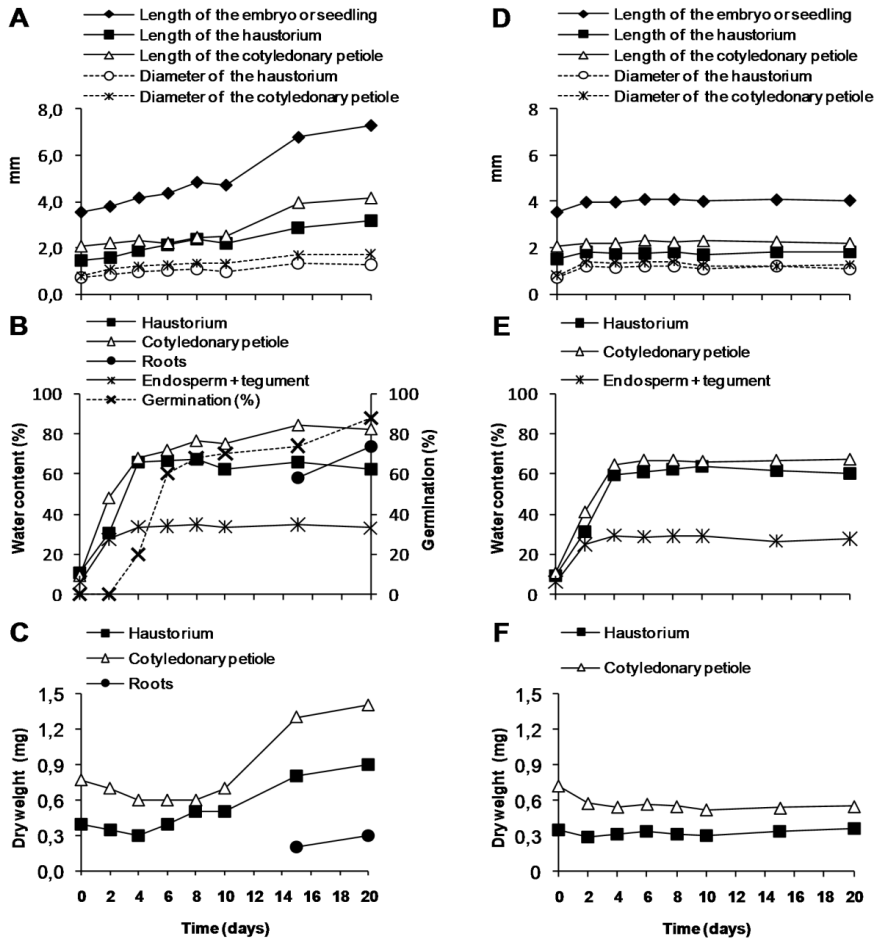


GRÁFICO 1 - Características de estruturas das sementes e plântulas de *Butia capitata* oriundos de:

A, B, C) Sementes com opérculo

D, E, F) Sementes sem opérculo

A, D) Comprimentos e diâmetros das estruturas do embrião e das plântulas

B, E) Teores de água dos componentes da semente e das plântulas
B) com percentuais de germinação obtidos nas sementes sem opérculo

C, F) Massa seca das estruturas do embrião e plântulas

Notas: $n=700$. As barras de erro não foram apresentadas para facilitar a interpretação dos gráficos.

Fonte: Da autora.

3.2 Anatomia e Histoquímica

A semente, na região do opérculo (FIG. 2A, B), apresenta uma região hidrofílica recobrendo o tegumento, composta por camadas de células de

paredes irregularmente espessadas, com grande deposição de substâncias de natureza péctica (FIG. 1C e FIG. 2B). O tegumento é formado por camadas de células de formato tabular, distribuídas irregularmente, com paredes apresentando acúmulo de compostos fenólicos (FIG. 2B). Internamente ao tegumento, encontra-se o endosperma micropilar, composto por células pouco volumosas, quando comparadas com as demais células do endosperma, de formato irregular e paredes delgadas. Na região de contato com o restante do endosperma, as células do endosperma micropilar apresentam paredes especialmente delgadas, estabelecendo uma linha de fraqueza que favorece o deslocamento do opérculo na germinação (FIG. 2B). As células do endosperma apresentam formato irregular (FIG. 2B, D), paredes delgadas e abundantes reservas proteicas, de diferentes dimensões e densidades, com cristalóides incrustados e numerosos corpos lipídicos (conforme confirmado pelos testes histoquímicos) (FIG. 2E). São evidentes camadas de células endospermicas colapsadas adjacentes ao haustório (FIG. 2D).

O embrião é composto pelo eixo embrionário e cotilédone (FIG. 2A). O eixo embrionário se distingue em plúmula e eixo hipocótilo-radícula. A plúmula possui dois primórdios foliares (bainhas) e um promeristema de superfície convexa com células com volume reduzido, formato isodiamétrico, com citoplasma denso e núcleo volumoso. O cotilédone apresenta diferenciados tecidos meristemáticos primários protoderme, meristema fundamental e procâmbio, que podem ser distinguidos pela forma das células e sua localização. As células da protoderme possuem formato tabular, enquanto as células do meristema fundamental são mais volumosas e isodiamétricas (FIG. 2C). As células procambiais são alongadas no sentido longitudinal, formando conjuntos de cordões, que partem do eixo embrionário e têm localização central no pecíolo e periférica no haustório (FIG. 2A,C,D). Na porção proximal do pecíolo, entre a protoderme e o promeristema radicular, há uma zona de células achatadas e de aspecto meristemático: a “zona M” (FIG. 2C). As células de todos os tecidos são maiores na região distal do cotilédone.

Nas sementes sem opérculo, após dois dias da semeadura, na região proximal do cotilédone, ocorre a diferenciação da epiderme e do parênquima, o que pode ser evidenciado pela vacuolização e aumento do volume das células (FIG. 2F, G). O eixo embrionário não apresenta crescimento, no entanto observa-se intensa atividade de divisão celular na “zona M” (FIG. 2H).

Nas sementes recém-germinadas, é evidente a continuidade da atividade da “zona M” e o alongamento das células em todo o cotilédone, especialmente na região de transição entre o haustório e o pecíolo (FIG. 2I). Nessa fase, o eixo vegetativo ainda não apresenta crescimento notável, porém ocorre diferenciação dos feixes vasculares na região do nó-cotiledonar. Em algumas regiões onde ocorre contato entre o haustório e o endosperma, inicia-se o processo de mobilização do conteúdo das células endospermicas (FIG. 2I).

