

DIEMESSON SAN TIAGO MENDES

GERMINAÇÃO E ARMAZENABILIDADE DE SEMENTES DE PEQUIZEIRO

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal
Orientador: Paulo Sérgio Nascimento Lopes
Coorientador: Leonardo Monteiro Ribeiro

Montes Claros, MG

Fevereiro de 2015

M538g Mendes, Diemesson. San Tiago
2015

Germinação e armazenabilidade de sementes de pequiheiro / Diemesson San Tiago Mendes. Montes Claros: Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.

72 f.: il.

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

Orientador: Paulo Sérgio Nascimento Lopes.

Banca examinadora: Leonardo Monteiro Ribeiro, Delacyr da Silva Brandão Junior, Marlon Cristian Toledo Pereira, Maria Olívia Mercadante Simões

Inclui bibliografia: f. 65-72.

1. Pequiheiro - Dormência 2.Sementes - Deterioração 3. Sementes - Viabilidade I. Lopes, Paulo Sérgio Nascimento. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Germinação e armazenabilidade de sementes de pequiheiro.

CDU: 631.53

DIEMESSON SAN TIAGO MENDES

GERMINAÇÃO E ARMAZENABILIDADE DE SEMENTES DE PEQUIZEIRO

Prof. Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes
(Orientador UFMG/ICA)

Aprovada em 26 de fevereiro de 2015

Montes Claros, 2015

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me guiado e me dado força durante toda a vida.

A minha mãe, Joanita, por ser minha fonte de inspiração na realização desse sonho.

A minha namorada Lidiane, por estar ao meu lado dando-me apoio nos momentos bons e ruins.

A toda minha família, pelo incentivo e força oferecidos nos momentos mais difíceis, aos meus irmãos, tios, primos e avós que sempre acreditaram em mim.

Ao meu orientador, professor Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes, pelas oportunidades oferecidas, pelos conselhos, conhecimento repassado e construído e pela convivência ao longo de todo este tempo.

Ao meu coorientador, prof. Dr. Leonardo Monteiro Ribeiro, pela colaboração e empenho no trabalho.

A todos os membros do GEFEN (Grupo de Estudos em Frutíferas Exóticas e Nativas), que colaboraram muito para a realização deste trabalho (Ângela, Armando, Éverson, Ianina, Levi, Monielly, Nayara, Tiago e Vander).

Ao Instituto de Ciências Agrárias, pelo conhecimento repassado através do corpo docente e funcionários.

À CAPES, à UFMG, à UNIMONTES e a todos que contribuíram de forma direta ou indireta para a concretização deste trabalho, muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

FIGURA 1. Metodologia utilizada para obtenção das sementes isoladas. A) Pirênio sendo lixado ao longo da sua circunferência no motoesmeril; B) Pirênio prensado no torno manual de bancada, para fissura na região do hilo; C) Detalhe do alicate com chapa adaptada/soldada na ponta D) Alicates realizando a abertura do endocarpo; E) Uso da pinça para retirada da semente do endocarpo; F) Sementes intactas retiradas por este processo. 27

FIGURA 2. Precipitação (mm) e temperatura (oC) máxima, mínima e média no período de fevereiro de 2013 a dezembro de 2014. 31

FIGURA 3. Inviabilidade inicial dos pirênios, antes do plantio (A), germinabilidade - GER, mortalidade - MOR e índice de velocidade de germinação - IVG (B) e concentração de malonaldeído - MDA (C) de sementes isoladas de pequi armazenadas dentro do pirênio. 35

FIGURA 4. Coloração do tegumento das sementes de pequi após 05, 40, 150, 240 e 360 dias de armazenamento em condições naturais de galpão seco, fresco e arejado. 36

FIGURA 5. Emergência mensal de pirênios de pequi plantados em fev/13, junho/13, set/13 e dez/13, em câmara de germinação (BOD) (A), casa de vegetação (CAV) (B) e em pleno sol (SOL) (C) e emergência total (D), índice de velocidade de emergência (E) e mortalidade (F) após um ano do plantio destes. 38

FIGURA 6. Emergência acumulada (A) durante um ano após o semeio e mortalidade (B) avaliada aos 120, 210, 300 e 330 dias pós-plantio de pirênios de pequi, sobre condições de câmara de germinação - BOD, casa de vegetação - CAV e a pleno sol - SOL. 41

FIGURA 7. Plântulas de pequiheiro com caule morto, após o período 42

CAPÍTULO 3

FIGURA 1. Teores de água de sementes de *Caryocar brasiliense* obtidas de pirênios armazenados em galpão, a temperatura ambiente..... 53

FIGURA 2. Teores de água e percentual de germinação de sementes isoladas e sementes extraídas de pirênios de *Caryocar brasiliense* recém dispersos (A) e armazenados (B), imersos em água ou incubados em germinador, a 30°C (BOD), ou canteiro, em casa de vegetação (CAV)..... 55

FIGURA 3. Condutividade elétrica de sementes de *Caryocar brasiliense* extraídas de pirênios recém dispersos e armazenados por 330 dias, em galpão, a temperatura ambiente. 56

FIGURA 4. Concentrações dos hormônios ABA e GAs (GA1, GA4, GA9, GA19, GA20 e GA24) em plúmula e radícula de embriões de *Caryocar brasiliense* extraídos de pirênios recém dispersos, armazenados em galpão, à temperatura ambiente, por 330 dias, ou semeados em canteiro, em casa de vegetação, à temperatura ambiente. 57

FIGURA 5. Percentual de emergência de plântulas (A), índice de velocidade de emergência (B) e percentual de mortalidade de sementes, extraídas de pirênios (C) de *Caryocar brasiliense*, previamente armazenados por 90 ou 450 dias, em galpão, temperatura ambiente e posteriormente submetidos à imersão em soluções com diferentes concentrações de GA₃ e semeados em canteiro, em casa de vegetação, à temperatura ambiente, por 210 dias. 58

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1. Média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) do número sementes de extraídas (NS), porcentagem de sementes sem danos físicos (SD) e porcentagem de germinação das sementes isoladas e visivelmente viáveis (G), retiradas durante uma hora..... 34

CAPÍTULO 3

TABELA 1. Percentual de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência (IVE) e mortalidade das sementes obtidas de pirênios de Caryocar brasiliense, previamente armazenados por 90 ou 450 dias, em galpão, em temperatura ambiente posteriormente submetidos a tratamentos germinativos antes da fase II da germinação e semeados em canteiro, em casa de vegetação, à temperatura ambiente, por 210 dias..... 59

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Pequiizeiro	13
2.2 Dormência em sementes	14
2.3 Germinação.....	16
2.4 Armazenamento, envelhecimento e deterioração de sementes.....	18
CAPÍTULO 2. EXTRAÇÃO, GERMINAÇÃO E LONGEVIDADE EM SEMENTES DE PEQUIZEIRO (CARYOCAR BRASILIENSE).....	21
1. INTRODUÇÃO.....	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1 Coleta do material vegetal	25
2.2 Método de extração de sementes de pequiizeiro	26
2.3 Experimento I: Germinação, mortalidade e peroxidação de lipídeos em sementes de pequiizeiro armazenadas por quatro períodos.....	28
2.4 Experimento II. Germinabilidade e mortalidade de sementes em pirênios de pequiizeiro semeados em condição natural e controlada após períodos de armazenamento	30
2.5 EXPERIMENTO III: LONGEVIDADE DE SEMENTES DE PEQUIZEIRO SEMEADAS EM CONDIÇÃO NATURAL E CONTROLADA	32
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1 Método de extração de sementes de pequiizeiro	33
3.1 Experimento I: Germinação, mortalidade e peroxidação de lipídeos em sementes de pequiizeiro armazenadas por quatro períodos.....	34
3.2 Experimento II. Germinabilidade e mortalidade de sementes em pirênios de pequiizeiro semeados em condição natural e controlada após períodos de armazenamento	37
3.3 Experimento III: Longevidade de sementes de pequiizeiro semeadas em condição natural e controlada.....	40

4 CONCLUSÃO	43
CAPÍTULO 3. SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA E QUALIDADE DAS SEMENTES EM PIRÊNIOS DE CARYOCAR BRASILIENSE (CARYOCARACEAE)	44
1. INTRODUÇÃO	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	48
2.1 Coleta do material vegetal, teste de germinação inicial e definição da curva de desidratação pós-abscisão	48
2.2 Efeitos do armazenamento e do endocarpo na absorção de água e na germinação	49
2.3 Efeitos do armazenamento sobre a qualidade fisiológica das sementes.	50
2.4 Níveis endógenos de ABA e GAs	51
2.5 Efeito do GA ₃ sobre a germinação a partir de pirênios	52
3. RESULTADOS	53
3.1 Coleta do material vegetal, teste de germinação inicial e definição da curva de desidratação pós-abscisão	53
3.2 Efeitos do armazenamento e do endocarpo na absorção de água e na germinação	53
3.3 Efeitos do armazenamento sobre a qualidade fisiológica das sementes.	55
3.4 Níveis endógenos de ABA e GAs	56
3.5 Efeito do GA ₃ sobre a germinação a partir de pirênios	58
4 DISCUSSÃO	60
REFERÊNCIAS	65

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO

O pequiheiro *Caryocar brasiliense* (Camb.) é uma árvore frutífera nativa do Cerrado brasileiro (BARRADAS *et al.*,1973). Seus frutos são explorados quase que exclusivamente por meio do extrativismo e utilizados para o consumo *in natura* e na produção de licores, conservas, doces, sorvetes e pratos típicos (ARAÚJO, 1995; LOPES *et al.*,2003; SILVA *et al.*,2013). Os múltiplos usos dos frutos tornam esta espécie uma fonte de renda e emprego, o que lhe confere elevada importância econômica e social nos locais onde ela ocorre (ARAÚJO, 1995; LOPES *et al.*,2003).

A quantidade de plantas de pequiheiro encontradas em condições naturais de Cerrado tem sido cada vez menor, principalmente no que refere a indivíduos jovens (LEITE *et al.*,2012). O extrativismo intenso dos frutos e a expansão da agropecuária sobre as áreas de Cerrado são mencionados como as principais causas desta redução. Além disso, as sementes possuem dormência, o que torna a germinação lenta, desuniforme e em baixos percentuais (SOUZA *et al.*,2007; LEÃO *et al.*,2012; MOURA *et al.*,2013), dificultando a produção de mudas para a implantação de pomares comerciais, domesticação da espécie, implantação de bancos de germoplasma e o desenvolvimento de outras estratégias que poderiam contribuir para a conservação deste recurso.

A dormência das sementes de pequiheiro é frequentemente atribuída à existência de um endocarpo rígido, o qual impõe restrição mecânica ao crescimento do embrião (SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010). No entanto, os incrementos germinativos obtidos após a retirada do endocarpo são variáveis entre os trabalhos, sendo, ainda, pouco expressivos em alguns, o que leva os autores a sugerirem a presença de inibidores da germinação no próprio embrião (SÁ e CARVALHO *et al.*,1994; SILVA E MEDEIROS FILHO, 2006; SOUZA *et al.*,2007; BERNARDES *et al.*,2008; MOURA *et al.*,2013), gerando dúvidas até mesmo quanto a eficiência dos métodos utilizados para a retirada desta estrutura. Portanto, ainda não há uma definição clara sobre as causas da dormência na espécie, uma vez que essa pode ser produto de

um desbalanço hormonal no embrião e/ou da presença de um endocarpo rígido no pirênio, o qual pode restringir a entrada de água e as trocas gasosas e também bloquear mecanicamente o crescimento do embrião (BASKIN e BASKIN, 2014).

Outro fator que afeta a germinação das sementes é a capacidade em manter a sua qualidade fisiológica ao longo do tempo (BEWLEY *et al.*, 2013, LONG *et al.*, 2014). A tolerância à desidratação e a susceptibilidade à degradação de reservas lipídicas são as causas intrínsecas mais importantes que determinam a capacidade das sementes de serem armazenadas para uso na propagação e de formarem bancos de sementes no solo (HONG e ELLIS, 1996; BEWLEY *et al.*, 2013; TWEDDLE *et al.*, 2003). As sementes de *C. brasiliense* são oleaginosas (BARRADAS, 1973) e dispersas com mais de 38% de umidade (SILVA *et al.*, 2013), o que as tornam potencialmente vulneráveis à deterioração (BEWLEY *et al.*, 2013). Apesar disso, os efeitos destas variáveis sobre a qualidade fisiológica das sementes ao longo do tempo ainda não são conhecidos (MOURA *et al.*, 2013) e, talvez por este motivo, o período compreendido entre o armazenamento das sementes até a realização dos experimentos tem sido frequentemente negligenciado em estudos com esta espécie (SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010).

Tratamentos envolvendo o uso de giberelina (GA3) são os que apresentam os melhores índices germinativos nos pirênios de pequi, sendo que índices ainda maiores são obtidos quando esse fito-hormônio é aplicado em sementes sem o endocarpo (SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010). Contudo, o processo de retirada do endocarpo é trabalhoso e pode provocar danos ao embrião (BERNARDES *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010) e, além disso, o GA3 é caro e relativamente difícil de ser encontrado no mercado. Em algumas espécies, tratamentos pré-germinativos envolvendo fitorreguladores têm sua eficiência aumentada quando aplicados na fase II da embebição (ROBERTO HABERMANN, 2010). No entanto, no caso do pequi, não se conhece o padrão de embebição das sementes e dos pirênios, muito menos o efeito da aplicação de GA3 nesta fase. Assim, tornam-se necessários estudos que

abordem esta temática, a fim de que se possa melhorar o índice germinativo da espécie, bem como reduzir os gastos com o uso de GA3.

Portanto, os objetivos desse trabalho foram: 1) Desenvolver uma nova metodologia para a extração da semente do interior do pirênio; 2) Avaliar os efeitos do armazenamento e semeadura sobre a viabilidade das sementes de pequizeiro; 3) Definir o padrão de absorção de água pelas sementes e a interferência do endocarpo nesse processo e na germinação; 4) Quantificar as concentrações e a relação entre os principais hormônios envolvidos no controle da germinação: ácido abscísico (ABA) e giberelinas (GAs) e; 5) Propor metodologias eficientes na superação da dormência do pequizeiro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Pequizeiro

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) é uma frutífera arbórea, perene, da família Caryocaraceae, nativa do Cerrado do brasileiro (ALMEIDA *et al.*,1998) e está presente nos estados de Goiás, Mato Grosso, São Paulo, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (LORENZI *et al.*,2006). É uma árvore frondosa e pode ultrapassar 10 m de altura (LOPES *et al.*,2006; CORREA *et al.*,2008). O fruto é drupóide, de cor verde, com exocarpo coriáceo, envolvendo de uma a quatro sementes reniformes, mesocarpo carnoso com uma camada aderida ao exocarpo e outra a um endocarpo lenhoso, recoberto por uma camada de espinhos finos e rígidos, com 2 a 5 mm de comprimento e por um mesocarpo amarelo-claro e carnoso (BARRADAS *et al.*,1973; SILVA *et al.*,1992, ALMEIDA *et al.*,1998). O nome pequi ou piqui tem origem indígena, significando: py = pele, casca e qui = espinho, isto é, “casca espinhenta”, referindo-se aos espinhos do endocarpo que envolvem a semente (MACEDO, 2005).

Os frutos do pequizeiro são consumidos *in natura* e utilizados na fabricação de conservas, óleos, farinhas, pratos típicos, licores e sorvetes (ARAÚJO, 1995). Além disso, em razão da presença de vitamina A e C, tiamina, proteínas e sais minerais, o óleo extraído dos frutos é utilizado na medicina popular (RIBEIRO, 1996; BRANDÃO *et al.*,2002) e tem potencial aplicação na indústria farmacêutica e de cosméticos (PIANOVSKI *et al.*,2008). A porcentagem de óleo no mesocarpo (polpa) e na semente de pequizeiro é de 33,4 e 51,5%, respectivamente (LIMA *et al.*,2007).

A exploração do pequizeiro é feita predominantemente por meio do extrativismo e os múltiplos usos dos frutos fazem desta espécie uma importante fonte de renda e emprego nos locais onde ela ocorre (ARAÚJO, 1995; POZO, 1997; LOPES *et al.*, 2003; CARRARA, 2007; OLIVEIRA, 2009). O pequizeiro ocorre em quase 2.000 municípios e estima-se que cerca de 40.000 coletores praticam o extrativismo de seus frutos no período de safra (KERR *et al.*,2007). Em alguns locais, a renda obtida com o pequi

ocorre em uma época justamente em que os excedentes da produção de espécies anuais cultivadas no ano anterior estariam tornando-se escassos e a produção correspondente à safra seguinte ainda não teria sido colhida. Por isso, além de contribuir nas despesas diárias da família, a renda obtida com a venda do pequi serve para cobrir gastos relacionados com a lavoura de culturas anuais, evidenciando a importância desta espécie principalmente para pequenos produtores (POZO, 1997).

Contudo, a quantidade de plantas de pequizeiro encontradas em condições naturais de Cerrado tem sido cada vez menor, especialmente no que se refere a indivíduos jovens (LEITE *et al.*,2012). O extrativismo intenso dos frutos, em decorrência da elevada demanda no mercado, e a expansão da agropecuária em grandes propriedades para a implantação de culturas e pastagens, são apontados como as principais causas desta redução (LEITE *et al.*,2012). Além disso, as sementes apresentam o fenômeno da dormência, que faz com que a germinação seja lenta, desuniforme e ocorra em baixos percentuais (SOUZA *et al.*,2007; DOMBROSKI *et al.*,2010; MOURA *et al.*,2013), dificultando, ainda, a produção de mudas para a implantação de pomares comerciais, de bancos de germoplasma e o desenvolvimento de outras estratégias que poderiam contribuir para a conservação deste recurso.

2.2 Dormência em sementes

Por definição, uma semente dormente é aquela que não tem a capacidade de germinar, num determinado período de tempo, sob qualquer combinação de fatores (temperatura, umidade, oxigênio) (BASKIN E BASKIN, 2004). Destaca-se, ainda, que a dormência é um dos fenômenos menos compreendidos no campo da biologia de sementes (HILHORST, 1995; BEWLEY, 1997; FINKELSTEIN *et al.*,2008), no entanto, o que parece claro, é que esse fenômeno evoluiu de forma diferente entre as espécies, por meio de adaptação ao ambiente predominante, de modo que a germinação ocorre, provavelmente, quando as condições para o estabelecimento de uma nova geração de plantas são adequadas (BASKIN E BASKIN 2014).

A existência de inibidores e promotores de germinação é frequentemente associada ao potencial germinativo das sementes (BASKIN e BASKIN, 2014). Entre os inibidores da germinação, destaca-se o ácido abscísico (ABA), o qual exerce papel proeminente no estabelecimento da dormência (HILHORST, 1995; KERMODE, 2005). Este fito-hormônio, durante o desenvolvimento da semente, inibe a germinação precoce e, em diversas situações, durante a maturação, induz à dormência primária (NAMBARA *et al.*, 2010). Já entre os promotores da germinação, ressaltam-se as giberelinas (GAs), que atuam na síntese de enzimas envolvidas no enfraquecimento dos envoltórios, na mobilização de reservas e no aumento do potencial de crescimento do embrião, favorecendo a quebra da dormência (BEWLEY E BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; KUCERA *et al.*, 2005) e, dessa forma, conferindo às giberelinas efeito antagonico ao do ABA (SEO *et al.*, 2009). Por este motivo, a relação entre estes fito-hormônios é frequentemente associada à dormência ou à germinação (ALI-RACHEDI *et al.*, 2004), de maneira que a manutenção de dormência depende de altas proporções ABA:GA, enquanto sua liberação envolve aumento na biossíntese de GA e/ou degradação de ABA, o que resulta em baixas proporções ABA:GA (CADMAN *et al.*, 2006).

Baseados nos mecanismos de dormência das sementes e na resposta germinativa a algumas intervenções, Baskin e Baskin (2004) propõem um sistema que classifica a dormência em cinco classes, a saber: fisiológica, morfológica, física, morfofisiológica e a combinação entre física e fisiológica. No que tange à dormência fisiológica, essa ocorre devido à incapacidade do embrião em romper a resistência imposta pelas camadas adjacentes. Essa é a classe de dormência mais comumente encontrada, podendo ser subdivida nos níveis profundo, intermediário e não profundo, de acordo com a resposta germinativa do embrião excisado, após o tratamento da semente com GA3 e após a estratificação. Caso a dormência seja classificada como fisiológica, nível não profundo, essa pode, ainda, ser subdividida em tipos, de acordo com seu comportamento em função da temperatura. Já a classe de dormência morfológica ocorre em sementes com embrião imaturo, o qual já se encontra diferenciado (hipocótilo-radícula distintos), porém subdesenvolvido. Em geral, sementes com esta classe de

dormência necessitam de um tempo para que o embrião cresça e germine. Quanto à dormência física, essa ocorre devido à impermeabilidade total da semente à água, geralmente conferida pelas camadas adjacentes, o que impede a reativação do seu metabolismo e, conseqüentemente, a germinação. As outras duas classes são decorrentes da combinação entre a dormência fisiológica com a morfológica (morfofisiológica), e entre a dormência fisiológica com a física (BASKIN E BASKIN, 2004).

Para Dombroski *et al.*, (2010) a dormência do pequiizeiro é fisiológica, em função da presença do endocarpo. Entretanto, o êxito germinativo obtido por esses autores, após a retirada dessa estrutura, foi de apenas 32% quando as sementes não receberam tratamento com GA3, e de 54% quando as sementes foram tratadas com esse fito-hormônio, o que pode indicar a presença de inibidores de germinação no próprio embrião, também sugerida por outros autores (SÁ e CARVALHO *et al.*,1994; SILVA E MEDEIROS FILHO, 2006; SOUZA *et al.*,2007; MOURA *et al.*,2013). Portanto, não há uma definição clara sobre as causas da dormência na espécie, contudo, parece que um desbalanço hormonal no embrião e a presença de um endocarpo rígido no pirênio podem atuar, concomitantemente, na manutenção das sementes de pequiizeiro em estado de dormência. Tal fato evidencia a necessidade de estudos que esclareçam as funções do endocarpo e a relação entre promotores e inibidores da germinação nas sementes de pequiizeiro.

2.3 Germinação

Essencialmente, a germinação inicia-se com a absorção de água pela semente e termina com o alongamento do eixo embrionário (BEWLEY *et al.*, 2013). Esse processo segue um padrão trifásico, no qual a fase I ocorre de forma rápida e independente da viabilidade ou dormência da semente (BEWLEY e BLACK 1994; NONOGAKI *et al.*,2010; BEWLEY *et al.*, 2013). Nessa fase, ocorre a reidratação dos tecidos e, conseqüentemente, a intensificação da respiração e de todas as outras atividades metabólicas, as quais resultam no fornecimento de energia e nutrientes necessários para a

retomada de crescimento do eixo embrionário. Na fase II, a absorção de água pela semente é lenta ou quase nula, sendo que, em sementes dormentes, esta fase prolongar-se-á até que a germinação ocorra ou que a semente fique inviável. Nessa fase os sistemas de produção de energia são ativados e ocorre o reparo de danos causados no armazenamento e na dispersão. Por fim, na fase III a semente já emitiu a radícula e a plântula dá continuidade ao seu desenvolvimento (BEWLEY e BLACK 1994; NONOGAKI *et al.*,2010). Algumas estruturas adjacentes à semente podem influenciar a velocidade de absorção de água dessas, sobretudo na fase um. O endocarpo é uma das estruturas que, além de exercer função na regulação da entrada de água no interior das sementes, pode exercer funções de proteção mecânica, barreira física à entrada de patógenos, além de proteger a semente de flutuações da umidade, as quais podem acelerar o envelhecimento (BASKIN e BASKIN, 2014, LONG *et al.*,2014). No pequiizeiro, apesar da existência de um endocarpo duro e rígido (BARRADAS *et al.*,1973), as funções desta estrutura, no que diz respeito à absorção de água pelas sementes, ainda não foram elucidadas.

Os melhores índices germinativos do pequiizeiro foram obtidos quando os pirênios (semente+endocarpo) foram tratados com GA3. Além disso, o efeito do GA3 pode ser melhorado quando este é aplicado em sementes sem o endocarpo. Souza *et al.*, (2007) obtiveram um aumento da germinação de 1,3 para 34,6% quando os pirênios foram tratados com GA3, enquanto que na semente isolada, sem e com o uso deste regulador de crescimento, foi de 23,8 e 44%, respectivamente. No entanto, devido à presença de espinhos, a retirada do endocarpo é muito complicada e inviabiliza o uso dessas sementes em escala, uma vez que os processos relatados na literatura, com a utilização de despoldadeira mecânica com escovas de aço (MIRANDA 1986) e betoneira com brita e água (SOUZA *et al.*,2007; BERNADES *et al.*,2008), se mostraram trabalhosos e demorados, além do grande risco de danos mecânicos ao embrião.

Diversas variáveis podem influenciar na capacidade germinativa das sementes (BEWLEY *et al.*,2013, LONG *et al.*,2014). A tolerância à desidratação e a susceptibilidade à degradação de reservas lipídicas são as

causas intrínsecas mais importantes, sendo determinantes na capacidade de as sementes serem armazenadas para uso na propagação e na formação de bancos de sementes no solo (HONG e ELLIS, 1996; BEWLEY *et al.*,2013; TWEDDLE *et al.*,2003). As sementes de *C. brasiliense* são oleaginosas (BARRADAS, 1973) e potencialmente vulneráveis à deterioração (BEWLEY *et al.*,2013). No entanto, seu comportamento na armazenagem é ainda pouco conhecido e, talvez por isso, negligenciado em muitos trabalhos (SOUZA *et al.*,2007; DOMBROSKI *et al.*,2010; MOURA *et al.*,2013), o que indica a necessidade de estudos nesse sentido.

2.4 Armazenamento, envelhecimento e deterioração de sementes

A capacidade de a semente manter sua qualidade fisiológica ao longo do tempo é de extrema importância para a agricultura e ecologia das espécies (BEWLEY *et al.*,2013, LONG *et al.*,2014). A tolerância à desidratação é umas das causas intrínsecas mais importantes, determinando a capacidade de as sementes se manterem viáveis durante o armazenamento (HONG e ELLIS, 1996; BEWLEY *et al.*,2013; TWEDDLE *et al.*,2003). Geralmente, plantas de ambientes úmidos produzem sementes intolerantes à desidratação (recalcitrantes), enquanto que as de ambiente seco, denominadas ortodoxas, são tolerantes. No Cerrado, muitas plantas produzem sementes dormentes, provavelmente pelas condições edafoclimáticas do bioma, podendo estar associadas ao comportamento ortodoxo ou intermediário das sementes (TWEDDLE *et al.*,2003). A dormência e a tolerância à dessecação são características ecológicas fundamentais para o estabelecimento de bancos de sementes de espécies que ocorrem em ambientes sazonalmente secos (TWEDDLE *et al.*,2003).

Outro fator intrínseco à semente, que também é importante na capacidade dessas se manterem viáveis durante o armazenamento, é a susceptibilidade à degradação de reservas lipídicas. Durante o envelhecimento das sementes, pode ocorrer uma série de alterações metabólicas, entre as quais se destaca a peroxidação de lipídeos (LONG *et al.*,2014; BARRETO *et al.*,2014), que tem como resultado a produção de

malonaldeído (MDA), uma substância tóxica, cujo acúmulo causa a desestruturação das membranas (TOMMASI *et al.*,2006; PUKACKA E RATAJCZAK 2005; BARRETO *et al.*,2014). Nesse sentido, a quantificação do MDA é utilizada para estimar a peroxidação lipídica e a deterioração destas sementes (SUNG E CHIU, 1995). Adicionalmente, em função da desorganização e dos danos nas membranas celulares, o extravasamento de solutos durante o processo de embebição torna o teste de condutividade elétrica uma ferramenta auxiliar na verificação de vigor e qualidade das sementes (VIEIRA E KRZYZANOWSKI,1999; BRASIL, 2009).

O banco de sementes do solo é uma das formas de armazenamento natural das sementes, denominado conservação *in situ*, e pode ser definido como todas as sementes viáveis, detectáveis em um período específico, numa determinada área de solo, desde a superfície até as camadas mais profundas (RIBAS E KAGEYAMA, 2004). Dois tipos principais de bancos de sementes são descritos: 1) banco de sementes transitório, em que nenhuma das sementes persiste por mais de um ano e, 2) banco de sementes persistente, no qual a maioria das sementes ampliará sua viabilidade no solo, normalmente muitos anos (BASKIN E BASKIN, 1998; LONG *et al.*,2014).

A variação do banco de sementes ocorre de acordo com o balanço de entradas e saídas dessas, sendo que as entradas são dadas pelo processo de dispersão e chuva de sementes, já as saídas são constituídas pela germinação ou morte (FERREIRA E BORGHETTI, 2004). Uma maneira de determinar a longevidade das sementes no solo é semeá-las e fazer amostragem ao longo de um período de tempo para testes de viabilidade (BASKIN E BASKIN, 1998; LONG *et al.*,2014). No que se refere ao habitat natural das sementes, uma forma alternativa de simulá-lo é colocá-las ao ar livre, em situações similares ao possível habitat, de forma que a temperatura e precipitação representem as condições de dispersão natural da espécie (BASKIN E BASKIN, 2014). A intensidade da dormência, a viabilidade e a longevidade são algumas das características que interferem na formação do banco de sementes do solo e na utilização das sementes na agricultura (DANIEL E JANKAUSKIS, 1989; LONG *et al.*,2014).

A outra forma de conservação das sementes é chamada *ex situ* e consiste na conservação das espécies fora do seu habitat. Este tipo de conservação deve ser realizada de forma complementar ao modelo *in situ* (BRASIL, 2000), podendo ser por meio do armazenamento de sementes (FAO, 1993), um dos métodos mais fáceis e mais baratos de preservar os genótipos de plantas sem alterar sua constituição genética. Porém, para que se obtenha sucesso no armazenamento das sementes, a interação entre o período de armazenamento e a manutenção da qualidade fisiológica deve ser conhecida (TWEDDLE *et al.*,2003; LONG *et al.*,2014), de maneira que essas sejam utilizadas com o maior rendimento germinativo possível, ou ainda, que se desenvolvam métodos que possibilitem a manutenção da viabilidade pelo maior tempo possível (HONG E ELLIS, 1996).

CAPÍTULO 2. EXTRAÇÃO, GERMINAÇÃO E LONGEVIDADE EM SEMENTES DE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense*)

Resumo:

O pequizeiro é uma importante frutífera nativa do cerrado brasileiro, seu fruto é bastante utilizado na culinária regional e o seu uso é de potencial aplicação na indústria farmacêutica e de cosmético. A sua exploração é limitada pela dificuldade de obtenção de mudas, restringindo a implantação de cultivos comerciais e os estudos de domesticação. O obstáculo na produção de mudas da espécie está relacionado à dormência de suas sementes, além de outros fatores, como a forma de extração, qualidade e longevidade da semente, bem como o local de semeadura. Desta forma, objetivou-se com este trabalho desenvolver um método seguro de extração da semente, conhecer a longevidade e germinabilidade dos pirênios após armazenamento e plantio, além de quantificar a peroxidação de lipídeos e a deterioração das sementes. Avaliou-se a eficiência do método de extração de sementes isoladas de pequizeiro, utilizando torno manual de bancada, motoesmeril, alicate de bico modificado e pinça. Em sementes e pirênios, armazenados e semeados em condições controladas (BOD e casa de vegetação) e natural, determinou-se a concentração do indicador de peroxidação lipídica (malonaldeído - MDA), a capacidade germinativa, vigor e a deterioração das sementes. A utilização dos equipamentos mencionados acima propiciou a extração eficiente de sementes de pequizeiro. Após 40 dias de armazenamento dos pirênios, as sementes isoladas (sem endocarpo) superaram a dormência e apresentaram elevada germinação. Por outro lado, o avanço no tempo de armazenamento levou à deterioração das sementes, fato constatado tanto pela elevada taxa de mortalidade como pelo aumento da peroxidação lipídica. Em condição natural, a taxa de emergência de pirênios não excedeu a 5% e ficou restrita ao período de maior precipitação, enquanto em condições controladas esta taxa foi de cerca de 30%, com a quase totalidade da emergência ocorrendo nos primeiros quatro meses.

Palavras-chaves: Cerrado. Deterioração. Dormência.

CHAPTER 2. THE PEQUIZEIRO (*Caryocar brasiliense*) SEEDS EXTRACTION, GERMINATION AND LONGEVITY

Abstract:

The “pequi” is an important native fruit tree in the Brazilian cerrado, being widely used in the regional cuisine and with a great potential in the pharmaceutical and cosmetic industry. Its operation is limited by the difficulty in obtaining seedlings, restricting the cash crops deployment and the domestication studies. The obstacle in this species seedlings production is related to their seeds dormancy, as well as other factors such as the extraction form, the seed quality and longevity, and the seeding place. Thus, the objectives were to develop a safe method of seed extraction, to know the pyrenes longevity and germination after storage and planting, and to quantify the lipid peroxidation and the seeds deterioration. We evaluated the isolated seed efficiency in the “pequi” extraction method, using the manual lathe, emery, modified pliers and tweezers. In seeds and pyrenes, stored and sown under controlled conditions (BOD and greenhouse) and natural, it was determined the lipid peroxidation (malondialdehyde - MDA) indicator concentration, the seeds germination, vigor and deterioration. The equipment use mentioned above provided the “pequi” seeds efficient extraction. After 40 days of the pyrenes storage, the isolated seeds (cored) outweigh the numbness and have high germination. On the other hand, the storage time increase leads to the seeds deterioration, found by both the high mortality rate and the increase in lipid peroxidation. In natural conditions the pyrenes emergency rate does not exceed 5% and is restricted to the period of greatest rainfall, while in controlled conditions this rate is about 30% with almost all the emergency occurring in the first four months.

Keywords: Cerrado. Deterioration. Dormancy.

1. INTRODUÇÃO

O pequiizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb) é uma frutífera nativa do Cerrado brasileiro, seus frutos são consumidos *in natura* e utilizados na fabricação de conservas, óleos, farinhas, pratos típicos, licores e sorvetes (ARAÚJO, 1995). A espécie tem ainda potencial aplicação na indústria farmacêutica e de cosméticos (PIANOVSKI *et al.*,2008). Em função do amplo uso dos seus frutos, o pequiizeiro possui elevada importância econômica e social (ARAÚJO, 1995; LOPES *et al.*,2003; KERR *et al.*,2007), seus frutos são explorados quase que exclusivamente através do extrativismo. Cumpre ressaltar que o extrativismo intenso dos frutos, a expansão agropecuária e a baixa taxa de germinação dos pirênios de pequiizeiro são apontados como os responsáveis pela reduzida quantidade de plantas jovens encontradas na vegetação nativa (LEITE *et al.*,2012), o que limita a regeneração natural.