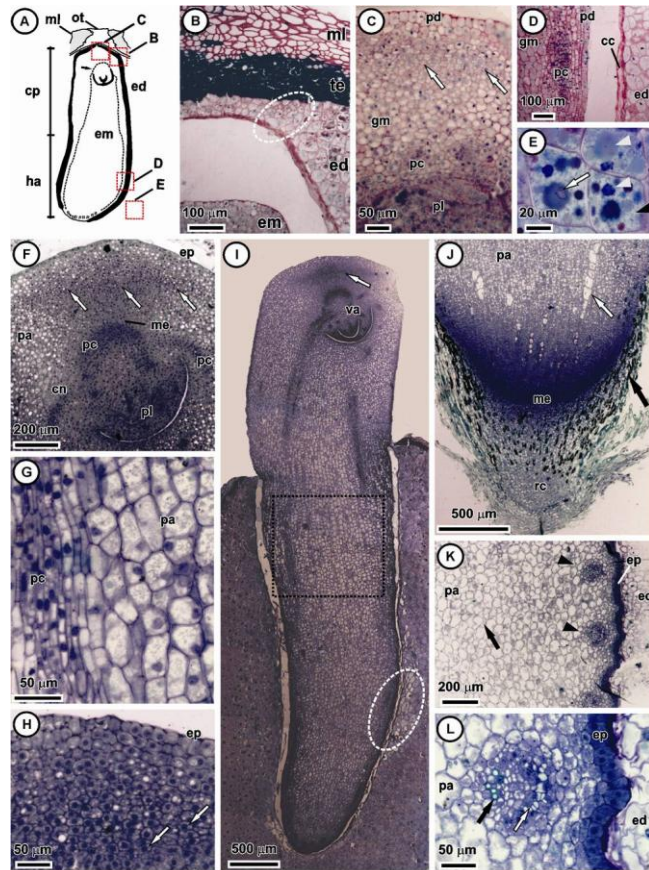


FIGURA 2 - Estrutura da semente de *Butia capitata*. Secções longitudinais: (B - J), secções transversais: (K - L), semente com opérculo seca (A - E), semente sem opérculo embebida (F - H), semente recém-germinada (I), semente na fase de emissão de raiz (J - L). Esquema da semente seca na região micropilar, destacando eixo embrionário (seta) e disposição dos cordões procambiais (tracejado) (A) e regiões representadas pelas GRAF. 3B-E (quadrados vermelhos), opérculo evidenciando linhas de fraqueza (elipse) (B), região proximal do embrião, mostrando a "zona M" (setas) (C), haustório (esquerda) e endosperma (D), células do endosperma destacando corpos protéicos (cabeça de seta branca), corpos lipídicos (cabeça de seta preta) e inclusões cristalóides em corpo protéico (seta) (E), região proximal do pecíolo cotiledonar, mostrando "zona M" com atividade meristemática (setas) (F), região de transição entre pecíolo e haustório (G), região proximal do pecíolo cotiledonar, destacando divisões celulares em células da "zona M" (H), plântula mostrando "zona M" (seta), região de transição entre haustório e pecíolo com células mais alongadas (quadrado) e região de contato entre haustório e endosperma em início de digestão (elipse) (I), raiz destacando idioblastos contendo ráfides (seta branca) e idioblastos com conteúdo fenólico (seta preta) (J), região de contato entre haustório e endosperma destacando espaços intercelulares (seta) e feixes vasculares em diferenciação (cabeça de seta) (K), região periférica do haustório, evidenciando diferenciação de elementos crivados (seta branca) e elementos traqueais (seta preta) (L). cc: células colapsadas, cn: nó cotiledonar, cp: pecíolo cotiledonar, ed.: endosperma, ep: epiderme, gm: meristema fundamental, ha: haustório, em: embrião, me: promeristema, ml: camadas de células mucilaginosas do arilo, ot: tegumento opercular, pa: parênquima, pc: procâmbio, pd: protoderme, pl: plúmula, rc: coifa, te: tegumento, va: eixo vegetativo.

Fonte: Da autora.

No momento da protrusão, a raiz apresenta coifa desenvolvida com numerosos idioblastos com conteúdo fenólico. Na região cortical, ocorrem idioblastos contendo ráfides dispostos em fileiras (FIG. 2J). No haustório, ocorre pronunciado crescimento das células parenquimáticas, com formação de numerosos espaços intercelulares, dando início à formação de um aerênquima (FIG.2K). Inicia-se a diferenciação dos feixes vasculares e grande aumento na densidade das células epidérmicas, que passam a formar pequenas invaginações, caracterizando a formação de um epitélio secretor (FIG. 2K,L). As células endospérmicas nas regiões próximas ao haustório não apresentam conteúdo citoplasmático, sendo que as células adjacentes à epiderme têm suas paredes celulares colapsadas (FIG. 2L).

Nas sementes onde o opérculo foi mantido, não ocorreu germinação até 20 dias após a semeadura. No entanto registram-se alguns eventos semelhantes aos constatados nas sementes que germinaram. Após dois dias de embebição, evidencia-se o início da atividade meristemática na “zona M” (FIG. 3A), que se tornou bastante proliferada após 10 dias (FIG. 3B). Aos 20 dias da semeadura, prossegue a ampliação da “zona M”, alongamento das células parenquimáticas na região proximal do pecíolo e alongamento conspícuo do eixo embrionário (FIG. 3C). Na região de transição entre o pecíolo cotiledonar e o haustório, ocorre diferenciação e progressivo alongamento e vacuolização das células parenquimáticas após 2, 10 e 20 dias da semeadura (FIG.3D, F, respectivamente). No haustório, constata-se início da diferenciação de elementos crivados e traqueais nos feixes vasculares, juntamente com a diferenciação do parênquima e da epiderme (FIG. 3G).

Nas sementes em que o opérculo foi retirado, a abundante reserva de proteína das células do pecíolo cotiledonar, armazenadas em corpos proteicos de diferentes tamanhos e densidades (FIG. 4A) começa a ser mobilizada antes da germinação após dois dias da semeadura, resultando na formação de vacúolos contendo resíduos protéicos (FIG. 4B). Nas sementes recém-germinadas, observa-se consumo das reservas protéicas nas células parenquimáticas adjacentes ao eixo vegetativo e acúmulo de proteína na raiz em crescimento (FIG. 4C). Na fase de emissão da raiz, as reservas protéicas

foram quase que totalmente consumidas nas células do pecíolo cotiledonar (FIG. 4D). A mobilização das reservas protéicas no haustório (FIG. 4E) ocorre nas células parenquimáticas, vizinhas aos cordões procambiais e nas células do procâmbio (FIG.4F) e também se inicia após dois dias de embebição. Ao longo do tempo, essa mobilização aumenta progressivamente nas células parenquimáticas até a fase de emissão de raiz, ocorrendo concomitantemente ao acúmulo de proteína na epiderme e na camada subepidérmica (FIG. 4G, H). A mobilização das reservas proteicas do endosperma (FIG. 2E, GRAF. 5E) começa após a germinação (FIG. 4G). Na fase de emissão da raiz, essa mobilização ocorre numa zona de digestão, na qual o conteúdo proteico, de células que mantêm a parede celular ainda íntegra, é catalisado e transportado para a plântula (FIG. 4H).