Algumas pesquisas relatam que a baixa taxa de germinação dos pirênios de pequiizeiro está associada ao fenômeno da dormência, que é superada, em parte, pela retirada do endocarpo e/ou do uso da giberelina (BERNARDES *et al.*,2008; SOUZA *et al.*,2007; LEÃO *et al.*,2012; DOMBROSKI *et al.*,2010). Porém, a maioria destas pesquisas não avalia, ao final dos experimentos, o estado em que os pirênios não germinados se encontram, indicando que a ausência de germinação é causa exclusivamente da dormência. No entanto, é importante observar que, além da dormência, as sementes dos pirênios podem também não germinar por estarem quiescentes ou mortas.

A mortalidade da semente pode ocorrer antes ou após o plantio. No caso do pequiizeiro, detectou-se em um lote 26,3% de pirênios com sementes inviáveis no momento da sua obtenção (BERNARDES *et al.*,2008) e, entre os poucos trabalhos que avaliam a semente ao final do experimento, verificou-se uma variação de 36 a 50% de sementes deterioradas após 42 dias do plantio (DOMBROSKI *et al.* 2010). Tal fato sugere que a qualidade das sementes de pequiizeiro, antes e/ou após o plantio, pode ter impacto importante nos estudos sobre a germinação da espécie, uma vez que diversos fatores como a forma de extração, o tempo e as condições de armazenamento, bem como

as condições de semeadura, influenciam na capacidade de as sementes manterem a sua qualidade fisiológica ao longo do tempo (BEWLEY *et al.*,2013, LONG *et al.*,2014).

O pirênio do pequizeiro é composto por uma semente envolvida por um endocarpo duro e aculeado (BARRADAS *et al.*,1973). Esta estrutura externa da semente impede a sua retirada manualmente, fazendo-se necessário o uso de equipamentos, tais como betoneira (BERNADES *et al.* 2008 e SOUZA *et al.* 2007) ou motor acoplado a eixo com escovas de aço (DOMBROSKI *et al.*,1998 e 2010). Apesar de estes autores não avaliarem o impacto da extração sobre a qualidade da semente, tanto na betoneira como no motor é necessária a utilização de água, levando a semente a embeber-se e, posteriormente, desidratar-se antes do plantio; além de provocar um intenso atrito entre as sementes e as paredes do recipiente dos equipamentos, podendo gerar injúrias e comprometer a germinação. Essa situação pode ser uma das explicações para a baixa taxa de germinação, em geral entre 30 e 54%, alcançada em estudos com a semente sem o endocarpo (DOMBROSKI *et al.*,2010; SOUZA *et al.*,2007; BERNADES *et al.*,2008; SOUZA *et al.*,2012).

No que concerne à longevidade, essa corresponde ao período em que a semente permanece viável (LONG *et al.*,2014; BASKIN E BASKIN., 2014). O envelhecimento e/ou submissão da semente ou do diásporo às condições de estresse podem causar uma série de mudanças metabólicas, as quais favorecem a deterioração e morte das sementes (SCHWEMBER & BRADFORD 2010). Entre essas mudanças, a peroxidação de lipídeos destaca-se por favorecer a degradação das membranas celulares, em função da presença de espécies reativas de oxigênio (EROS), que promovem a formação e acúmulo de produtos tóxicos à célula, como o Malonaldeído (MDA) (BARRETO, 2014; PUKACKA e RATAJCZAK, 2005).

Uma forma de avaliar-se a longevidade é a realização de testes de germinação e viabilidade ao longo do tempo em sementes plantadas em condições ideais para a germinação, em locais que simulem as condições naturais após a dispersão ou, ainda, quando são armazenadas por longos períodos (BASKIN E BASKIN, 2014). Outra forma, porém indireta, de avaliar-

se a longevidade, é através da quantificação do MDA, que estima a peroxidação lipídica e consequentemente a deterioração da semente, sobretudo em materiais ricos em óleos (SUNG & CHIU, 1995), como é o caso do pequiizeiro. Estes testes auxiliam na classificação das sementes quanto à tolerância, dessecação e armazenamento; ampliam o entendimento sobre condições ecológicas de manutenção do banco de sementes no solo, auxiliam no manejo e conservação das sementes e podem assessorar no processo de superação da dormência (BASKIN e BASKIN, 2014).

No que se refere ao pequiizeiro, faz-se necessário, ainda, desenvolver um método seguro de extração da semente, conhecer a longevidade e germinabilidade dos pirênios após armazenamento e plantio, além de quantificar a peroxidação de lipídeos e a deterioração das sementes. Por conseguinte, os objetivos do presente trabalho são: 1) Desenvolver um método eficiente que garanta elevada qualidade da semente no seu processo de retirada do endocarpo, 2) avaliar a germinação, dormência e mortalidade de sementes e pirênios armazenados e semeados em locais diferentes, 3) verificar a peroxidação de lipídeos em sementes armazenadas e, 4) investigar a emergência e a longevidade dos pirênios de pequiizeiro após semeadura, em condição natural e controlada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal

Os pirênios (endocarpo+semente) recém-despolpados foram coletados no município de São João da Lagoa – MG no mês de janeiro de 2013 e levados para o Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros. Os pirênios foram tratados com Gastoxim®, por cinco dias, na dose de 6 pastilhas/m³, e em seguida armazenados em local seco, fresco e arejado, com temperatura variando entre 17,8 e 30,5 °C na época mais fria do ano (junho-julho) e entre 22 e 33,9 °C na época mais quente do ano (setembro-outubro) e umidade média relativa do ar variando entre 80,74 na época mais úmida do ano (dezembro) e 47% na época mais seca do ano (agosto), até a instalação dos experimentos.

2.2 Método de extração de sementes de pequi

A extração da semente consistiu, inicialmente, na escarificação superficial ao longo de toda a circunferência do pirênio, com o auxílio de um motoesmeril (Figura 1 - A). Em seguida, esses foram prensados em um torno manual de bancada, proporcionando-se, assim, uma fissura do endocarpo na região do hilo (Figura 1 - B), a qual foi totalmente aberta com a utilização de um “alicate de bico”, com abertura contrária, contendo uma chapa de 18 x 10 x 1,5mm em cada ponta (Figura 1 - C e D). Finalmente, retirou-se com uma pinça a semente intacta da estrutura (Figura 1 - E e F).

Avaliou-se a eficiência do método de extração das sementes que continham aproximadamente 40% e 7% de umidade, respectivamente, armazenadas por dois e 40 dias. Em ambas as sementes foram determinadas a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação da quantidade destas sementes, obtidas em uma hora de extração, da percentagem de sementes sem danos físicos visíveis causados no processo de retirada e do teste de germinação. O ensaio foi realizado considerando duas pessoas trabalhando e cinco repetições de uma hora de atividade. A umidade foi mensurada pelo método da estufa a 105°C por 24 horas e para o teste de germinação conforme descrito no experimento I.

Durante todo o processo de extração da semente utilizou-se equipamento de proteção individual como: avental impermeável, luvas de couro, óculos de proteção, máscaras, calças compridas e blusas de manga comprida.

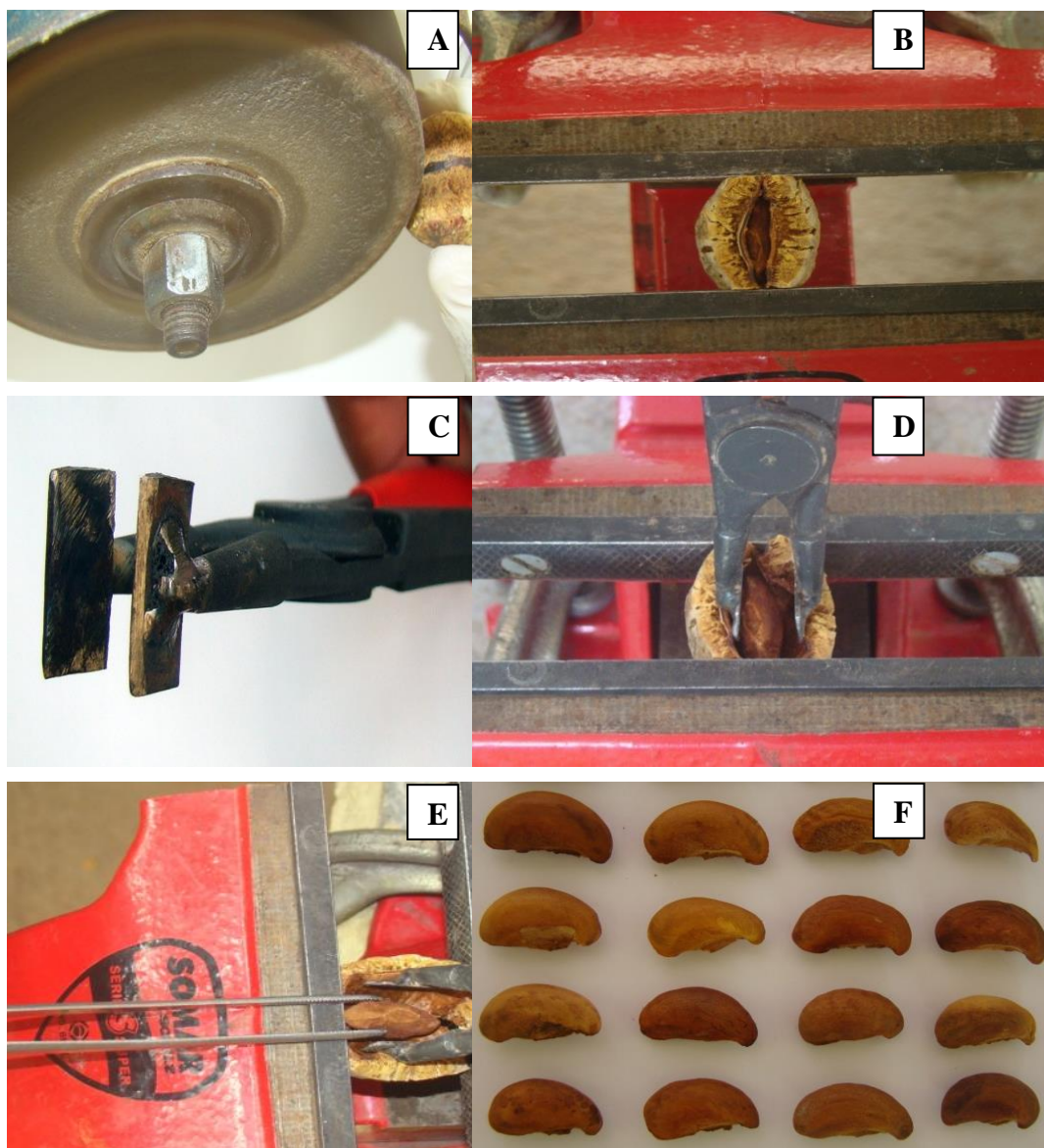


FIGURA 1. Metodologia utilizada para a obtenção das sementes isoladas. A) Pirênio sendo lixado ao longo da sua circunferência no motoesmeril; B) Pirênio prensado no torno manual de bancada, para fissura na região do hilo; C) Detalhe do alicate com chapa adaptada/soldada na ponta D) Alicates realizando a abertura do endocarpo; E) Uso da pinça para retirada da semente do endocarpo; F) Sementes intactas retiradas por este processo.

2.3 Experimento I: Germinação, mortalidade e peroxidação de lipídeos em sementes de pequi armazenadas por quatro períodos

Foram utilizadas sementes de pirênios armazenadas por períodos de 40, 150, 240 e 330 dias. A semente foi retirada do endocarpo sempre no dia da semeadura, utilizando-se o processo descrito no item anterior. No momento da extração da semente, após cada época de armazenamento, em cinco repetições de 20 pirênios, foi determinada a quantidade de pirênios com sementes visivelmente inviáveis, que estivessem apresentando alguma má-formação ou injúrias como ataque por pragas, apodrecimento, aspecto enegrecido, de tamanho excessivamente pequeno, murchas ou sem consistência. Nas sementes com aparência adequada, consideradas viáveis, em cada período de armazenamento, realizou-se o teste de umidade pelo método da estufa a 105° por 24 horas (BRASIL, 2009) com cinco repetições de 20 sementes.

Cinco repetições de 20 sementes foram tratadas com o fungicida Vitavax-tiram® (50% pc) e semeadas em bandejas de polietileno transparente, contendo vermiculita umedecida com água destilada à 80% da capacidade de retenção. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em câmara de germinação (BOD) a 30 °C constante, com fotoperíodo de 12 horas de luz. A germinação das sementes foi avaliada diariamente até 30 dias pós-plantio, obtendo-se a porcentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG). A porcentagem de germinação foi calculada através da divisão do número de sementes germinadas pelo número total de sementes da parcela e multiplicada por 100, enquanto o IVG foi calculado conforme proposto por Maguirre (1962); por meio do somatório do número de sementes germinadas pela razão do número de dias após a semeadura.

Adicionalmente, em cada época de plantio, amostras de cinco repetições de 10 sementes foram retiradas do endocarpo e congeladas em freezer a 20°C para a estimativa da peroxidação de lipídeos, através da quantificação do malonaldeído (MDA). Utilizou-se o teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), adaptando-se a metodologia proposta por Du e

Bramlage (1992). Amostras de 100 mg das sementes foram maceradas em N_2 líquido e homogeneizado em 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v), preparado com álcool 80%. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g por 15 minutos. Em seguida, 1,5µl do sobrenadante foi adicionado a 1 µl do meio de reação 0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e a 20% (p/v) de TCA. A seguir, foram incubados em banho-maria a 95 °C, por 25 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras determinadas em espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, Austrália) a 440, 532 e 600 nm. A concentração do complexo entre aldeído malônico/ácido tiobarbitúrico (MDA/TBA) foi calculada usando-se o coeficiente de extinção 1,55 mM/cm e expressa em nmol MDA por grama de massa seca. Além disso, amostras das sementes congeladas após 40, 150, 240 e 330 dias, mais uma amostra de sementes congelada após cinco dias de armazenamento foram fotografadas com máquina marca Sony (modelo DSC-H9) para caracterização da coloração do tegumento.

Ao final do teste de germinação (30 dias após o plantio), as sementes que não germinaram foram avaliadas visivelmente quanto à mortalidade, sendo as necrosadas, inconsistentes e amareladas, consideradas como mortas, enquanto as demais como vivas e/ou duras (BRASIL, 2009; DOMBROSKI *et al.*,2010). A partir daí, mensurou-se a porcentagem de mortalidade, que consistiu na razão entre o número de sementes mortas pelo número de sementes não germinadas, multiplicada por 100.

Todos os testes foram realizados no delineamento inteiramente casualizado. Os dados de porcentagem de pirênios com sementes inicialmente viáveis, a umidade das sementes no momento da extração, a porcentagem de germinação, o IVG, a porcentagem de mortalidade de sementes ao fim dos experimentos e o teor de MDA foram submetidos à ANOVA. Quando as variáveis se apresentaram significativas pelo teste F ($p < 0,05$), foram ajustadas equações de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t.

2.4 Experimento II. Germinabilidade e mortalidade de sementes em pirênios de pequiheiro semeados em condição natural e controlada após períodos de armazenamento

Inicialmente, visando à caracterização do lote de pirênios, foram realizadas as determinações da umidade, da inviabilidade e da germinação das sementes isoladas, conforme já descrito no item anterior.

O experimento foi instalado em esquema fatorial 04 (períodos de armazenamento) x 03 (locais de plantio), com quatro repetições de 50 pirênios por tratamento. Foram utilizados pirênios de pequiheiro armazenados por períodos de 40, 150, 240 e 330 dias, com plantio respectivamente em fevereiro, junho, setembro e dezembro de 2013. Os locais de plantio foram: 1) em câmara de germinação (BOD) nas mesmas condições descritas no experimento anterior; 2) canteiro a pleno sol, completamente exposto às condições ambientais e sem uso de irrigação, visando simular o ambiente de dispersão natural da espécie e, 3) em canteiro dentro de casa de vegetação (estufa), irrigado diariamente, a fim de manter-se o solo na capacidade de campo. Os canteiros estavam preenchidos com 40 cm solo de área de ocorrência natural do pequiheiro e o plantio foi realizado a cinco centímetros de profundidade.

A emergência foi avaliada semanalmente até 360 dias pós-plantio, determinando-se a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência (IVE). A porcentagem de emergência foi calculada através da divisão do número de pirênios com sementes emergidas, pelo número total de pirênios da parcela, multiplicada por 100. O IVE foi calculado conforme proposto por Maguirre (1962); por meio do somatório do número de sementes de pirênios emergidas pela razão do número de semanas após a semeadura. Foram consideradas emergidas, sementes de pirênios que tiveram a parte aérea 0,5 cm acima do substrato. Além disso, em cada local de plantio, foi determinada a emergência acumulada pelo somatório mensal do número de sementes de pirênios emergidos.