Grãos de amido ocorrem no pecíolo cotiledonar e estão distribuídos espaçadamente em células do meristema fundamental. O eixo embrionário possui abundante reserva amilácea na forma de diminutos e numerosos grãos de amido, localizados na plúmula (FIG. 4I). Após dois dias de embebição, observa-se significativo acúmulo de amido na plúmula e nas células parenquimáticas em diferenciação, evidenciado pelo aumento do número e do volume dos grãos de amido (FIG. 4J). Nas sementes recém-germinadas, ocorre acúmulo de amido na extremidade proximal do pecíolo cotiledonar, na região correspondente à "zona M" e na coifa em formação (FIG. 4K). Na fase de emissão da raiz, observa-se consumo das reservas amiláceas nas regiões em crescimento, como a plúmula e a região cortical da raiz e o acúmulo de grãos de amido nas regiões adjacentes (FIG. 4L). O haustório também possui grãos de amido localizados principalmente nas células do meristema fundamental adjacentes aos cordões procambiais (FIG. 4M). Durante o período avaliado, houve um progressivo acúmulo de amido na região periférica do haustório, nas células parenquimáticas adjacentes aos cordões procambiais e aos feixes vasculares (FIG. 4N, P).

A mobilização de reservas lipídicas no pecíolo cotiledonar (FIG. 4Q) é mais tardia que a de proteínas, sendo evidente apenas na fase de emissão de raiz (FIG. 4R); comportamento semelhante ocorre no haustório (FIG. 4 S,

T). Significativa mobilização de reservas lipídicas no endosperma não pode ser evidenciada durante o período avaliado (FIG. 4S, T).

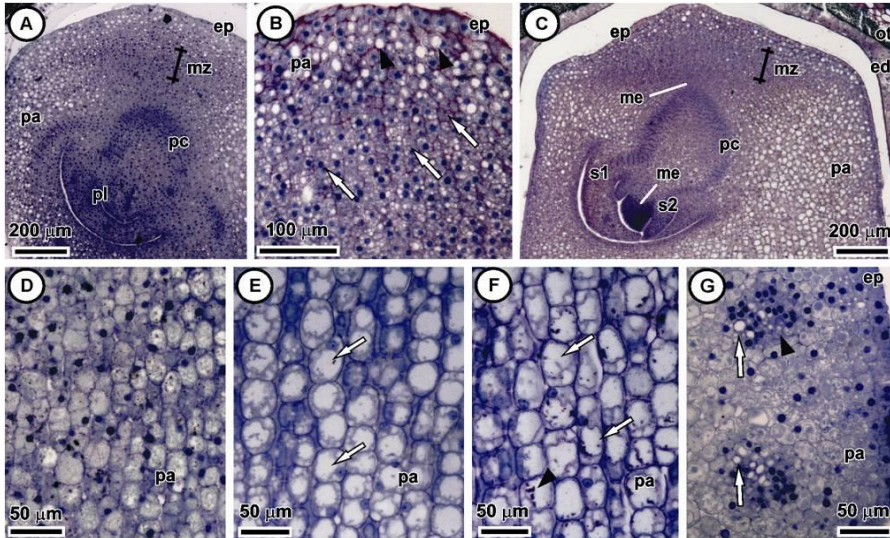


FIGURA 3 - Secções anatómicas do embrião de *Butia capitata* em sementes não germinadas com opérculo. Secções longitudinais: (A –F), secção transversal: (G). Região proximal do pecíolo em sementes após dois dias de embebição (A), extremidade proximal do pecíolo, destacando divisões celulares na zona “M” (setas) e células parenquimáticas vacuoladas (cabeças de setas), em sementes após 10 dias de embebição (B), região proximal do pecíolo em sementes após 20 dias de embebição (C); região de transição entre o pecíolo cotiledonar e haustório, aos dois (D), 10 (E) e 20 dias (F) do início da embebição, haustório em sementes após 20 dias de embebição evidenciando diferenciação de elementos crivados (cabeça de seta) e elementos traqueais (seta) (G). ed.: endosperma, ep: epiderme, me: promeristema, mz: “zona M”, ot: tegumento opercular, pa: parênquima, pc: procâmbio, pl: plúmula, s1: primeira bainha foliar, s2: segunda bainha foliar.

Fonte: Da autora.