Os dados de temperatura (máxima, mínima e média) e precipitação durante o período do experimento foram coletados no banco de dados do

INMET, estação 83437, sediado na UFMG/Campus Montes Claros, a 300 metros do local do experimento (Figura 2). Dentro da estufa foi registrada, semanalmente, a temperatura máxima e mínima por meio de um termômetro digital.

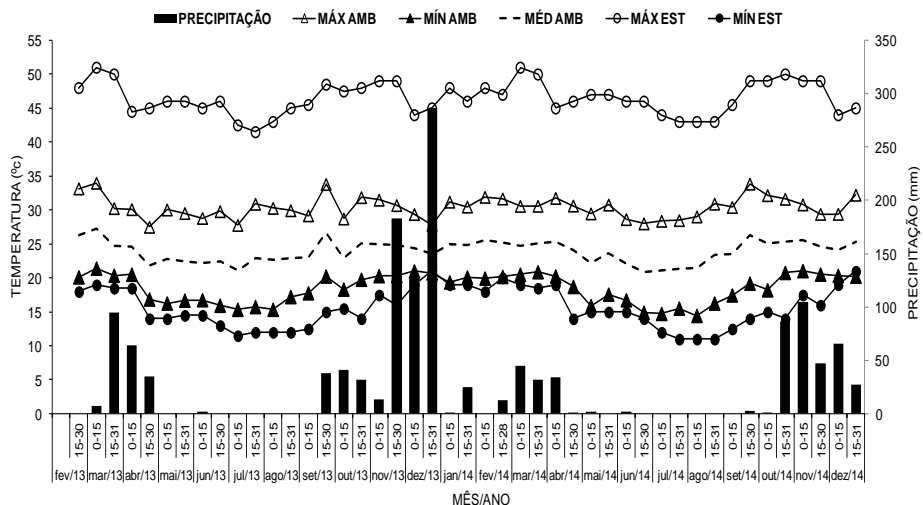


FIGURA 2. Precipitação (mm) e temperatura (oC) máxima, mínima e média no período de fevereiro de 2013 a dezembro de 2014.

Ao final do período de avaliação, os pirênios com sementes não emergidas foram abertos com auxílio de uma guilhotina e as sementes avaliadas visivelmente quanto à mortalidade, de modo que as sementes podres, inconsistentes e amareladas foram consideradas como mortas, e as demais como vivas e/ou duras (BRASIL, 2009; DOMBROSKI *et al.*, 2010). A partir daí, mensurou-se a porcentagem de mortalidade através da razão entre o número de pirênios com sementes mortas pelo número de pirênios não emergidos, multiplicada por 100.

Os dados da porcentagem de emergência, IVE e porcentagem de mortalidade de sementes, ao fim dos experimentos, foram submetidos à ANOVA. Quando as características apresentaram-se significativas pelo teste F ($p < 0,05$), a comparação das médias entre os locais de plantio foi feita pelo teste Tukey, até 5% de probabilidade, enquanto nos tempos de armazenamentos foram ajustadas às equações de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t. A emergência acumulada dos pirênios foi descrita por gráficos dentro de cada local de plantio.

2.5 Experimento III: Longevidade de sementes de pequizeiro semeadas em condição natural e controlada

Os valores de umidade, da inviabilidade e germinação das sementes isoladas são os mesmos do experimento anterior, uma vez que se utilizou o mesmo lote em ambos os trabalhos.

O experimento foi montado em delineamento de blocos casualizados no esquema fatorial 3 (locais de plantio) x 4 (períodos de avaliação após o plantio), com quatro repetições de 50 pirênios por tratamento.

Os pirênios com 40 dias de armazenamento (fevereiro/2013) foram semeados nos seguintes locais: canteiro a pleno sol e dentro de casa de vegetação (estufa) e em bandejas plásticas, na mesma condição descrita no experimento anterior.

A emergência de plântulas foi avaliada semanalmente nos três ambientes e, ao fim de 120 (junho/2013), 210 (setembro/2013), 300 (Dezembro/2013) e 330 (janeiro/2014) dias pós-plantio, obteve-se a porcentagem de emergência e o índice de velocidade de emergência (IVE). Nesse mesmo tempo, os pirênios que não emergiram foram retirados dos locais de plantio e seccionados longitudinalmente, visando avaliar visualmente as sementes quanto à viabilidade, conforme já mencionado no experimento II. Os dados de temperaturas e precipitação no período são também os mesmos do estudo anterior.

Os dados de porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência (IVE) e mortalidade das sementes em cada época de avaliação foram submetidos à ANOVA. Para a comparação das médias referentes aos locais de plantio, aplicou-se o teste de Tukey, até 5% de probabilidade, enquanto que para as épocas de avaliação ajustaram-se modelos de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Método de extração de sementes de pequi

No que tange ao método utilizado, esse demonstrou ser eficiente para retirada da semente de pirênios com diferentes conteúdos de água, uma vez que essas tiveram uma elevada germinação (Tabela 1), acima de 90%, e também muito superior ao máximo atingido quando se usaram outros processos, a saber: betoneira, 30,8% (Bernades et al. 2008) e 49,37% (Souza et al. 2007) e no motor acoplado com escovas de aço, 54% (Dombroski et al., 2010).

Apesar de os estudos acima citados não avaliarem a quantidade de sementes retiradas por unidade de tempo, a exceção de Bernades et al. (2008) que relatam 60 sementes por hora, esses descrevem que são necessárias duas etapas: uma úmida, em que se usa a betoneira ou motor para eliminação dos acúleos; e outra seca, em que se utilizam motoesmeril ou tesoura de poda, mais alicate comum para romper o endocarpo e obter a semente. Como se pode perceber, tais processos são bem laboriosos, exigindo-se duas etapas distintas, além de um tempo para a secagem da semente e do endocarpo após a extração dos acúleos, uma vez que estas estruturas, úmidas, dificultam a retirada da semente, tornando-a muito susceptível a danos físicos durante o processo (Bernades et al., 2008). Através do presente estudo pôde-se confirmar este fato. No momento que pirênios com maior umidade foram utilizados, a quantidade de sementes obtidas foi consideravelmente inferior e o dano quase dobrou em relação ao pirênio seco, 7% de conteúdo de água (Tabela 1). Em pirênios com alta umidade a semente torna-se muito aderida ao endocarpo e com maior “plasticidade”, demandando, dessa forma, uma maior força a ser exercida pelo torno manual de bancada. Esta situação, por sua vez, pode aumentar as chances de ocorrer algum dano pelo “esmagamento” das extremidades da semente (plúmula e radícula). Destarte, apesar da maior dificuldade com os pirênios recém-dispersos, o processo aqui proposto parece ser mais eficiente

que os já descritos na literatura, podendo ser uma alternativa importante para os estudos com sementes de pequiizeiro.

TABELA 1. Média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV) do número de sementes extraídas (NS), percentagem de sementes sem danos físicos (SD) e percentagem de germinação das sementes isoladas e visivelmente viáveis (G), retiradas durante uma hora.

	NS		SD (%)		G (%)	
	P (40%)	P (7%)	P (40%)	P (7%)	P (40%)	P (7%)
Media	81,0	140	76,54	87,86	95,0	77,0
D.P	7,58	5,76	4,12	2,65	5,47	9,27
CV	8,48	6,44	4,61	2,96	6,12	10,36

P (40%) = Pirênios com 40% de umidade e P (7%) = Pirênios com 7% de umidade.

3.1 Experimento I: Germinação, mortalidade e peroxidação de lipídeos em sementes de pequiizeiro armazenadas por quatro períodos

O conteúdo de água das sementes foi, em média, de 40,12% nas recém-colhidas e reduziu para 6,69% após 40 dias de armazenamento, mantendo-se próximo a este valor até o final dos estudos. Em relação à quantidade de pirênios com sementes visivelmente inviáveis, observa-se um pequeno incremento ao longo do tempo (Figura 3A). Quanto à taxa de germinação e o IVG, esses foram reduzidos drasticamente à medida que se avança o período de armazenamento das sementes e chega-se a zero no maior período de armazenamento. Já a mortalidade das sementes não germinadas após 30 dias do plantio aumentou consideravelmente com o avançar do tempo de armazenamento (Figura 3B).

A germinabilidade aos 40 dias de armazenamento foi superior à encontrada em outros trabalhos com semente isolada (DOMBROSKI et al. 2010, BERNARDES et al. 2008 e SOUZA et al. 2007), porém inferior a esses estudos quando se considera a semeadura após 240 dias de armazenamento. As diferenças entre estes resultados podem ocorrer em virtude de diversos fatores, tais como a origem, o método de extração, o tempo e condições de armazenamento das sementes (HONG e ELLIS, 1996; BASKIN e BASKIN, 2014; LONG., et al., 2014).

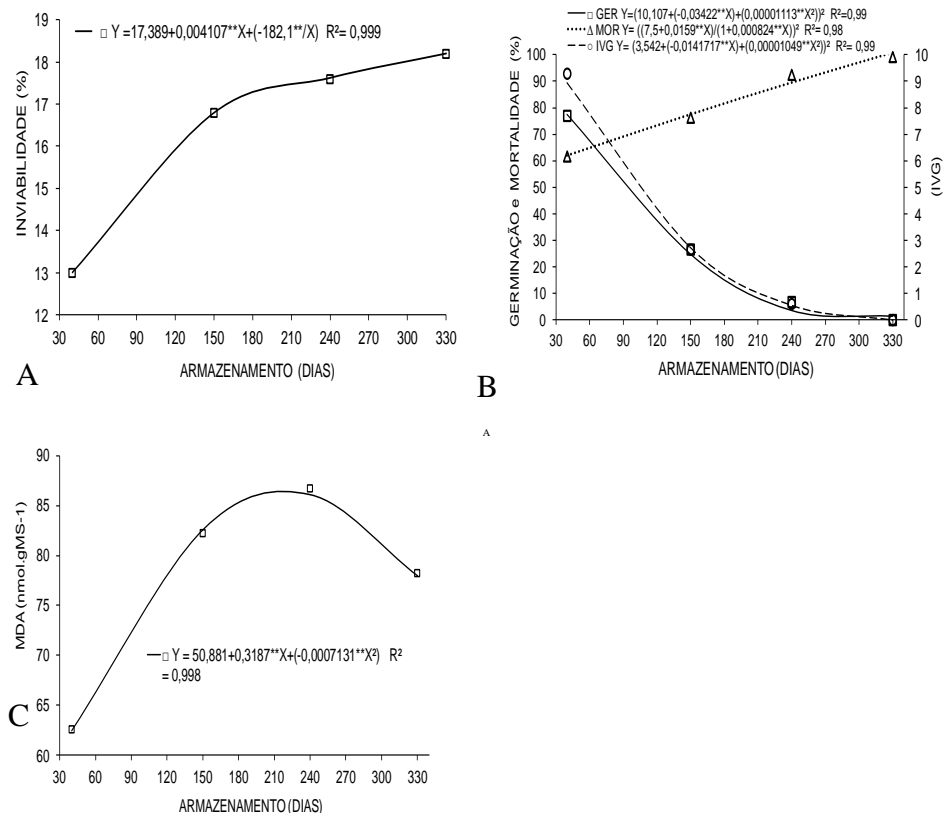


FIGURA 3. Inviabilidade inicial dos pirênios, antes do plantio (A), germinabilidade - GER, mortalidade – MOR e índice de velocidade de germinação – IVG (B) e concentração de malonaldeído – MDA (C) de sementes isoladas de pequizeiro armazenadas dentro do pirênio.

Quanto à concentração de malonaldeído (MDA), foi observado um incremento crescente até os 240 dias de armazenamento das sementes, seguido de uma redução nos períodos subsequentes (Figura 3 B). Resultados semelhantes também foram encontrados em sementes de *Pterogyne nitens* envelhecidas artificialmente, detectando-se uma elevação e, posteriormente, redução na concentração de MDA (ATAÍDE *et al.*,2012). O aumento do estresse e/ou do período de armazenamento leva a peroxidação lipídica pela intensificação na formação de espécies reagentes de oxigênio (EROs) (TOMMASI *Et al.*,2006; BARRETO, 2014; PUKACKA e RATAJCZAK, 2005) que, quando presentes em excesso, causam danos às membranas,

agressões às proteínas, carboidratos e DNA, proporcionando a formação e acúmulo de MDA (BARREIROS *et al.*,2006; BARRETO *et al.*,2014). Desta forma, a redução do vigor e da capacidade germinativa das sementes pode estar associada à crescente concentração do MDA até 240 dias de armazenamento, sendo que, após esse período, a redução do MDA pode ser atribuída ao baixo metabolismo decorrente da morte da semente danificada pelo acúmulo anterior.

Além do acúmulo de MDA, o processo de deterioração das sementes de pequiheiro também foi acompanhado por mudança da coloração no tegumento, o qual passou de um marron-claro, em sementes recém-colhidas, para um marron-enegrecedido, com o avançar do período de armazenamento (Figura 4). Isso também foi registrado em sementes de algumas leguminosas, as quais também tiveram seus tegumentos escurecidos durante o armazenamento (MARCOS FILHO, 2005).

A causa da redução da capacidade germinativa com a ampliação do tempo de estocagem da semente de pequiheiro foi, provavelmente, decorrente do aumento da sua mortalidade, o que indica a elevação da deterioração e perda de vigor com o envelhecimento. Os motivos para a inviabilidade das sementes em função do tempo estão relacionados aos danos nas membranas provocados pelo excesso de EROs e aos mecanismos de reparo ausentes ou ineficientes ou, ainda, em razão de as membranas estarem tão danificadas que os reparos tornaram-se impossíveis, ocasionando a morte da semente como ocorreu no presente estudo (BEWLEY *et al.*,2013 e COOLBEAR, 1995).



FIGURA 4. Coloração do tegumento das sementes de pequiheiro após 05, 40, 150, 240 e 360 dias de armazenamento, em condições naturais de galpão seco, fresco e arejado.

3.2 Experimento II. Germinabilidade e mortalidade de sementes em pirênios de pequiizeiro semeados em condição natural e controlada após períodos de armazenamento

Na condição de câmara de germinação (BOD), a partir do primeiro período de armazenamento (plantio em fevereiro), observou-se uma redução gradual na emergência e no IVE dos pirênios (Figura 5 A e D), sendo que os pirênios plantados em dezembro (330 dias de armazenamento) tiveram uma emergência aproximadamente três vezes inferior à alcançada por aqueles estocados por 40 dias. Ainda, nesta mesma condição, a maioria dos pirênios emerge até quatro meses após o plantio (Figura 5A).

No ambiente casa de vegetação, observou-se que a maior parte da emergência dos pirênios ocorre nos primeiros quatro meses pós-plantio, além do declínio da emergência e do vigor com o passar do tempo de estocagem, exceto para a semeadura em setembro, foi maior do que a de junho (Figura 5 B, D e E). Tanto em casa de vegetação como em câmara de germinação, independente da época de armazenamento, a emergência cessa oito meses após o plantio (Figura 5 A e B). Diferentemente destes resultados, em canteiro a pleno sol, ao longo do armazenamento e até 240 dias (setembro), detectou-se um leve aumento na emergência e IVE, mas com valores totais muito baixos, atingindo, respectivamente, no máximo 4,5% e 0,3 (Figura 5 C, D e E). Além disso, para as três primeiras épocas de estocagem, a emergência concentrou-se em dezembro, período de maior precipitação (Figuras 5C e 6).