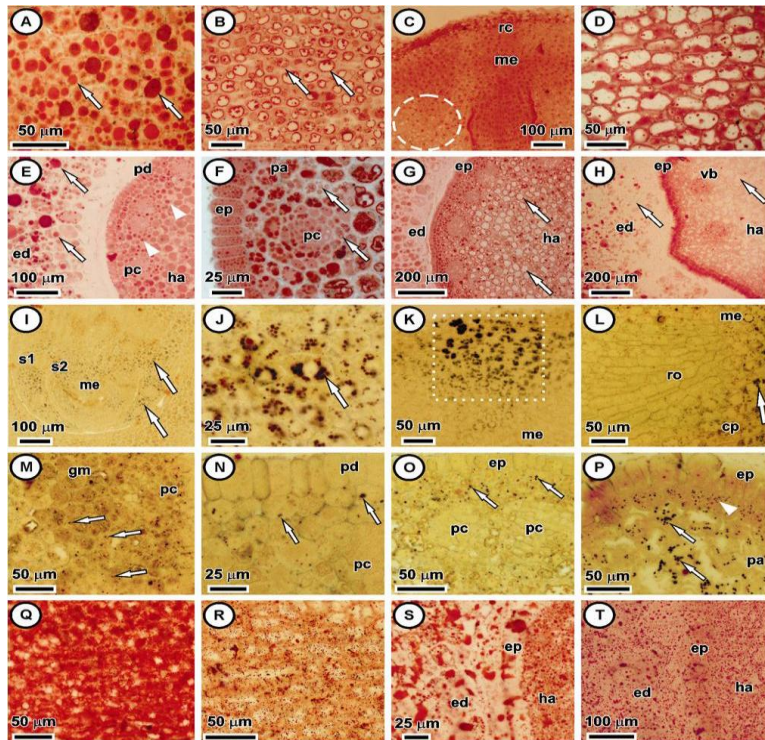


FIGURA 4 - Seções anatómicas de sementes de *Butia capitata* sem opérculo, submetidas a testes histoquímicos. Xilidine Ponceau, coloração vermelha indicativo de proteína, (A - H), lugol, coloração roxa indicativo de amido, (I - P), sudan IV, coloração vermelha indicativo de lipídios, (Q - T), sementes secas (A, E, I, M, Q), sementes após dois dias de embebição (B, F, J, N, R), sementes recém-germinadas (C, G, K, O, S), sementes germinadas com plântulas com emissão de raiz (D, H, L, P, T). Região proximal do pecíolo cotiledonar, destacando corpos proteicos (seta) (A), células da região proximal do pecíolo mostrando a formação de vacúolos (seta) associados ao início da mobilização de reservas proteicas (B), região proximal do pecíolo, mostrando consumo de reservas proteicas nas células parenquimáticas (elipse) (C), células do pecíolo cotiledonar cujas reservas proteicas foram quase totalmente mobilizadas (D), região de contato entre haustório e endosperma destacando os corpos proteicos do endosperma (setas) e do haustório (cabeças de seta) (E), região periférica do haustório mostrando a mobilização de reservas nas células parenquimáticas vizinhas aos cordões procambiais (setas) (F), haustório evidenciando a mobilização de reservas nas células parenquimáticas (seta) (G), região de contato entre haustório e endosperma, evidenciando a mobilização de reservas proteicas no haustório e endosperma (setas), associada ao acúmulo de proteínas no epitélio secretor (H), plúmula, destacando diminutos grãos de amido (setas) (I), células parenquimáticas da região proximal do pecíolo, destacando o acúmulo de grãos de amido (seta) (J), extremidade proximal do pecíolo cotiledonar mostrando acúmulo de amido na "zona M" (quadrado pontilhado) (K), região proximal do pecíolo, destacando o consumo de reservas amiláceas nas regiões de crescimento da raiz e acúmulo nas regiões adjacentes (seta) (L), haustório destacando grãos de amido nas células do meristema fundamental próximas aos cordões procambiais (setas) (M), região periférica do haustório com acúmulo de amido nas células parenquimáticas subepidérmicas em diferenciação (setas) (N), região periférica do haustório mostrando acúmulo de amido nas células parenquimáticas subepidérmicas (setas) (O), região periférica do haustório mostrando acúmulo de amido nas células parenquimáticas subepidérmicas (cabeça de seta) e localizadas próximas aos feixes vasculares (setas) (P), acúmulo de reservas lipídicas no pecíolo cotiledonar; (R) pecíolo cotiledonar evidenciando mobilização de reservas lipídicas (Q), haustório e endosperma evidenciando reservas lipídicas (S), haustório e endosperma evidenciando discreta redução no conteúdo lipídico das células (T). cp: pecíolo cotiledonar, ed.: endosperma, ep: epiderme, gm: meristema fundamental, ha: haustório, me: promeristema, ot: tegumento opercular, pa: parênquima, pc: procâmbio, pd: protoderme, rc: coifa, ro: raiz, s1: primeira bainha foliar, s2: segunda bainha foliar, vb: feixe vascular.

Fonte: Da autora.

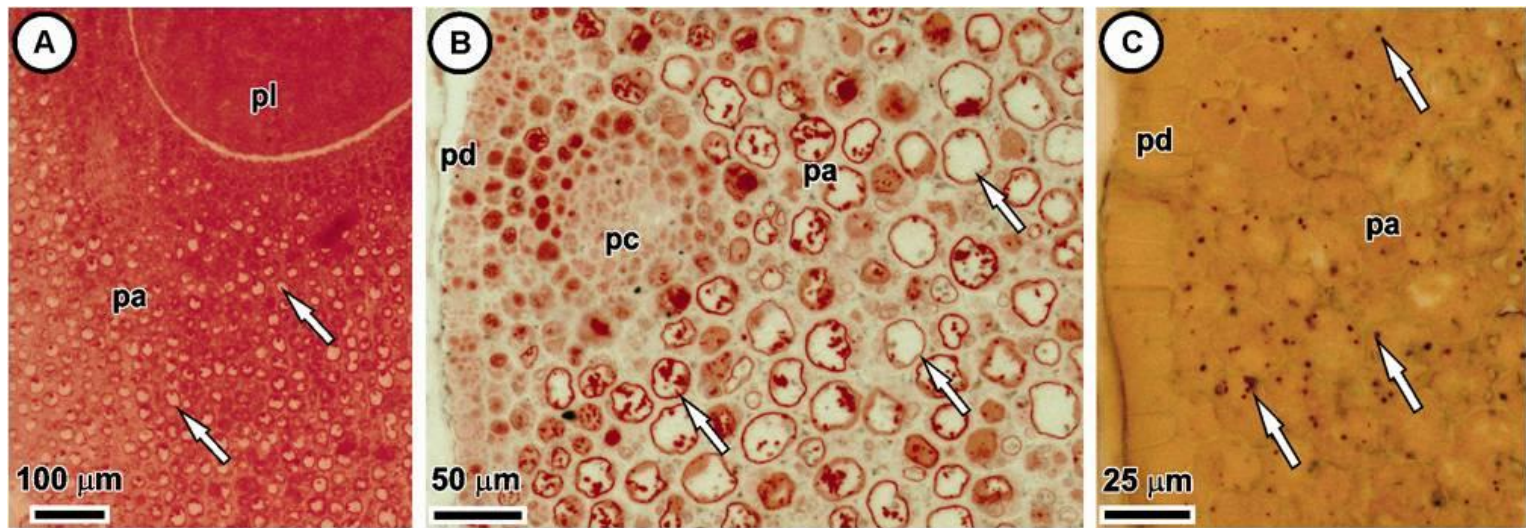


FIGURA 5 - Secções anatômicas em sementes de *Butia capitata* com opérculo. Xilidine Ponceau, coloração vermelha indicativo de proteína (A e B), lugol, coloração roxa indicativo de amido (C). Embriões de sementes, após 10 dias de embebição (A e B), Embriões de sementes após 20 dias de embebição (C). Região proximal do pecíolo cotiledonar, evidenciando mobilização de reservas proteicas em células adjacentes à plúmula (setas) (A), região periférica do haustório destacando mobilização de reservas proteicas com formação de vacúolos em células parenquimáticas próximas aos cordões procambiais (setas) (B), região periférica do haustório mostrando acúmulo de nas células parenquimáticas (setas) (C). pa: parênquima, pc: procâmbio, pd: protoderme, pl: plúmula.

Fonte: Da autora.

Nas sementes não germinadas (em que o opérculo foi mantido), não puderam ser constatadas alterações significativas com relação às reservas após dois dias de embebição. No entanto, após 10 dias da semeadura, foi evidente a mobilização das reservas protéicas no pecíolo cotiledonar, nas regiões adjacentes ao eixo embrionário (FIG. 5A) e especialmente nas células parenquimáticas do haustório, vizinhas aos cordões procambiais (FIG.1B). No haustório das sementes embebidas por 20 dias, ocorreu significativo acúmulo de amido, principalmente nas células do meristema fundamental, localizadas entre a protoderme e os cordões procambiais (FIG. 1C).

4 DISCUSSÃO

As sementes de *B. capitata* apresentam características comuns às sementes de outras palmeiras, como tegumento não lignificado, rico em substâncias fenólicas (MOURA *et al.*, 2010a) e endosperma oleaginoso e não ruminado (LORENZI *et al.*, 2010) e embrião classificado como linear, por representar menos de 1% do volume da semente (BASKIN; BASKIN, 2004; FINCH-SAVAGE; METZGER, 2006). Baskin e Baskin (1998) e Hartmann *et al.* (2002) apontaram Arecaceae como uma família onde comumente ocorre dormência morfológica, em que os embriões, normalmente lineares, precisam crescer no interior da semente antes de conseguir germinar. Além disso, é frequente a consideração sobre a imaturidade do embrião, no que diz respeito ao seu grau de diferenciação, como causa da dormência (OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003). Dessa forma, as sementes de coquinho-azedo candidatam-se a enquadrarem sua dormência como do tipo morfológica. Entretanto trabalhos recentes com *B. capitata* (FIOR *et al.*, 2011, MAGALHÃES *et al.*, 2013) não registraram evidências de limitação à germinação determinada por características estruturais do embrião, sugerindo que a dormência pode ser do tipo fisiológica não profunda (BASKIN; BASKIN, 2004).

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, foi possível corroborar a classificação da dormência em *B. capitata* como fisiológica não profunda, relacionada à incapacidade do embrião em superar a restrição ao crescimento imposta pelos tecidos adjacentes. A estrutura do embrião linear de *B. capitata*, com eixo embrionário microscópico e interno ao pecíolo cotiledonar e ausência de protoderme diferenciada no eixo hipocótilo-radícula, é próxima do descrito para outras palmeiras e não pode ser considerado um obstáculo à germinação (MAGALHÃES *et al.*, 2013). Demason (1988a) afirmou que o polo radicular em *Washingtonia filifera* (L. Linden) H. Wendl. é pouco diferenciado, não sendo possível determinar a inclinação do eixo embrionário. No entanto essa espécie não apresenta dormência, o que indica que o grau de maturidade do embrião na dispersão não é limitante para a germinação. Ribeiro *et al.* (2011b; 2012) mostraram

que, em *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lood. ex. Mart., a pronunciada dormência não está relacionada a aspectos morfoanatômicos do embrião, sendo classificada como fisiológica não profunda.

A restrição ao crescimento do embrião de *B. capitata* está associada principalmente ao número de camadas das células do tegumento e do endosperma micropilar, e não a estruturas celulares específicas, uma vez que o tegumento não é lignificado, conforme evidenciado para *A. aculeata* (MOURA *et al.*, 2010b). As paredes das células do endosperma micropilar não são espessas, ao contrário do que normalmente acontece com outras palmeiras (GONG *et al.*, 2005). Fior *et al.* (2011) constataram que a retirada do opérculo em sementes de *B. capitata* proporcionou 90% de germinação com tempo médio inferior a 10 dias. Os resultados da presente pesquisa corroboram esse estudo, evidenciando que não ocorre crescimento significativo do embrião anterior à germinação e que, nas sementes em que o opérculo não foi retirado, ocorrem eventos indicativos do início da germinação, que não se concretiza apenas devido à restrição imposta pelo opérculo. A atividade meristemática e a proliferação da “zona M” (HACCIUS; PHILIP, 1979), o crescimento do eixo embrionário, o alongamento das células parenquimáticas do cotilédone, o início da diferenciação dos feixes vasculares no haustório, a mobilização de proteínas e o acúmulo de amido indicam que os embriões viáveis iniciam o processo germinativo. Estudos futuros poderão avaliar em embriões inseridos em sementes, em condições naturais, a capacidade de retomar essa atividade ao longo dos ciclos sazonais de hidratação, além de processos que venham a diminuir a resistência do opérculo, favorecendo a germinação.

A germinação é um processo complexo que se inicia com a embebição e termina com o alongamento do eixo embrionário e a emergência da plântula a partir dos tecidos da semente (BEWLEY, 1997; BEWLEY; BLACK, 1994; FINCH-SAVAGE; METZGER, 2006). Embora aspectos morfológicos básicos da germinação das palmeiras sejam amplamente conhecidos (HENDERSON, 2006), pouco se sabe sobre aspectos anatômicos, envolvendo as regiões de crescimento que propiciam a protrusão do pecíolo cotiledonar e o desenvolvimento inicial da plântula (DEMASON; THOMSON,

1981; OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2012). Sementes de *B. capitata* apresentam germinação classificada morfológicamente como remota tubular, *sensu* Martius, onde se observa significativo alongamento do pecíolo cotiledonar, o qual contém o eixo embrionário em sua porção proximal (HENDERSON, 2006). Na presente pesquisa evidenciou-se que, anatomicamente, a germinação na espécie está relacionada a dois eventos distintos: o alongamento das células do cotilédone, especialmente na região de transição entre o pecíolo e o haustório e a proliferação da região “M”, na porção proximal do pecíolo. Ribeiro *et al.* (2012), a partir do estudo com embriões de *A. aculeata* cultivados *in vitro*, apontaram como principal causa anatômica para a germinação nessa espécie o alongamento das células do cotilédone, sendo a atividade da “zona M” restrita. Apesar de não apresentar evidência anatômica, Demason (1984) afirmou que o crescimento do pecíolo cotiledonar em *Phoenix dactylifera* L. está relacionado à existência de meristemas intercalares na base do cotilédone, o que diverge dos resultados obtidos na presente pesquisa. Haccius e Philip (1979) afirmaram que desde os trabalhos pioneiros de Gatin, no início do século XX, considera-se que a proliferação da “zona M” contribuiria com células para a região cortical da raiz. Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem inferir que a função da “zona M” está relacionada ao deslocamento do opérculo, e não à formação da raiz, considerando-se que a sua localização é externa ao promeristema radicular e que ocorre pronunciado crescimento desse meristema anteriormente à protrusão do pecíolo e ao desenvolvimento do eixo embrionário.