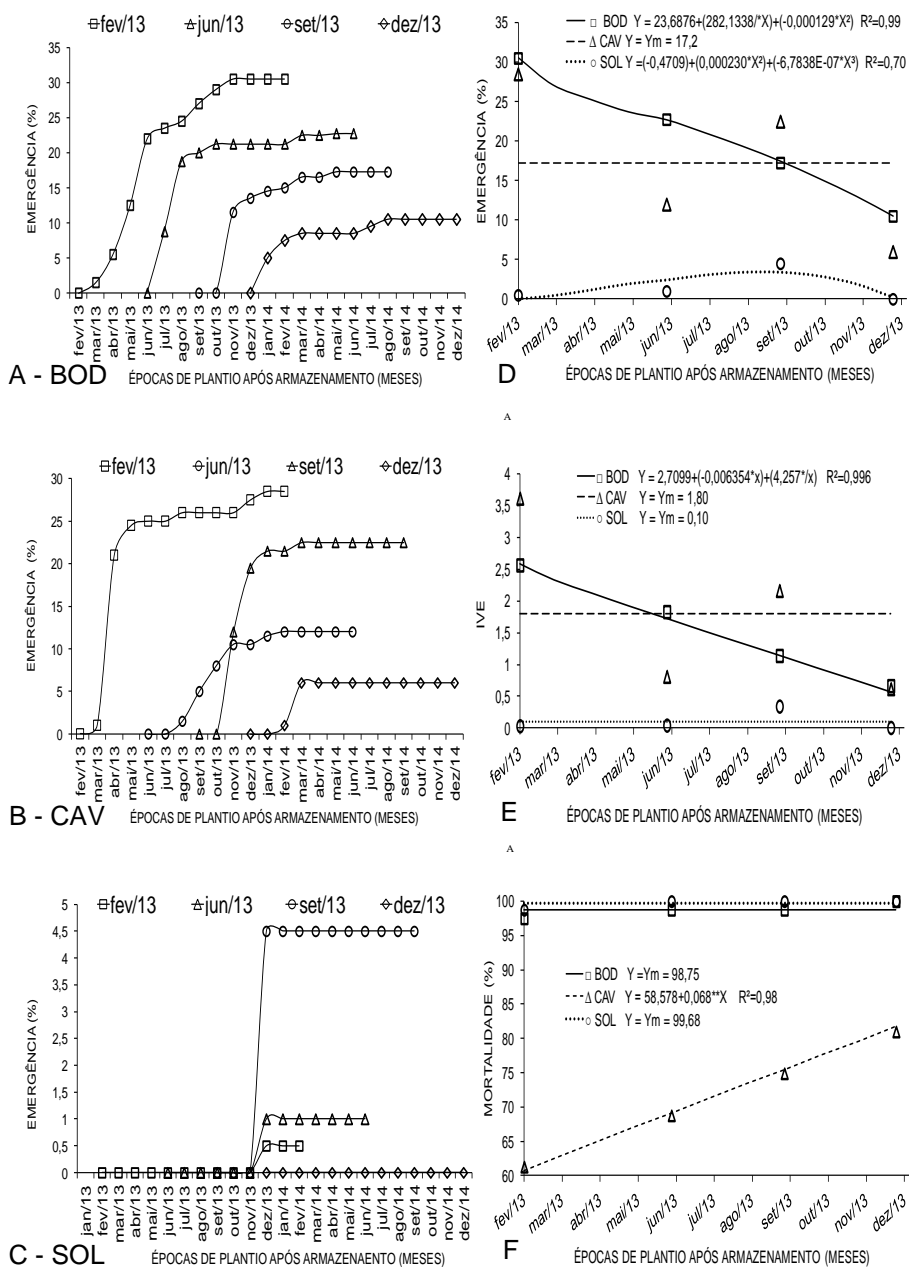


FIGURA 5. Emergência mensal de pirênios de pequi em fev/13, junho/13, set/13 e dez/13, em câmara de germinação (BOD) (A), casa de vegetação (CAV) (B) e em pleno sol (SOL) (C) e emergência total (D), índice de velocidade de emergência (E) e mortalidade (F) após um ano do plantio desses.

Os pirênios não emergidos, em canteiro dentro de casa de vegetação, aumentam gradualmente a mortalidade de suas sementes com o avanço do tempo de armazenamento, atingindo cerca de 80% de mortalidade quando plantados em dezembro. Já em câmara de germinação e canteiro a pleno sol, após um ano de semeio, praticamente todos os pirênios apresentavam sementes mortas (Figura 5E). Desta forma, fica evidente que após um ano de plantio, a mortalidade aparente das sementes dos pirênios é o principal fator limitante da emergência e do vigor assim como ocorreu no estudo da semente isolada.

Um aspecto importante sugerido por Sá e Carvalho *et al.*,(1994); Silva e Medeiros Filho *et al.*,(2006) e Moura *et al.*,(2013) é que a taxa de germinação das sementes sem o endocarpo (experimento I) é bastante superior àquelas com o endocarpo (experimento II), o que indica a presença da dormência imposta pelo endocarpo e elimina a possibilidade de o embrião estar imaturo. Como o endocarpo não limita a absorção de água pela semente (SILVA *et al.*,2006), esse desempenha o papel de restringir o crescimento do embrião, inibindo a germinação. Portanto, em função da superior germinabilidade das sementes sem o endocarpo, associada aos baixos índices germinativos dos pirênios e, ainda, da ausência da dormência física, comprova-se em pequiheiro a ocorrência da classe de dormência fisiológica (BASKIN E BASKIN, 2004), já inferida por Dombroski *et al.*,(2010).

Comparando-se o desempenho entre sementes com e sem o endocarpo, nas duas últimas épocas de plantio, ao contrário das demais, a germinabilidade observada nas sementes semeadas sem o endocarpo foi nula, enquanto que nas semeadas com o endocarpo, apesar de baixa, foi observada (Figuras 3A e 5A, B e C). Isso pode ser um indicativo de que, apesar do endocarpo ser responsável pela presença da dormência em pequiheiro, esta estrutura é imprescindível para a germinação de pirênios armazenados por longo período. O endocarpo, além de controlar a dormência, em muitas espécies pode possuir funções de proteção mecânica, barreira física à entrada de patógenos e regulador da entrada de água em seu interior (Baskin e Baskin, 2004).

3.3 Experimento III: Longevidade de sementes de pequizeiro semeadas em condição natural e controlada

No momento da instalação do experimento (após 40 dias de armazenamento), a umidade das sementes era de 7,35%, a germinabilidade das sementes isoladas era de 77% e a quantidade de pirênios com sementes visivelmente inviáveis era de 13%.

Para a emergência de plântulas e IVE só houve efeito para os locais de plantio. A emergência, em média, das plântulas foi de aproximadamente 30% após 11 meses do plantio. Contudo, nos primeiros quatro meses 90% desta taxa já foi atingida em casa de vegetação e câmara de germinação. Ainda para a emergência, verificou-se que os resultados em canteiros a pleno sol foram muito baixos (0,5%) e que só ocorreu 10 meses pós-plantio, coincidindo com a época de maior precipitação (Figura 6). O IVE foi maior em casa de vegetação (3,61), seguido pela câmara de germinação (2,168) e canteiro a pleno sol (0,0010) (Figura 7A). Desta forma, a ausência do efeito do tempo de avaliação sobre estas características é em função da insignificante emergência na condição a pleno sol. Ademais, a emergência dos pirênios ocorre quase que exclusivamente após quatro meses de plantio nos outros locais, antes da primeira época de análise, 120 dias.

Quanto à mortalidade, verifica-se o efeito da interação. No início do experimento, os pirênios possuíam em torno de 13% das sementes mortas, sendo que após quatro meses dentro da casa de vegetação esta taxa passa para 50,41%, registrando, a partir daí, um pequeno aumento ao longo do tempo até atingir 63,69%. Entretanto, as mudanças são mais drásticas na câmara de germinação e canteiro a pleno sol, uma vez que estes locais proporcionam uma inviabilidade da semente na primeira época de 74,59 e 60,61 % e, ao final, atinge 98,71 e 99,50%, respectivamente (Figura 7B).

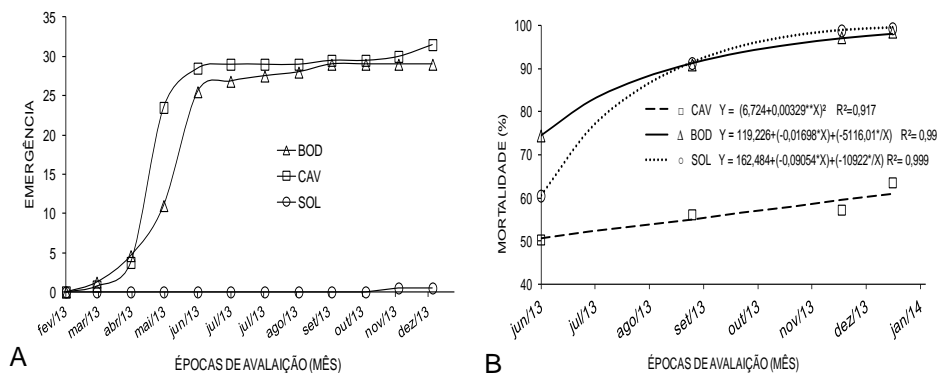


FIGURA 6. Emergência acumulada (A) durante um ano após o semeio e mortalidade (B) avaliada aos 120, 210, 300 e 330 dias pós-plantio de pirênios de pequiheiro, sob condições de câmara de germinação – BOD, casa de vegetação - CAV e a pleno sol – SOL.

Os pirênios de pequiheiro, armazenados por 40 dias após a dispersão e sobre condições de câmara de germinação e casa de vegetação, demonstraram que apesar da emergência ocorrer, na sua maioria, nos quatro primeiros meses pós-plantio, uma pequena parcela consegue manter-se viável e dormente, germinando após 10 meses da sementeira. No caso do canteiro a pleno sol, a emergência foi muito baixa e limitada às condições ambientais, coincidindo com a época de maior precipitação e temperatura, quando uma boa parte das espécies de cerrado inicia a sua germinação (RIBEIRO *et al.*,2012; NEVES *et al.*,2013). Contudo, nos três locais o principal motivo da baixa emergência é a mortalidade das sementes, causada provavelmente por mudanças bioquímicas ocorridas nos tecidos celulares (BEWLEY *et al.*,2013; COOLBEAR, 1995; BARRETO *et al.*,2014), como foi constatado no experimento anterior. Nesse sentido, a dormência não pode ser apontada como causa exclusiva da baixa emergência dos pirênios de pequiheiro, como é apontada em alguns trabalhos (MELO, 1987; DOMBROSKI *et al.*,2010; SOUZA *et al.*,2007; BERNARDES *et al.*,2008; LEÃO *et al.*,2012), especialmente naqueles em que não se avaliam a qualidade das sementes não germinadas.

É válido salientar que a elevada mortalidade das sementes de pequiheiro, detectada neste estudo, pode representar um forte indicativo de que o banco de sementes formado por esta espécie é provisório, contribuindo

para explicar a baixa ocorrência de plantas jovens de pequiheiro no ambiente natural (LEITE *et al.*,2012). Em contrapartida, algumas espécies perenes do cerrado pertencentes à mesma classe de dormência do pequiheiro, demonstram uma forte tolerância à dessecação e ao armazenamento da semente, constituindo um banco de sementes permanente no solo (RIBEIRO *et al.*,2012; NEVES *et al.*,2013).

No canteiro a pleno sol, quase metade das plântulas emergidas mantiveram-se vivas até o momento da avaliação final, aproximadamente oito meses após a emergência. Como estratégia para sobrevivência durante o período seco, estas plântulas perderam as suas folhas e o caule exposto ao ambiente desidratou e senesceu, mantendo a estrutura viva abaixo do nível do solo (Figura 8). A partir do início de um novo período chuvoso ocorreu a brotação da estrutura subterrânea, emitindo novo caule e folhas. Logo, apesar da baixa germinabilidade e da pouca longevidade das sementes, uma parte razoável das plântulas que conseguem emergir, tem a capacidade de resistir a períodos de seca superiores a oito meses, como ocorre no Cerrado brasileiro.



FIGURA 7. Plântulas de pequiheiro com caule morto, após o período de estiagem e brotação da nova a partir do início do período chuvoso.

4 Conclusão

- As utilizações de motoesmeril, alicate de bico modificado, torno manual de bancada e pinça permitem a extração eficiente das sementes de pequizeiro.
- Sementes isoladas e pirênios perdem a viabilidade ao longo do tempo de armazenamento.
- A peroxidação lipídica é responsável pela redução da qualidade fisiológica das sementes de pequizeiro ao longo do tempo.
- A causa principal da baixa emergência dos pirênios é a mortalidade de suas sementes, independentemente do local de plantio e do tempo de armazenamento.
- Em condição natural, a taxa de emergência de pirênios não excede a 5% e fica restrita ao período de maior precipitação, enquanto que em condições controladas esta taxa é de cerca de 30% com a quase totalidade da emergência ocorrendo nos primeiros quatro meses.

CAPÍTULO 3. SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA E QUALIDADE DAS SEMENTES EM PIRÊNIOS DE *Caryocar brasiliense* (CARYOCARACEAE)

RESUMO

Caryocar brasiliense é uma espécie arbórea, endêmica do Cerrado, cujo fruto é intensamente coletado por populações tradicionais e utilizado na culinária regional. A regeneração de populações naturais e a implantação de cultivos comerciais são dificultadas pela baixa germinabilidade das sementes, cuja causa é pouco conhecida. Objetivou-se com este trabalho realizar avaliações acerca dos aspectos fisiológicos das sementes e, através dessas avaliações, foi possível caracterizar a dormência e estimar o potencial de formação de bancos de sementes no solo. Nos pirênios (sementes envolvidas pelo endocarpo) definiu-se a curva de desidratação pós-dispersão; já em pirênios recém- dispersos e armazenados, caracterizou-se a curva de absorção de água, avaliou-se o efeito do endocarpo neste processo e na germinação; quantificaram-se as concentrações dos principais hormônios envolvidos no controle da germinação: ácido abscísico (ABA) e giberelinas (GAs); determinou-se a concentração do indicador de peroxidação lipídica malonaldeído (MDA) e estimou-se a perda de função das membranas por meio do teste de condutividade elétrica. Em pirênios armazenados, foram avaliados o efeito da concentração e a ocasião de aplicação do ácido giberélico (GA₃) como promotor da germinação. Os pirênios de *C. brasiliense* apresentam dormência do tipo fisiológica não profunda. O endocarpo restringe a germinação por atrasar a absorção de água e o equilíbrio entre a restrição mecânica, proporcionada pelo endocarpo, e a capacidade de crescimento do embrião, controlada pelo balanço hormonal, define a ocorrência da germinação. *C. brasiliense* tem potencial restrito de formação de bancos de sementes persistentes no solo, o que está relacionado à tendência à deterioração das sementes. A extração de sementes de pirênios recém-dispersos, após 20 dias de armazenamento, e a imersão de pirênios armazenados por 90 dias em solução de 125 mg/L de GA₃, constituem métodos eficientes para a propagação da espécie.

Palavras- chaves: Deterioração. Sementes. Pequizeiro.

CHAPTER 3. THE DORMANCY OVERCOMING AND THE SEEDS QUALITY IN THE *Caryocar brasiliense* PYRENES (CARYOCARRACEAE)

Abstract

The *Caryocar Brasilia* or “pequizeiro” is a Cerrado endemic tree species (neotropical savanna) whose fruits are intensively collected by the traditional populations and used in the regional cuisine. The aged natural populations regeneration and the cash crops deployment are hampered by the seeds low germination, whose causes are unknown. The aim of this work was to conduct assessments on the seed dormancy physiological aspects allowed to characterize and estimate the seed banks potential formation in the soil. In pyrenes (seeds involved by the endocarp) the post-dispersion dehydration curve was defined; it was characterized the water-absorption curve in freshly dispersed and stored pyrenes, it was evaluated the endocarp effect in this process and the germination; quantifying the concentrations of the major hormones involved in the germination control: abscisic acid (ABA) and gibberellins (GAs); it was determined the concentration of the malonaldehyde lipid peroxidation indicator (MDA) and it was estimated the membrane function loss through the electric conductivity test. In pyrenes stored, it was evaluated the concentration effect and the gibberellic acid (GA 3) application time as the germination promoter. The *C. brasiliense* pyrenes had a not deep physiological numbness type. The cored restricts the germination for delaying the water absorption and the balance between the mechanical constraint provided by the endocarp and the embryo growth capacity, controlled by the hormonal balance, define the germination occurrence. The *C. brasiliense* has limited potential for the persistent seed bank formation in the soil, which is related to the seeds deterioration tendency. The newly dispersed pyrenes seeds extraction after 20 days of storage, and the immersion of pyrenes stored for 90 days in a solution of 125 mg / L GA3 are efficient methods for the propagation of the species.

Keywords: Decay. Seeds. “Pequizeiro”.

1. INTRODUÇÃO

Caryocar brasiliense (Camb.), pequizeiro, é uma espécie arbórea endêmica do Cerrado (savana neotropical) com ampla distribuição na região central do Brasil (BARRADAS, 1973). Em muitas regiões, os frutos são coletados e comercializados pelas populações tradicionais, sendo intensamente utilizados na culinária regional, devido ao seu sabor e aroma peculiares. Recentemente, a iniciativa de produção de conservas da polpa do fruto em numerosas indústrias artesanais tem fomentado a ampliação do extrativismo, o que contribui para o incremento das economias locais. Por outro lado, como ainda não existem plantios comerciais, a regeneração das populações naturais de *C. brasiliense* é impactada pelo extrativismo intenso (LEITE *et al.*,2012). Outrossim, as sementes da espécie apresentam baixa germinabilidade, cujas causas não são completamente conhecidas. Tal fato limita o desenvolvimento de tecnologias para a produção de mudas (SÁ e CARVALHO *et al.*,1994; SILVA E MEDEIROS FILHO, 2006; BERNADES *et al.*,2008; DOMBROSKI *et al.*,2010; MOURA *et al.*,2013).

A baixa germinabilidade das sementes é comumente relacionada à dormência, que é um bloqueio à germinação por causas intrínsecas à semente, mesmo em condições favoráveis (FINCH-SAVAGE e LEUBNER-METZGER, 2006; BEWLEY *et al.*,2013). Estudos preliminares têm evidenciado a ocorrência de dormência em sementes de pequizeiro (SÁ e CARVALHO *et al.*,1994; SILVA E MEDEIROS FILHO, 2006; SOUZA *et al.*,2007; BERNADES *et al.*,2008; DOMBROSKI *et al.*,2010; MOURA *et al.*,2013), o que pode contribuir para a adaptação ao clima sazonal do Cerrado por favorecer a formação de bancos de sementes no solo e alocar o desenvolvimento das plântulas em ocasiões favoráveis (FINCH-SAVAGE e LEUBNER-METZGER, 2006; BASKIN e BASKIN, 2014). No entanto, não há uma definição acerca do papel ecológico e das causas da dormência na espécie, sobre a qual podem influir o desbalanço hormonal no embrião e a presença de um endocarpo rígido no diásporo, o qual pode restringir a entrada de água e as trocas gasosas, além de bloquear mecanicamente o crescimento do embrião (BASKIN e BASKIN, 2014). Ressalta-se que não

existe um protocolo eficiente para a superação da dormência em *C. brasiliense*, o que poderá contribuir para a conservação de populações naturais e para a implantação de cultivos comerciais.