As abundantes reservas proteicas e lipídicas observadas no endosperma e no embrião de *B. capitata* também foram relatadas para outras palmeiras (DEMASON, 1988a; DEMASON; THOMSON, 1981; MOURA *et al.*, 2010b; PANZA *et al.*, 2004). No entanto a espécie apresenta algumas peculiaridades. As paredes das células do endosperma são extremamente delgadas, quando comparadas à das outras palmeiras já estudadas, indicando que há pequena reserva de mananos (DEMASON, 1988a; DEMASON; THOMSON, 1981; MOURA *et al.*, 2010b). A presença de amido no embrião de *B. capitata* é incomum e foi relatada apenas para *E. edulis*,

onde é considerada um componente da capacidade de rápida germinação, associada à condição recalcitrante. Além disso, Ribeiro *et al.* (2011a) mostraram que as reservas embrionárias de *B. capitata* são suficientes para sustentar a germinação *in vitro* de embriões isolados. Dessa forma, fica evidenciado o alto nível de diferenciação e especialização do embrião de *B. capitata*, que, no entanto, não possui capacidade de crescimento suficiente para superar a restrição mecânica proporcionada pelo opérculo, o que caracteriza a dormência fisiológica não profunda (BASKIN; BASKIN 2004).

A mobilização das reservas protéicas do embrião seguiu o mesmo padrão descrito para *P. dactylifera* (DEMASON, 1984) e *W. filifera* (DEMASON, 1988b). O início do processo é precoce e pode ser considerado um marcador dos eventos germinativos posteriores à primeira fase da embebição (NONOGAKI *et al.*, 2010). Segundo Demason (1984, 1985), o haustório das palmeiras é o mais desenvolvido, longo e complexo dos vegetais, por atuar na mobilização de reservas lipídicas e por desenvolver estruturas especializadas, como epitélio secretor e aerênquima, a partir de um embrião diminuto. Na presente pesquisa, foi possível encontrar indícios da atividade absorviva do haustório já durante a fase de desenvolvimento da semente e anterior ao período de quiescência, considerando-se que, na semente seca, são evidentes camadas de células do endosperma colapsadas adjacentes à estrutura, o que foi confirmado com estudos com embriogênese em *A. aculeata* (dados não publicados). Também foi possível constatar que a mobilização das reservas endospermicas é posterior à germinação e identificar o desenvolvimento do epitélio secretor do haustório, onde ocorre concentração de proteínas, o estabelecimento da zona de digestão do endosperma e o início da formação do aerênquima, conforme relatado para *P. Dactylifera* (DEMASON *et al.*, 1985).

A partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, é possível concluir que as sementes de *B. capitata* (coquinho azedo) apresentam estruturas morfológicas e anatômicas semelhantes a outras palmeiras. As estruturas do opérculo que envolvem o embrião e impedem a germinação são responsáveis pela dormência fisiológica não profunda em suas sementes. As regiões de transição entre pecíolo e haustório e região "M"

apresentam importante papel na germinação. A mobilização de reservas inicia-se nos embriões durante a embebição e as reservas endospermicas são mobilizadas após a germinação, concomitante ao desenvolvimento de um epitélio secretor, da vascularização e de um aerênquima no haustório.

REFERÊNCIAS

ALANG, Z. C.; MOIR, G. F.; JONES, L. H. Composition, degradation and utilization of endosperm during germination in the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). **Annals of Botany**, v. 61, n. 2, p. 261–268, Fev. 1988.

ALVARENGA, A. A. **Fitohormônios e fitorreguladores**. Lavras: UFLA, 2004. 42 p.

ALVES, M. R. P.; DEMATTE, C. **Palmeiras: características botânicas e evolução**. Campinas: Fundação Cargill. 1987. 129 p.

ANASTÁCIO, M. R.; SANTANA, D. G. Características germinativas de sementes de *Ananas ananassoides* (Baker) L. B. Sm. (bromeliaceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. Maringá, v. 32, n. 2, p. 195-200, abr./jun. 2010.

AQUINO, C. F.; LOPES, P. S. N.; MAGALHÃES, H. M.; SILVA, H. P.; NEVES, J. M. G. Superação da dormência de sementes de coquinho azedo *Butia capitata* (Mart.) Becc. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., 2008, Vitória. **Anais...** Vitória: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008. 1 CD-Rom.

BANDEIRA, F. S. **Cultivo in vitro e embriogenese somática de embriões zigóticos de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Loddiges)**. 2008. 108 p. Tese (Doutorado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. (Ed.). **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 1998.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds**: San Diego: Academic Press, 2001. 666 p.

BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, n. 1, p. 1-16, Mar. 2004.

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

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, n. 7, p. 1055-1066, Jul. 1997.

BRADFORD, K. J. A. Water relations analysis of seed germination rates. **Plant Physiology**, Lancaster, v. 94, n. 2, p. 840-849, Oct. 1990.

BRADFORD, K. J. Water relations in seed germination. In: KIJEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 351-395.

BRADFORD, K. J. Water stress and the water relations of seed development: a critical review. **Crop Science**, v. 34, n. 1, p. 1-11, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: CLAV/DNDV/SNAD/MA, 2009. 365 p.

BROSCHAT, T. K.; DONSELMAN, H. Effects of maturity, storage, presoaking, and seed cleaning on germination in three species of palms. **Journal Environmental Horticulture**, v. 5, n. 1, p. 6-9, Mar. 1987.

BROSCHAT, T. K. Endocarp removal enhances *Butia capitata* (Mart.) Becc.(Pindo Palm) seed germination. **HorTechnology**, v. 8, n. 4, p. 586- 587, Oct. 1998.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Eds.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2008. Parte 3, Cap. 9, p. 149-162.

COSTA, C. J.; MARCHI, E. C. S. As palmeiras e a produção de biodiesel. **Página Rural**, Porto Alegre, 16 set. 2008.

DEMASON, D. A. Embryo structure and storage reserve histochemistry in the palm, *Washingtonia filifera*. **American journal of botany**, v. 75, n. 3, p. 330-337, Mar.1988a.

DEMASON, D. A. Growth parameters in the cotyledon of date seedlings. **Botanical Gazette**, v. 145, n. 2, p. 176–183, Jun. 1984.

DEMASON, D. A. Histochemical and ultrastructural changes in the haustorium of date (*Phoenix dactylifera*). **Protoplasma**, v. 126, n. 3, p. 168-177, 1985.

DEMASON, D. A. Seedling development in *Washingtonia filifera* (Arecaceae). **Botanical Gazette**, v. 149, n. 1, p. 45–56, Mar. 1988b.

DEMASON, D. A.; SEXTON, R.; GORMAN, M.; REID, J. S. G. Structure and Biochemistry of endosperm breakdown in date palm (*Phoenix dactylifera*) seeds. **Protoplasma**, v. 126, n. 3, p.159-167, 1985.

DEMASON, D. A.; THOMSON, W. W. Structure and ultrastructure of the cotyledon of date palm (*Phoenix dactylifera* L.). **Botanical gazette**, v. 142, n. 3, p. 320-328, Sep. 1981.

FARIA, J. P.; ARELLANO, D. B.; GRIMALDI, R.; SILVA, L. C. R.; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização química da amêndoa de coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 549-552, jun. 2008.

FERNANDES, R. C. **Estudos propagativos do coquinho azedo (*Butia Capitata* (Mart.) Becc) Arecaceae**. 2008. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2008.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI. Interpretação dos resultados de Germinação. In: _____. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. Parte 4, Cap. 13, p. 209-224.

FERREIRA, G.; GUIMARAES, V. F.; PINHO, S. Z.; OLIVEIRA, M. C.; RICHART, A.; BRAGA, J. F.; DIAS, G. B. Curva de Absorção de Água em Sementes de Atemóia (*Annona cherimola* MILL. x *Annona squamosa* L.) CV. GEFNER. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 121-124, abr. 2006.

FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Beneficiamento, pré-tratamento e germinação de sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer - Arecaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2006, Belém. **Anais...** Belém: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2006.

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

FIOR, C. S.; RODRIGUES, L. R.; LEONHARD, C.; SCHWARZ, S. F. Superação de dormência em sementes de *Butia capitata*. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1150-1153, 2011.

FONSECA, R. S.; SIMÕES, M. O. M. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) no Norte de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 2006. **Anais...** Caxambu: Sociedade de Ecologia do Brasil, 2006.

GALLARDO, K.; JOB, C.; GROOT, S. P. C.; PUYPE, M.; DEMOL, H.; VANDEKERCKHOVE, J.; JOB, D. Proteomic analysis of Arabidopsis seed germination and priming. **Plant Physiology**, 126, n. 2, 835-848, Jun. 2001.

GARCIA, J. L.; TRONCOSO, J.; SARMIENTO, R.; TRONCOSO, A. 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.

GONG, X.; BASSEL, G. W.; WANG, A.; GREENWOOD, J. S.; BEWLEY, J. D. The emergence of embryos from hard seeds is related to the structure of the cell walls of the micropylar endosperm, and not to endo-b-mannanase activity. **Annals of Botany**, v. 96, p. 1165-1173, Set. 2005.

HACCIUS, B.; PHILIP, V. J. Embryo development in *Cocos nucifera* L.: a critical contribution to a general understanding of palm embryogenesis. **Plant Systematics and Evolution**, v. 132, p. 91-106, 1979.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant Propagation: principles and practices**. Prentice Hall, New Jersey, 2002. p. 199-220.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field guide to the palms of the Américas**. USA: Princeton University, 1995.

HENDERSON, F. Morphology and anatomy of palm seedlings. **The botanical review**, v. 72, n. 4, p. 273-329, Oct. 2006.

HU, C. Y.; FERREIRA, A. G. Cultura de embriões: In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa, 1998. Parte 2, p. 371-393.

JOHANSEN, D. A. **Plantmicrotechnique**. New York: McGraw Hill Book Company, 1940.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixate of high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.

MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; FONSECA, R. S.; RIBEIRO, L. M.; NUNES, Y. R. F. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae) em uma área de cerrado no norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica**, v. 8, p. 143-149, 2006.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination: still a mystery. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 574-581, Dec. 2010.

LIMA, E. S. Diversity, structure and spatial distribution of palms in a Cerrado sensu strictu in Central Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 3, p. 361-370, set. 2003.

LOPES, P. S. N.; AQUINO, C. F.; MAGALHAES, H. M.; BRANDAO JUNIOR, D. S. Tratamentos físicos e químicos para superação de dormência em sementes de *Butia capitata* (Martius) Beccari. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 41, n. 1, p. 120-125, jan./mar. 2011.

LORENZI, H.; NOBLICK, L.; KAHN, F., FERREIRA, E. **Flora brasileira Lorenzi: Arecaceae (palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2010, 384 p.

MAGALHÃES, H. M.; CATÃO, H. C. R. M.; SALES, N. L. P.; LIMA, N. F.; LOPES, P. S. N. Qualidade sanitária de sementes de coquinho-azedo (*Butia capitata*) no Norte de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2371-2374, nov. 2008.

MAGALHÃES, H. M. **Dormência e germinação de coquinho-azedo: substâncias inibidoras nos pirênios e morfoanatomia dos embriões e de plântulas**. 2011. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2011.

MAGALHÃES, H. M.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; SANT'ANNA-SANTOS, B. F.; OLIVEIRA, D. M. T. Structure of the zygotic embryos and seedlings of *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, v. 27, n. 1, p. 273-283, Feb. 2013.

MANZ, B.; MÜLLER, K.; KUCERA, B.; VOLKE, F.; LEUBNER-METZGER, G. Water uptake and distribution in germinating tobacco seeds investigated in vivo by nuclear magnetic resonance imaging. **Plant Physiology**, n. 138, p. 1538–1551, 2005.

MARCATO, A. C.; PIRANI, J. R. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: palmas (Arecaceae). **Boletim de Botânica (USP)**, v. 24, n. 2, p. 1-8, 2006.

MARTINS, E. R. **Projeto Conservação de recursos genéticos de espécies frutíferas nativas do Norte Mineiro**: coleta, ecogeografia e etnobotânica. Montes Claros: UFMG, 2003. 76 p. (Relatório Institucional).

MOURA, E. F.; VENTRELLA, M. C.; MOTOIKE, S. Y. Anatomy, histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 4, p. 339-407, ago. 2010a.

MOURA, R. C. **Caracterização vegetativa e reprodutiva do coquinho azedo, *Butia capitata* (Martius) Beccari (Arecaceae), no norte de Minas Gerais**. 2008. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2008.