Outro fator que controla a germinabilidade das sementes é sua capacidade de manter a qualidade fisiológica ao longo do tempo (BEWLEY *et al.*,2013, LONG *et al.*,2014). A intolerância à desidratação e a susceptibilidade à degradação de reservas lipídicas são as causas intrínsecas mais importantes que determinam a capacidade de as sementes serem armazenadas para uso na propagação e de formarem bancos de sementes no solo (HONG e ELLIS, 1996; BEWLEY *et al.*,2013; TWEDDLE *et al.*,2003). As sementes de *C. brasiliense* são oleaginosas (BARRADAS, 1973) e potencialmente vulneráveis à deterioração (BEWLEY *et al.*,2013), no entanto, a biologia das sementes na família Caryocaraceae é ainda muito pouco conhecida. Nesse contexto, estudos sobre a interação entre a dormência e a qualidade fisiológica das sementes (TWEDDLE *et al.*,2003; LONG *et al.*,2014) são importantes para o conhecimento da ecologia reprodutiva e para o manejo da propagação de *C. brasiliense*, inclusive porque os resultados obtidos até o momento com a germinação da espécie são variáveis e até mesmo contraditórios (SÁ e CARVALHO *et al.*,1994; SOUZA *et al.*,2007; BERNADES *et al.*,2008; DOMBROSKI *et al.*,2010; LEÃO *et al.*,2012).

Neste trabalho, em pirênios (sementes envolvidas pelo endocarpo) de *C. brasiliense* definiu-se a curva de desidratação pós-disperção; já em pirênios recém-dispersos e armazenados, caracterizou-se a curva de absorção de água, avaliou-se o efeito do endocarpo neste processo e na germinação; quantificaram-se as concentrações dos principais hormônios envolvidos no controle da germinação: ácido abscísico (ABA) e giberelinas (GAs); determinou-se a concentração do indicador de peroxidação lipídica malonaldeído (MDA) e estimou-se a perda de função das membranas por meio do teste de condutividade elétrica. Em pirênios armazenados, foram avaliados o efeito da concentração e a ocasião de aplicação do ácido giberélico (GA₃) como promotor da germinação. Procurou-se responder os seguintes questionamentos: i) qual a classificação da dormência da espécie;

ii) qual o papel do endocarpo e dos níveis endógenos de ABA e GAs no controle da germinação; iii) qual o potencial de formação de banco de sementes no solo. Discutiu-se, ainda, sobre o papel ecológico da dormência em *C. brasiliense* e definiram-se dois protocolos eficientes para a propagação seminal os quais podem ser utilizados em programas de conservação e em plantios comerciais de pequizeiros.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal, teste de germinação inicial e definição da curva de desidratação pós-abscisão

Frutos de *C. brasiliense* foram coletados, após a abscisão natural (a cicatriz de abscisão de cor amarelada e a integridade do exocarpo e mesocarpo externo foram considerados indicativos de abscisão recente), em mais de 50 plantas, em fitofisionomia de cerrado *stricto sensu*, no município de São João da Lagoa, norte do estado de Minas Gerais, Brasil. A coleta foi realizada no mesmo local, em duas safras consecutivas, nos meses de janeiro de 2013 e de 2014. O exocarpo e os mesocarpos externos e internos foram retirados manualmente e os pirênios (semente envolvida pelo endocarpo) foram armazenados em galpão seco e arejado, com temperatura monitorada, até a instalação dos experimentos.

Para a obtenção de sementes isoladas, os pirênios foram lixados superficialmente ao longo da circunferência do endocarpo, com o auxílio de um motoesmeril. Os pirênios foram prensados em um torno manual de bancada, até a obtenção de uma fissura no endocarpo na região do hilo, a qual foi totalmente aberta com a utilização de um “alicate de bico”, contendo uma chapa de 18 x 10 x 1,5mm adaptada em cada ponta. Uma pinça foi usada para a extração da semente.

Antes do armazenamento, a germinabilidade dos lotes foi verificada por meio do plantio de cinco repetições de 20 sementes isoladas, semeadas em bandejas contendo vermiculita úmida e mantidas em câmara de germinação com fotoperíodo de 12 horas de luz, a 30°C. A germinação foi avaliada após 30 dias do plantio, considerando-se como indicador o alongamento do eixo

embrionário, o qual promove a ruptura do tegumento e é seguido pelo desenvolvimento da plúmula ou da radícula. Durante o armazenamento, o teor de água das sementes foi avaliado através da proporção entre massa seca, após secagem em estufa, a 105°C por 24 horas e a massa fresca (BRASIL, 2009). A avaliação foi realizada diariamente, por dez dias. A partir daí, a cada cinco dias, até a estabilidade ser atingida.

2.2 Efeitos do armazenamento e do endocarpo na absorção de água e na germinação

Foram utilizados pirênios armazenados por 20 (recém-dispersos) e 330 dias (armazenados). Vinte dias é o tempo necessário para que a desidratação pós-abscisão das sementes estabilize-se, caracterizando a condição dos pirênios na dispersão e viabilizando a extração de sementes intactas (anteriormente aderidas ao endocarpo) em número suficiente para a execução dos experimentos. A temperatura no local de armazenamento variou entre 17,8 e 30,5 °C na época mais fria do ano (junho-julho) e entre 22 e 33,9 °C na época mais quente do ano (setembro-outubro).

Pirênios e sementes isoladas, nas condições recém-dispersos e armazenados, foram submetidos a três tratamentos: 1) semeadura em bandejas de polietileno transparente, contendo vermiculita umedecida, à 80% da sua capacidade de retenção, em câmara de germinação com fotoperíodo de 12 horas de luz, à 30°C; 2) semeadura a 5 cm de profundidade em canteiro com solo extraído de ambiente de cerrado, em casa de vegetação, com irrigação diária e à temperatura ambiente; 3) imersão em água, em beakers de vidro, com capacidade para 2L, à temperatura ambiente.

Após 0; 0,25; 0,50; 1; 2; 4; 6; 10; 15; 20, 30 e 40 dias, cinco repetições de 20 sementes tiveram seu teor de água determinado, conforme descrito anteriormente. No caso dos pirênios, as sementes foram extraídas com o auxílio de uma guilhotina. A ocorrência de germinação foi registrada e as sementes germinadas tiveram os teores de água avaliados separadamente. O critério de definição da germinação foi o alongamento do eixo embrionário, o qual pôde ser determinado pela ruptura/rachamento do tegumento, no caso das sementes isoladas e pelo rompimento do endocarpo,

no caso dos pirênios e, ainda, por eventos diretamente associados ao crescimento da plúmula e ou da radícula, conforme definido em experimentos preliminares (dados não publicados). Ao fim de 40 dias de incubação, avaliou-se, ainda, a quantidade de sementes mortas (deterioradas).

2.3 Efeitos do armazenamento sobre a qualidade fisiológica das sementes

Sementes obtidas de pirênios recém-dispersos e armazenadas tiveram a integridade das membranas estimadas pelo teste que avalia o efeito do extravasamento de solutos celulares na condutividade elétrica de solução aquosa (BRASIL, 2009). Cinco repetições de 20 sementes isoladas foram submersas em 150 ml de água deionizada, aerada a cada 6,5 horas e mantidas em germinador, a 30°C. A condutividade foi mensurada por meio de um condutímetro Lutron, modelo PCD-432, a cada 6 horas, até 48 horas, quando as sementes foram retiradas e avaliadas quanto à massa seca, pelo método da estufa, a 105°C, por 24 horas.

O acúmulo de malonaldeído (MDA), subproduto da peroxidação lipídica e prejudicial às membranas celulares (DU e BRAMLAGE, 1992) também foi avaliado em sementes das duas condições. Foi utilizado o teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), adaptando-se a metodologia proposta por Du e Bramlage (1992). Cinco amostras de 100 mg compostas por 5 sementes cada, foram maceradas em N₂ líquido e homogeneizado em 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v), preparado com álcool 80%. O homogeneizado foi centrifugado a 10.000g, por 15 minutos. 1,5 µl do sobrenadante foi adicionado a 1 µl do meio de reação (0,5% (p/v) de ácido tiobarbitúrico (TBA) e 20% (p/v) de TCA. Em seguida, foi incubado em banho-maria a 95 °C, por 25 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras determinadas em espectrofotômetro Cary 60 (Agilent Technologies, Austrália) a 440, 532 e 600 nm. A concentração do complexo entre aldeído malônico/ácido tiobarbitúrico (MDA/TBA) foi calculada usando o coeficiente de extinção 1,55 mM⁻¹ cm⁻¹ e expressa em nmol MDA g⁻¹ massa seca.

A condutividade elétrica ao final de 48 horas e a concentração de MDA foram submetidas à ANOVA e, quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Já a condutividade ao longo do tempo também foi submetida à ANOVA, contudo, quando significativo ($p < 0,05$), ajustaram-se modelos de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t.

2.4 Níveis endógenos de ABA e GAs

Foi realizada a quantificação dos hormônios com maior influência sobre a dormência e germinação: ácido abscísico (ABA) e giberelinas (GAs - GA₁, GA₄, GA₉, GA₁₉, GA₂₀ e GA₂₄). A avaliação foi realizada em sementes extraídas de pirênios submetidos aos seguintes tratamentos: 1) recém-dispersos (após a desidratação pós-abscisão, conforme descrito anteriormente); 2) armazenados (330 dias de armazenamento, conforme descrito anteriormente); 3) semeados a 5 cm de profundidade, em canteiro com solo extraído de ambiente de cerrado, em casa de vegetação, com irrigação diária e à temperatura ambiente, por 330 dias.

Quatro amostras de 80 mg da região da plúmula e da radícula das sementes de cada tratamento foram obtidas e congeladas a - 20°C, até a execução das análises. Foi utilizado o método proposto por Müller e Munné-Bosch (2011), com a quantificação dos hormônios em UPLC/ESI-MS/MS (Aquity UPLC™ System - Waters, Milford, MA e API 3000 MS/MS spectrometer - PE Sciex, Concord, Ont., Canada), com coluna C18 (2.1 × 75 mm, 2.7 μm) HALO™ (Advanced Materials Technology, Inc. Wilmington, DE), considerando-se os padrões d₆-ABA, d₂-GA₁, d₂-GA₃, d₂-GA₄, d₂-GA₉, d₂-GA₁₉, d₂-GA₂₀, d₂-GA₂₄, previamente adicionados às amostras.

As quantificações foram realizadas a partir de uma curva de calibração e do cálculo da relação entre os compostos e os padrões utilizando-se o software Analyst™ (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

2.5 Efeito do GA₃ sobre a germinação a partir de pirênios

O efeito de concentrações de GA₃ e a ocasião de sua aplicação foram avaliados em pirênios armazenados por 90 e 450 dias. Pirênios foram pré-embebidos, por imersão em água de torneira (trocada diariamente), em beakers de vidro, com capacidade de 2L, por 10 dias (quando as sementes atingem o início da fase II da germinação, conforme definido pela curva de absorção de água). Em seguida, os pirênios foram imersos em beakers de vidro por quatro dias, em soluções com concentrações de 0; 25; 75; 125 e 250 mg/L de GA₃. Foram também aplicados os seguintes tratamentos adicionais: 1) pirênios armazenados por 90 dias, semeados sem pré-embebição; 2) pirênios armazenados por 90 dias, embebidos em água, por 10 dias; 3) pirênios armazenados por 90 dias, imersos em GA₃ (125 mg/L), por 4 dias, sem pré-imersão em água; 4) pirênios armazenados por 450 dias, semeados sem pré embebição; 5) pirênios armazenados por 450 dias, embebidos em água, por 10 dias; e 6) pirênios armazenados por 450 dias, imersos em GA₃ (125 mg/L), por 4 dias, sem pré-imersão em água.

A semeadura foi realizada a 5 cm de profundidade, em canteiro dentro de casa de vegetação, preenchido com solo de ambiente de cerrado e irrigado diariamente. A emergência de plântulas e o índice de velocidade de emergência (IVE) foram avaliados diariamente, por sete meses. Ao final do período, os pirênios cujas sementes não germinaram foram retirados e avaliados quanto à mortalidade de suas sementes, considerando-se como mortas as sementes ausentes, necrosadas e ou parcialmente consumidas por insetos (BRASIL, 2009).

O experimento foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 (períodos de armazenamento) x 5 (doses de GA₃) + 6 tratamentos adicionais, com quatro repetições de 25 pirênios em cada tratamento. Os dados de porcentagem de emergência, índice de velocidade de emergência e mortalidade das sementes, foram submetidos à ANOVA. Quando o efeito da interação foi significativo, o fator tempo de armazenamento foi comparado pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, enquanto que o fator concentração de GA₃ foi submetido à análise de

regressão e, quando significativo ($p < 0,05$) ajustaram-se modelos de regressão, testando-se os coeficientes até 10% de probabilidade pelo teste t.

3. RESULTADOS

3.1 Coleta do material vegetal, teste de germinação inicial e definição da curva de desidratação pós-abscisão

Após a abscisão, as sementes dos lotes coletados em 2013 e 2014, apresentaram, respectivamente, teores de água de 40,12 e 41,58% e percentual de germinação de 86 e 92%. A desidratação pós-abscisão seguiu padrão semelhante nos dois lotes e o teor de água estabilizou-se após os 20 dias, em 6,7% (Fig. 1).

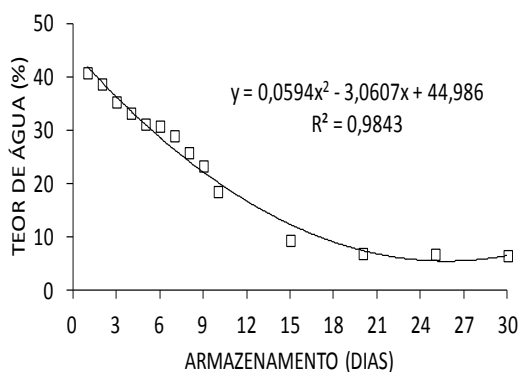


FIGURA 1. Teores de água de sementes de *Caryocar brasiliense* obtidas de pirênios armazenados em galpão, a temperatura ambiente.

3.2 Efeitos do armazenamento e do endocarpo na absorção de água e na germinação

Sementes isoladas recém-dispersas apresentaram rápida absorção de água (Fig. 2A). O teor de água de 6,7% no momento da incubação elevou-se até 42% após dois dias, o que caracterizou a fase I da germinação (sensu BEWLEY et. al., 2013). A partir do segundo dia, houve tendência de estabilização na embebição, o que definiu o início da fase II da germinação. As sementes incubadas em germinador e casa de vegetação apresentaram

evidências morfológicas da germinação aos quatro e seis dias, respectivamente, quando seus teores de água elevaram-se até aproximadamente 50% (fase III da germinação). Após 40 dias da semeadura, 80 e 45% das sementes isoladas apresentaram sinais de germinação, respectivamente, em germinador e casa de vegetação. O menor índice germinativo em casa de vegetação, em relação ao germinador, esteve associado à maior deterioração microbiana (dados não apresentados). A embebição das sementes inseridas no endocarpo foi mais lenta que nas sementes isoladas. O início da fase II da germinação (sementes com teores de água de 43% e tendência de estabilização da embebição) ocorreu depois de 10 dias de incubação. Até os 40 dias de avaliação, não foi observada germinação a partir dos pirênios. Ao final do período de avaliação, a mortalidade de sementes isoladas e retiradas dos pirênios foi de respectivamente 20 e 17%.

A absorção de água das sementes isoladas retiradas de pirênios armazenados (Fig. 2B) seguiu a mesma tendência daquela observada nas sementes recém-dispersas, no entanto, não houve germinação e, deste modo, a fase III não foi atingida. Por outro lado, a germinação foi evidenciada em 3,8% e 5% dos pirênios armazenados incubados em germinador e casa de vegetação, respectivamente, aos 40 dias. O teor de água das sementes nesse momento era 57,65%, o que definiu a fase III da curva padrão. A mortalidade de sementes isoladas e retiradas dos pirênios, ao final do experimento, foi de 87 e 45%, respectivamente.

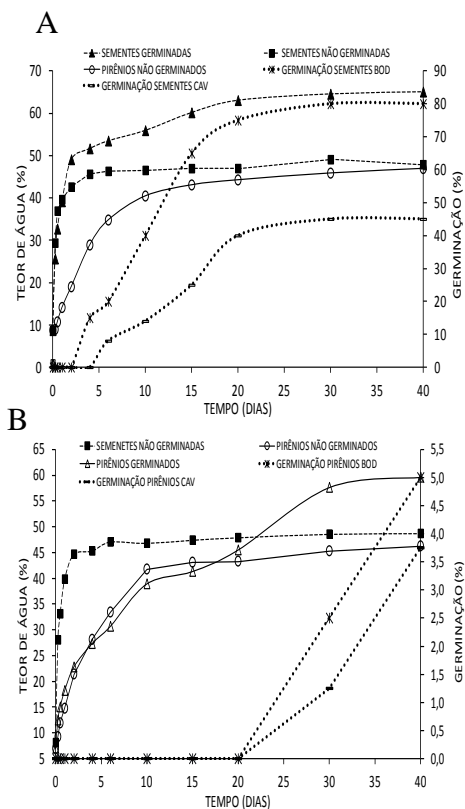


FIGURA 2. Teores de água e percentual de germinação de sementes isoladas e sementes extraídas de pirênios de *Caryocar brasiliense* recém-dispersos (A) e armazenados (B), imersos em água ou incubados em germinador, a 30°C (BOD), ou canteiro, em casa de vegetação (CAV).