MOURA, R. C.; LOPES, P. S. N.; BRANDAO JUNIOR, D. S.; GOMES, J. G.; PEREIRA, M. B. Biometria de frutos e sementes de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no Norte de Minas Gerais, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 2, p. 415-419, 2010b.

NASCIMENTO, W. M. **Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004. 12 p. (Circular Técnica, 33).

NEUWALD, D. A.; GIEHL, R. F. H.; PINTO, J. A. V.; SESTARI, I.; BRACKMANN, A. Caracterização das curvas de respiração e síntese de etileno de frutos de *Psidium cattleianum* Sabine. e de *Butia capitata* (Mart.) Becc. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 6.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 5., 2004, Pelotas. **Anais...** Pelotas: EMBRAPA, 2004.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368-373, 1964.

O'BRIEN, T. P.; McCULLY, M. E. **The study of plant structure principles and select methods**. Melbourne: Termarcarphi Pty, 1981. 45 p.

OROZCO-SEGOVIA, A.; BATIS, A. I.; ROJAS-ARÉCHIGA, M.; MENDOZA, A. Seed biology of palms: a review. **Palms**, Miami, v. 47, n. 2, p. 79-94, 2003

PÉREZ, H. E.; CRILEY, R. A.; BASKIN, C. C. Promoting germination in Dormant Seeds of *Pritchardia remota* (Kuntze) Beck., an endangered palm endemic to Hawaii. **Natural Areas Journal**, v. 28, 2008.

PAIVA, E. A. S.; PINHO, S. Z; OLIVEIRA, D. M. T. Large plant samples: how to process for GMA embebiton? In: CHIARINI-GARCIA, H.; MELO, R. C. N. (Eds.) **Light microscopy: methods and protocols**. Totowa: Humana Press, 2011.

PANZA, V.; LAINEZ, V.; MALDONADO, S. Seed structure and histochemistry in the palm *Euterpe eulis*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 145, n. 4, p. 445-453, Aug. 2004.

PANZA, V.; PIGHIN, D.; LÁINEZ, V.; POLLERO, R. J.; MALDONADO, S. Storage lipids and proteins of *Euterpe edulis* seeds. **Biocell**, v. 33, n. 2, p. 99-106, Aug. 2009.

PEREIRA, E. W. L.; RIBEIRO, M. C. C.; SOUZA, J. O.; LINHARES, P. C. F.; NUNES, G. H. S. Superação de dormência em sementes de jiterana (*Merremia aegyptia* L.). **Revista Caatinga**, v. 20, n. 2, p. 59-62, abr./jun. 2007.

PINEDO, G. J. V.; FERRAZ, I. D. K. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* [Benth ex Walp]: sementes com dormência física de árvore da Amazônia. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 39-49, fev. 2008.

REITZ, R. Palmeiras. In: _____. (Ed.). **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1974.

RIBEIRO, L. M. **Estudos estruturais e fisiológicos sobre a germinação da macaúba [Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. Ex. Mart. (Arecaceae)]**. 2010. 100 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010a.

RIBEIRO, L. M.; OLIVEIRA, D. M. T.; GARCIA, Q. S.; NEVES, S. C. Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 4, p. 361-368, abr. 2010b.

RIBEIRO, L. M.; OLIVEIRA, D. M. T.; GARCIA, Q. S. Structural evaluations of zygotic embryos and seedlings of the macaw palm (*Acrocomia aculeata*, Arecaceae). **Trees**, v. 26, p. 659-672, 2012.

RIBEIRO, L. M.; NEVES, S. C.; SILVA, P. O.; ANDRADE, I. G. Germinação de embriões zigóticos e desenvolvimento *in vitro* de coquinho-azedo. **Revista Ceres**, v. 58, n. 2, p. 133-139, mar./abr. 2011a.

RIBEIRO, L. M.; SOUZA, P. P.; RODRIGUES, A. G.; OLIVEIRA, T. G. S.; GARCIA, Q. S. Overcoming dormancy in macaw palm diaspores, a tropical species with potential for use as bio-fuel. **Seed Science and Technology**, v. 39, p. 303-317, 2011b.

ROBERTO, G. G.; COAN, A. I.; HABERMANN, G. Water content and GA(3)-induced embryonic cell expansion explain *Euterpe edulis* seed germination, rather than seed reserve mobilization. **Seed Science and Technology**, v. 39, n. 3, p. 559-571, 2011.

ROBERTO, G. G.; HABERMANN, G. Morphological and physiological responses of the recalcitrant *Euterpe edulis* seeds to light, temperature and gibberellins. **Seed Science and Technology**, v. 38, n. 2, p. 367-378. 2010.

ROSA, L.; CASTELLANI, T. T.; REIS, A. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Martius) Beccari var. *odorata* (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, n. 3, p. 281-287, 1998.

ROSSATO, M.; BARBIERI, R. L. Estudos etnobotânicos de palmeiras do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 1, p. 997-1000, fev. 2007.

SARMENTO, M. B.; VILLELA, F. A. Sementes de espécies florestais nativas do Sul do Brasil. **Informativo ABRATES**, v. 20, n. 1-2, p. 39-44, 2010.

SILVA, P. A. D. **Ecologia populacional e botânica de *Butia capitata* (Mart.) Beccari no cerrado no Norte de Minas Gerais**. 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia). Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Brasília, 2008.

SILVA, S. R. **Plantas do cerrado utilizadas pelas comunidades da região do Grande Sertão Veredas**. Brasília, DF: Fundação Pró-Natureza-FUNATURA, 1998. 109 p.

SODRÉ, J. B. **Morfologia das palmeiras como meio de identificação e uso paisagístico**. 2005. 62 p. Monografia (Especialização em Plantas Ornamentais e Paisagismo) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005
SPERA, M. R. N.; CUNHA, R.; TEIXEIRA, J. B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF., v. 36, n. 12, p. 1567-1572, dez. 2001.

TZEC-SIMA, M. A.; ORELLANA, R.; ROBERT, M. L. *In vitro* rescue of isolated embryos of *Bactris major* Jacq. and *Desmoncus orthocanthos* Mart., potentially useful native palms from the Yucatan Peninsula (Mexico). ***In vitro cellular and developmental Biology – Plant***, v. 42, n. 1, p. 54-58, Jan. 2006.

VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, C. Dynamics of imbibition by soybean embryos. ***Plant Physiology***, v. 72, n. 1, p. 190-193, May, 1983.

WESTGATE, M. E. Water status and development of the maize endosperm and embryo during drought. ***Crop Science***, v. 34, n. 1, p. 76-83, 1994.