3.3 Efeitos do armazenamento sobre a qualidade fisiológica das sementes

A condutividade elétrica das sementes extraídas dos pirênios armazenados foi superior àquela das sementes dos pirênios recém-dispersos (Fig. 3) com valores, após 48 horas de avaliação, respectivamente de 37,5 e 6,9 $\mu\text{S/g}$ de massa seca, indicando maior extravasamento de conteúdo celular e, conseqüentemente, maior dano da membrana. As concentrações de MDA foram superiores nas sementes oriundas de pirênios armazenados em relação às sementes dos pirênios recém-dispersos, com valores de 84,26 e 54,56 nmol/g massa seca ($P < 0,0001$) nessa ordem, indicando maior peroxidação de lipídeos e, por conseguinte, perda de qualidade fisiológica.

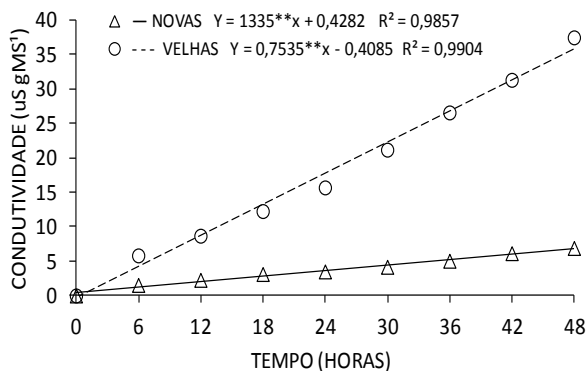


FIGURA 3. Condutividade elétrica de sementes de *Caryocar brasiliense* extraídas de pirênios recém-dispersos e armazenados por 330 dias, em galpão, à temperatura ambiente.

3.4 Níveis endógenos de ABA e GAs

As concentrações de ABA foram próximas na plúmula e radícula e apresentaram valores decrescentes nos pirênios recém-dispersos, armazenados e semeados (Fig 4). Entre as giberelinas ativas (GA_1 e GA_4 , OGAWA *et al.*, 2003) o GA_1 predominou, este fato esteve aparentemente relacionado com as maiores concentrações de suas precursoras (GA_{19} e GA_{20}) em relação às concentrações das precursoras de GA_4 (GA_9 e GA_{24}). Os níveis das giberelinas ativas não variaram significativamente em função dos tratamentos, enquanto que incrementos nas quantidades de GA_{19} , na plúmula e GA_{20} , na radícula, foram evidenciados nos pirênios semeados, em relação às demais condições. Como a redução nos níveis de ABA foi pronunciada, as taxas GAs ativas/ABA e GAs/ABA foram crescentes em ambas as regiões do embrião nos tratamentos de pirênios recém-dispersos, armazenados e semeados, sendo consideravelmente maiores neste último.

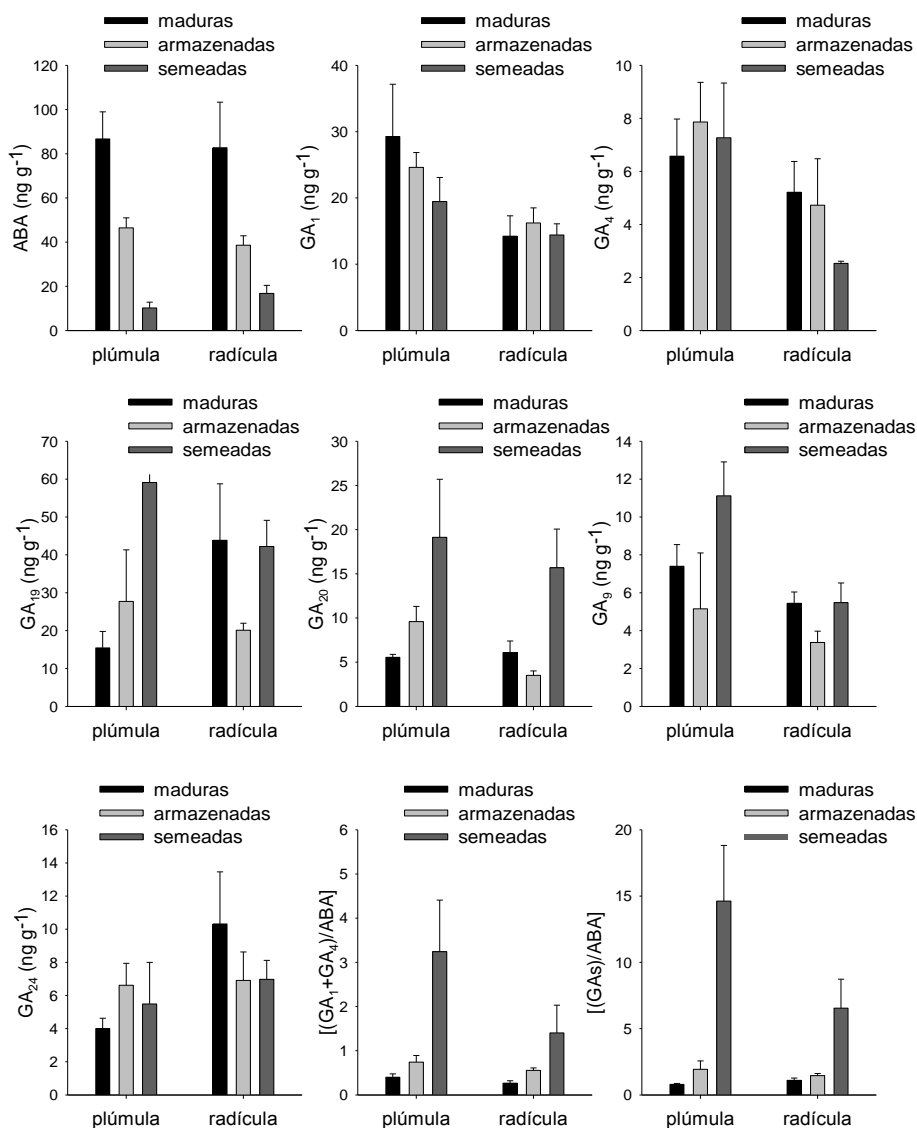


FIGURA 4. Concentrações dos hormônios ABA e GAs (GA₁, GA₄, GA₉, GA₁₉, GA₂₀ e GA₂₄) em plúmula e radícula de embriões de *Caryocar brasiliense* extraídos de pirênios recém-dispersos, armazenados em galpão, à temperatura ambiente, por 330 dias, ou semeados em canteiro, em casa de vegetação, à temperatura ambiente.

3.5 Efeito do GA₃ sobre a germinação a partir de pirênios

A aplicação de GA₃ foi efetiva na promoção da germinação, no caso dos pirênios armazenados por 90 dias, proporcionando percentual de emergência de 56%, na concentração de 125 mg/L (Fig. 5A). Os pirênios armazenados por 450 dias proporcionaram baixa emergência (máximo de 3%). O IVE apresentou tendência semelhante à do percentual de emergência, sendo representada por curva quadrática com melhor resultado associado à concentração de 125 mg/L de GA₃ (Fig. 5B). A mortalidade das sementes, avaliada após 210 dias da semeadura, aumentou linearmente em função das concentrações de GA₃, no caso dos pirênios armazenados por 90 dias, e foi próxima a 100%, para os pirênios armazenados por 450 dias (Fig. 5C).

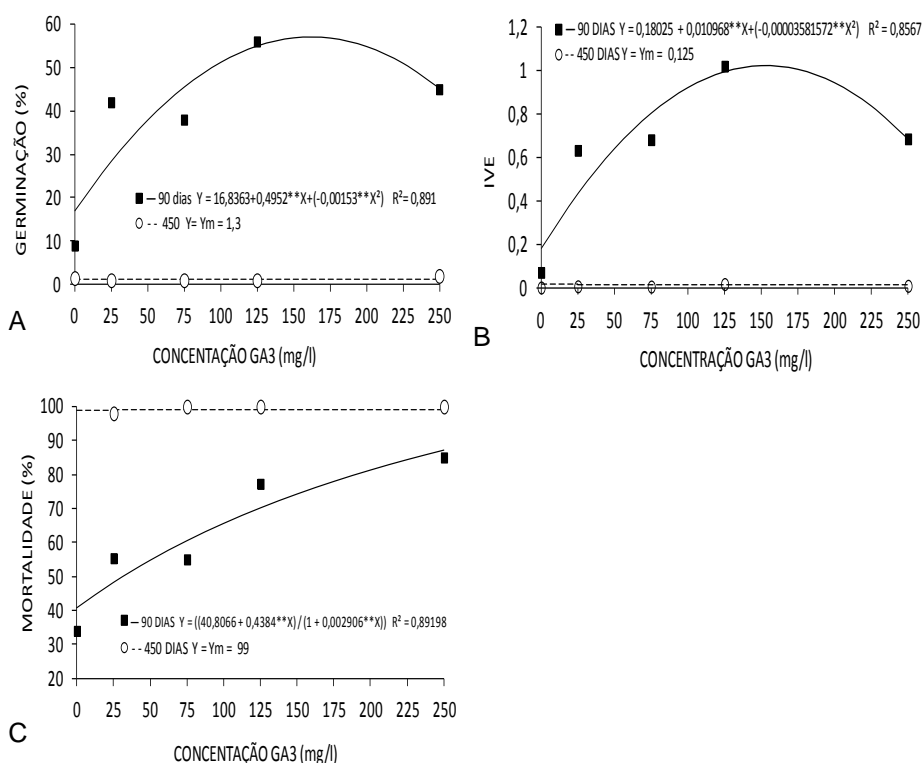


FIGURA 5. Percentual de emergência de plântulas (A), índice de velocidade de emergência (B) e percentual de mortalidade de sementes extraído de pirênios (C) de *Caryocar brasiliense*, previamente armazenados por 90 ou 450 dias, em galpão, temperatura ambiente e posteriormente submetidos à

imersão em soluções com diferentes concentrações de GA₃ e semeados em canteiro, em casa de vegetação, à temperatura ambiente, por 210 dias.

No caso dos tratamentos aplicados antes de a fase II da germinação ser alcançada, a pré-embebição dos pirênios armazenados por 90 dias em solução de 125 mg/L de GA₃ proporcionou maior emergência e IVE que os demais (Tabela 1). A mortalidade das sementes obtidas dos pirênios armazenados por 450 dias foi elevada.

TABELA 1. Percentual de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência (IVE) e mortalidade das sementes obtidas de pirênios de *Caryocar brasiliense*, previamente armazenados por 90 ou 450 dias, em galpão, à temperatura ambiente e posteriormente submetidos a tratamentos germinativos antes da fase II da germinação, semeados em canteiro, em casa de vegetação, à temperatura ambiente, por 210 dias.

Armazena- mento (dias)	Tratamento	Emergên- cia (%)	IVE (%)	Mortalida- de (%)
90	Pré-embebição em água por 10 dias	9,0 b	0,10 b	30,8 b
90	Pré-embebição em 125 mg/L GA3 por 4 dias	33,0 a	0,40 a	27,9 b
90	Sem pré-embebição	6,0 b	0,01 b	20,0 b
450	Pré-embebição em água por 10 dias	3,0 b	0,01 b	97,0 a
450	Pré-embebição em 125 mg/L GA3 por 4 dias	2,0 b	0,02 b	100,0 a
450	Sem pré-embebição	6,0 b	0,04 b	96,9 a

*As letras diferentes, em cada coluna, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4 DISCUSSÃO

Os pirênios de *C. brasiliense* apresentam dormência do tipo fisiológica não profunda, segundo o sistema de classificação de Baskin e Baskin (2014) ou dormência devida aos envoltórios, segundo a classificação de Bewley et al. (2013). Após a abscisão dos frutos, o exocarpo e os mesocarpos externos e internos são normalmente consumidos pelos dispersores. A unidade de dispersão é então constituída pelo pirênio (semente envolvida pelo endocarpo rígido). Sementes isoladas, próximo ao momento da abscisão (com teor de água em torno de 40%) ou após a desidratação inicial (teor de água de 7%) apresentaram percentuais de germinação acima de 80%. No entanto, não ocorreu a germinação nas sementes inseridas no endocarpo. A avaliação da absorção de água mostrou que os envoltórios da semente não impedem a embebição, uma vez que após 10 dias dessa fase os teores de água das sementes inseridas no endocarpo foram semelhantes aos das sementes dispostas embebidas isoladas, o que define a ausência de dormência física (BASKIN e BASKIN, 2014). Embora haja a sugestão de que a dormência na espécie esteja relacionada à imaturidade dos embriões (SÁ E CARVALHO *et al.*, 1994; SILVA e MEDEIROS FILHO, 2006; MOURA *et al.*, 2013), esta hipótese não é sustentada pela constituição exalbuminosa das sementes, com embriões muito desenvolvidos, e também em razão do alto percentual de germinação apresentado pelas sementes isoladas (BASKIN E BASKIN, 2014). Por fim, a diferença entre os percentuais de germinação entre sementes isoladas e inseridas no endocarpo e a resposta ao GA₃, no caso dos pirênios, caracterizam a dormência do tipo fisiológica não profunda (BASKIN e BASKIN, 2014) ou dormência devida aos envoltórios (BEWLEY *et al.*, 2013).

O endocarpo restringe a germinação por atrasar a absorção de água; o equilíbrio entre a restrição mecânica, proporcionada pelo endocarpo, e a capacidade de crescimento do embrião, controlada pelo balanço hormonal, definem a ocorrência da germinação. A avaliação da absorção de água em sementes inseridas no endocarpo indicou que são necessários aproximadamente 10 dias para que a fase II da germinação seja alcançada e

mais 10 dias para a conclusão da germinação (atingimento da fase III, segundo NONOGAKI *et al.*,2010 e BEWLEY *et al.*,2013) . O clima da região de ocorrência de *C. brasiliense* é caracterizado pela sazonalidade, com verões chuvosos e invernos secos, e pela inconstância nos padrões de precipitação mensal. É possível que a demanda por aproximadamente 20 dias com solo úmido, como pré-requisito para a germinação, seja um fato adicional à dormência com importante papel restritivo à germinação. A relação entre a capacidade de crescimento do embrião e a restrição proporcionada pelos tecidos adjacentes controlam a dormência fisiológica não profunda (FINCH-SAVAGE e LEUBNER-METZGER, 2006). Na maioria das espécies estudadas, o aumento da taxa GAs/ABA eleva o potencial de crescimento do embrião e induz o enfraquecimento dos tecidos adjacentes favorecendo a germinação (ALI-RACHEDI *et al.*,2004; KUCERA *et al.*,2005; BENECH-ARNOLD, 2006; CADMAN *et al.*,2006; NONOGAKI *et al.*,2010). No presente trabalho, constatou-se a ausência de germinação a partir de pirênios de *C. brasiliense* recém-dispersos e a ocorrência de germinação em pirênios após período de armazenamento. Além disso, alterações no balanço hormonal, favoráveis à indução do crescimento do embrião, como a redução da concentração de ABA, síntese de GAs e o aumento da taxa GAs/ABA ocorreram em embriões inseridos em pirênios armazenados por 330 dias, sendo ainda mais pronunciadas no caso dos pirênios mantidos em canteiros, onde foram mais expostos a variações climáticas. Essas observações permitem inferir que em pirênios recém-dispersos a capacidade de crescimento do embrião não é o bastante para que a resistência proporcionada pelo endocarpo seja vencida. Alterações na estrutura e fisiologia dos pirênios, influenciadas por fatores ambientais como temperatura e ciclos de umedecimento e secagem, ao logo do tempo, possivelmente diminuem a resistência do endocarpo e promovem aumento na taxa GAs/ABA, favorecendo a superação da dormência.

C. brasiliense tem potencial restrito de formação de bancos de sementes persistentes no solo devido à tendência à deterioração das sementes. Ainda que as sementes da espécie sejam dispersas, com elevados teores de água, fato normalmente relacionado à intolerância à desidratação (LONG *et*

al.,2014), elas são altamente resistentes à perda de água, com capacidade de manutenção da viabilidade mesmo com a redução dos teores de água até 7%. Esta propriedade foi constatada em trabalhos em que se observou germinação após período de armazenamento a seco (LEÃO *et al.*,2012; SILVA E MEDEIROS FILHOS, 2006). No presente trabalho, evidenciou-se, no entanto, que as sementes de pequizeiro são sensíveis à deterioração relacionada à peroxidação das abundantes reservas lipídicas, o que foi comprovado pela elevada mortalidade das sementes inseridas em pirênios armazenados, pelo teste de condutividade elétrica e pela quantificação de MDA. O acúmulo de MDA é associado à peroxidação lipídica (BARRETO *et al.*,2014) e tem normalmente como consequência a desestruturação das membranas celulares, que pode ser evidenciada pela perda do controle da retenção de solutos no teste de condutividade elétrica (TOMMASI *et al.*,2006; PUKACKA E RATAJCZAK 2005; BEWLEY *et al.*,2013; BARRETO *et al.*,2014). Aparentemente, a deterioração acontece de maneira desuniforme no lote de sementes por fatores ainda não conhecidos, fazendo com que algumas sementes não afetadas mantenham a sua viabilidade e, uma vez que a dormência seja aliviada, venham a germinar.

Na interpretação da aparente contradição entre a existência de dormência, que atrasa a germinação, e a tendência das sementes à deterioração, que limita a formação de bancos de sementes, deve-se considerar a relação de *C. brasiliense* com os dispersores. As plantas da espécie são longevas (BARRADAS, 1973) e, quando adultas, produzem anualmente, em média, 1500 sementes (dados não publicados). A germinação de uma pequena proporção destas sementes e o estabelecimento de algumas plântulas seriam o bastante para sustentar um grande crescimento populacional. Por outro lado, a colonização de novas áreas e a expansão territorial da espécie dependem de uma ampla e complexa interação com dispersores, para os quais, possivelmente, a porção nutritiva do mesocarpo e parte das sementes são destinadas. Considerando-se as informações disponíveis atualmente, é possível especular que a dormência e a abundante produção de sementes estejam associadas mais ao favorecimento à dispersão (pela manutenção de populações de

dispersores) e menos à formação de bancos de sementes, esse relacionado ao potencial de regeneração da população após a supressão das matrizes. Esta proposta é corroborada pela elevada capacidade de regeneração das plantas adultas por rebrota do sistema radicular, que garante o potencial de regeneração, e também pela baixa ocorrência de plântulas, observadas em populações de *C. brasiliense* (dados não publicados). Por outro lado, como poucas sementes conseguem superar a dormência e sobreviver, a renovação das populações naturais envelhecidas é dependente da disponibilidade de uma grande quantidade de diásporos, o que pode estar ameaçado no caso do extrativismo intenso dos frutos.

A extração de sementes de pirênios recém-dispersos, após 20 dias de armazenamento, e o tratamento de pirênios armazenados por 90 dias com 125 mg/L de GA₃ constituem métodos eficientes para a propagação de *C. brasiliense*. No momento da abscisão a dormência e a qualidade fisiológica das sementes de pequi são máximas, assim como ocorre em diversas espécies (HOLDSWORTH *et al.*,2008). Como a dormência é imposta pelo endocarpo (segundo critérios de BEWLEY *et al.*,2013), a extração das sementes recém-dispersas é um método indicado para sua superação pois proporciona percentuais de germinação próximos a 100% (dados não publicados) sem a necessidade de estimulação hormonal. No entanto, a redução do teor de água inicial de cerca de 40% para aproximadamente 7% é necessária para que haja o desprendimento das sementes do endocarpo e seja viável a extração com o mínimo de danos. Isto pode ser conseguido pelo armazenamento dos pirênios por cerca de 20 dias, à sombra, em condições ambientais. É necessário considerar que a extração das sementes é uma atividade laboriosa e meticulosa e que o armazenamento dos pirênios por mais de 150 dias causa redução significativa na germinabilidade (dados não publicados), ademais, a germinação das sementes isoladas deve ser conduzida em condições semiassépticas, devido à susceptibilidade das mesmas à deterioração microbiana. Deste modo, a propagação por meio da utilização de pirênios é mais adequada em condição de viveiro. Estudos preliminares indicaram que tratamentos envolvendo GAs, são efetivos para a superação da dormência em pirênios de pequi (SOUZA *et al.*,2007). No

entanto, em função de o padrão de embebição na espécie ainda não ser conhecido, não se avaliou a melhor ocasião para a aplicação dos fitorreguladores, o que pôde vir a aumentar sua eficiência assim como acontece em outras espécies (ROBERTO e HABERMANN, 2010; BEWLEY *et al.*,2013). No presente trabalho, concluiu-se que a pré-imersão dos pirênios em água, até que a fase II da germinação (BEWLEY *et al.*,2013) fosse atingida, antes da imersão com GA₃, aumentou em 58% a eficiência do tratamento.

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, foi possível concluir que os pirênios de *C. brasiliense* apresentam dormência do tipo fisiológica não profunda, segundo o sistema de classificação de Baskin e Baskin (2014) ou dormência devida aos envoltórios, segundo a classificação de Bewley *et al.* (2013). Constatou-se que o endocarpo restringe a germinação por atrasar a absorção de água e o equilíbrio entre a restrição mecânica, proporcionada pelo endocarpo, e a capacidade de crescimento do embrião, controlada pelo balanço hormonal, definem a ocorrência da germinação. Verificou-se ainda que *C. brasiliense* tem potencial restrito de formação de bancos de sementes persistentes no solo, o que está relacionado à tendência à deterioração das sementes; já a extração de sementes de pirênios recém-dispersos, após 20 dias de armazenamento, e a imersão de pirênios armazenados por 90 dias em solução de 125 mg/L de GA₃ constituem métodos eficientes para a propagação de *C. brasiliense*.

REFERÊNCIAS

ALI-RACHEDI, S.; BOUINOT, D.; WAGNER, M.H.; BONNET, M.; SOTTA, B.; GRAPPIN, P.; JULLIEN, M. Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, Bethesda, v. 219, n. 3, p. 479-488, jul. 2004.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado**: espécies vegetais úteis. Planaltina: Embrapa, 1998. p.107-112.

ARAUJO, F. D. A review of caryocarbrasiliense (Caryocaraceae): an economically valuable of central Brazilian Cerrados. **Economic Botany**, New York, v. 49, n.1, p. 40-48, 1995.

BARRADAS, M. M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (pequi) em várias fases de desenvolvimento. **Revista de Biologia**, São Paulo, v. 9, p. 69-84, 1973.

BARREIROS, A .L. B. S.; DAVID, J. M., DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 29, p.113-123, 2006.

BARRETO, L. C.; GARCIA, Q. S.; MORALES, M.; MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Vitamin E and defense-related phytohormones are reliable markers of embryo growth in macaw palm fruits exposed to various storage conditions. **Plant Cell, Tiss Organ Cult**, Amsterdam, v. 118, p. 203-213, 2014.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: Ecology, Biogeography, and, Evolution of Dormancy and Germination**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 2014. 1600 p.

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

BENECH-ARNOLD, R. L.; GUALANO, N. A.; LEYMARIE, J.; COME D; CORBINEAU F. Hypoxia interferes with ABA metabolism and increases ABA

sensitivity in embryos of dormant barley grains. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, p. 1423 – 1430. 2006.

BERNARDES, T. G.; NAVES, V. N.; REZENDE, C. F. A.; BORGES, J. D.; CHAVES, J. Propagação sexuada do pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.) estimulada pelo ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 38, n. 2, p.71-77, 2008.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. **Plant Cell**, Guelph, v. 9, p. 1055–1066. 1997.

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

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

BINOTTI, F. F. S.; HAGA, K. I.; CARDOSO, E. D.; ALVES, C. Z.; SÁ, M. E.; ARF, O. Efeito do período de envelhecimento acelerado no teste de condutividade elétrica e na qualidade fisiológica de sementes de feijão. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 2, p. 247-254, 2008.

BOWLER, C.; VAN MONTAGU, M.; INZÉ, D. Superoxide dismutase and stress tolerance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Danvers, v. 43, n. 2, p. 83-116, 1992.

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002.

BRASIL. **Convenção sobre Diversidade Biológica**: Conferência para Adoção do Texto Acordado da CDB – Ato Final de Nairobi. Brasília: MMA/SBF, 2000. 60p. (Biodiversidade, 2).

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009.

CADMAN, C. S., TOOROP, P. E., HILHORST, H. W. AND FINCH-SAVAGE, W.E. Gene expression profiles of *Arabidopsis Cvi* seeds during dormancy cycling indicate a common underlying dormancy control mechanism. **Plant J.**, Bethesda, v. 46, n.5, p. 805–822, 2006.

CARRARA, A. A. **Reconversão agroextrativista: perspectivas e possibilidades para o Norte de Minas Gerais.** 2007. 120 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Sustentável) – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

COOLBEAR, P. Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications. In: BARSA, A. S. (Ed.). **Mechanisms of seed deterioration.** New York: The Hawoeth Press Inc., 1995. p. 223-277.

CORREA, G. C.; NAVES, R. V.; ROCHA, M. R.; CHAVES, L. J.; BORGES, J. D. Determinações físicas em frutos e sementes de baru (*Dipteryx alata* Vog.), cajuzinho (*Anacardium othonianum* Rizz.) e pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.), visando ao melhoramento genético. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 24, n. 4, p.42-47, 2008.

DANIEL, O.; JANKAUSKIS, J. **Avaliação de metodologia para o estudo do estoque de sementes do solo, em floresta de terra firme na Amazônia Brasileira.** Belém: IPEF, v. 41 – 42, p. 18-26, 1989.

DEMIRKAYA, M.; DIETZ, K. J.; SIVRITEPE, H. O. Changes in antioxidant enzymes during aging of onion seeds. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, Cluj-Napoca, v. 38, n. 1, p. 49-52, 2010.

DOMBROSKI, J. L. D.; PAIVA, R.; ALVES, J. M. C.; SANTOS, B. R.; NOGUEIRA, R. C.; PAIVA, P. D. O.; BARBOSA, S. Métodos para superação da dormência fisiológica de *Caryocar brasiliense* Camb. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 2, p. 131-135, abr./jun. 2010.

DOMBROSKI, J. L. D.; PAIVA, R.; CAMARGO, I.P. Efeito de escarificação sobre a germinação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Rev. Bras. Frutic.**, Cruz da Almas, v. 20, n. 1, p. 68-73, abr. 1998.

DU, Z.; BRAMLAGE, W. J. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. **J. Agric. Food Chem.** Massachusetts, v. 40, p. 1566-1570, 1992.

FAO. **Ex situ storage of seeds, pollen and in vitro cultures of perennial woody plant species.** Rome: FAO, 1993. 83p. (FAO Forestry Paper, n.113).

FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

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

FINKELSTEIN, R.; REEVES, W.; ARIIZUMI, T.; STEBER, C. Molecular aspects of seed dormancy. **Ann. Rev. Plant. Biol.**, Bethesda, v. 59, p. 387-415, 2008.

HILHORST, H.W.M. (1995) A critical update on seed dormancy. 1. Primary dormancy. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 5, n.2, p. 61–73, 1995.

HOLDSWORTH, M. J., L. BENTSINK, AND W. J. SOPPE. Molecular networks regulating Arabidopsis seed maturation, after-ripening, dormancy and germination. **New Phytol**, Lancaster, v. 179, n. 1, p. 6133–6154, 2008.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Reading: University of Reading, n.1, 1996.

JENG, T. L.; SUNG, J. M. Hydration effect on lipid peroxidation and peroxide scavenging enzymes activity of artificially aged peanut seed. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 22, n. 3, p. 531-539, 1994.

KERMODE, A.R. (2005) Role of abscisic acid in seed dormancy. **J Plant Growth Regul**, Cambridge, v. 24, p. 319–344, 2005.

KERR, W.E.; SILVA, F.R.; TCHUCARRAMAE, B. Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) informações preliminares sobre um pequi sem espinhos no caroço. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v.29, n.1, p.169-171, 2007.

KUCERA, B.; COHN, M. A.; LEUBNER-METZGER, G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 15, p. 281–307, 2005.

LEÃO, E. F.; PEIXOTO, N.; JÚNIOR, O. P. M. Emergência de plântulas de pequi em função da planta matriz e uso de ácido giberélico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 4, p. 416-423, out./dez. 2012.

LEITE, G.L.D., NASCIMENTO, A.F., ALVES, S.M; LOPES, P.S.N., SALES, N.P.L.S E ZANUNCIO, J.C. The mortality of *Caryocar brasiliense* in northern Minas Gerais State, Brazil. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 34, n. 2, p. 131-137, 2012.

LIMA, A., A. M. O. SILVA, R. A. TRINDADE, R. P. TORRES, AND J. MANCINI-FILHO, Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) **Rev. Bras. Frutic.** Jaboticabal, v. 29, n.3, p. 695-698, 2007.

LONG R. L., GORECKI M. J., RENTON M., SCOTT J. K., COLVILLE L., GOGGIN D. E., COMMANDER L.E., WESTCOTT D.A., CHERRY H., FINCH-SAVAGE W.E. (2014). The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. **Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.**, Cambridge, v. 90, n. 1, p. 31-59, 2014.

LOPES, P. S .N.; SOUZA, J. C.; REIS, P. R.; OLIVEIRA, J. M.; ROCHA, I. D. F. Caracterização do ataque da broca dos frutos do pequizeiro. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal, v. 25, n. 3, p. 540-543, 2003.

LOPES, P.S.N.; PEREIRA, A.V.; PEREIRA, E.B.C.; MARTINS, E.R.; FERNANDES, R.C. Pequi. In: VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S .A.; SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**: de consumo in natura. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

MACEDO, J. F. **Pequi**: do plantio à mesa. Belo Horizonte: EPAMIG, 2005. 44 p. (Boletim Técnico; 76).

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

MIRANDA, J. de S. **Contribuição ao estudo da cultura do pequi (*Caryocar sp.*)**: propagação e concentração de nutrientes. 1986. 103 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 1986.

MOURA, N. F., CHAVES, J. L., NAVES, R. V., AGUIAR, A. V., SOBIERAJSKI, G. R. Variabilidade entre procedências e progênies de Pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.41, n.97, p.103-112, 2013.

MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Rapid and sensitive hormonal profiling of complex plant samples by liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Plant Methods**, Cambridge, p. 7-37, 2011.

NAMBARA E., OKAMOTO M., TATEMATSU K., YANO R., SEO M., KAMIYA Y. Abscisic acid and the control of seed dormancy and germination. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 230, n. 2, p. 55–67, 2010.

NEVES, S.C.; RIBEIRO, L.M.; CUNHA, L.R.G.; PIMENTA, M.A.S.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; LOPES, P.S.N. Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Atalleavitrivir*). **Flora**, Cambridge, 2013.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination- Still a mystery. **Plant Science**, Oxford, v. 179, n. 6, p. 1-8, 2010.

OLIVEIRA, W. L. **Ecologia populacional e extrativismo de frutos de *Caryocar brasiliense* Camb. no Cerrado no Norte de Minas Gerais**. 2009. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

PIANOVSKI, A. R.; VILELA, A. F. G.; SILVA, A. A. S.; LIMA, C. G.; SILVA, K. K.; CARVALHO, V. F. M.; MUSIS, C. R.; MACHADO, S. R. P.; FERRARI, M. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliensis*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, Cuiabá, v.44, n.2, p.249-259, 2008.

POZO, O. V. C. **O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais**. 1997. 100 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

PUKACKA, S.; RATAJCZAK E.; Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. **J Plant Physiol**. Bethesda, v. 162, n. 8, p. 873-885, 2005.

RIBAS, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. Estrutura genética em uma população de *trema micrantha* (L.) considerando diferentes estádios de vida. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n 65, p. 176 – 187, 2004.

RIBEIRO, A. E. O espaço, o homem e o seu destino no norte de Minas. In: UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. **Manejo sustentado do Cerrado para uso múltiplo**: subprojeto agroecologia e desenvolvimento. Lavras: UFLA, 1996. p. 11-18.

RIBEIRO, L. M.; OLIVEIRA, T. G. S.; CARVALHO, V. S.; SILVA, P. O.; NEVES, S. C.; GARCIA, Q. S. The behaviour of macaw palm (*Acrocomiaaculeata*) seeds duringstorage. **Seed Sci & Technol**, New York, v.40, p. 344–353, 2012.

ROBERTO, G. G.; HABERMANN, G. Morphologicalandphysiological responses of the recalcitrant *Euterpe edulis*seedsto light, temperature and gibberellins. **Seed Sci & Technol**, v. 38, p. 367-378, 2010.

SÁ e CARVALHO C. G.; CÔRTEZ, R. A.; CARNEIRO, I. F.; BORGES, J. D. Efeito de diferentes tratamentos na germinação do pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Acta Bot. Bras.**, Feira de Santana, v. 8, n. 1, p. 109-120, 1994.

SCANDALIOS, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCANDALIOS, J. G. Oxygen stress and superoxide dismutases. **Plant Physiology**, Madison, v. 101, n. 1, p. 7-12, 1993.

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

SEO, M., NAMBARA, E., CHOI, G. AND YAMAGUCHI, S. Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. **Plant Molecular Biology**, n. 69, 463–472, 2009.

SILVA, G.P.; NETO, A. R.; CABRAL FRANÇA, S.C.; SALES, J. J. F.; SILVA, F.G.; AND RESENDE, O. Influence of the drying temperature on the emergence and vigor of Pequi seedlings (*Caryocarbrasiliense*Camb), an important species of the Brazilian cerrado. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 6, p. 553-558, 2013.

SILVA, J. A.; SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Coleta de sementes, produção de mudas e plantio de espécies frutíferas nativas dos Cerrados**: informações exploratórias. Brasília: Embrapa-Cpac. 1992. 23 p. (Embrapa-Cpac. Documentos,44).

SILVA, M. A. P.; MEDEIROS FILHO, M. S. Emergência de plântulas de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm). **Rev. Ciênc. Agron.**, v.37, n3, p.381-385, 2006.

SILVA, M. A. P; MEDEIROS FILHO, S. Emergência de plântulas de pequi (*Caryocar coriaceum*Wittm). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.37, n.3, p.381-385, 2006.

SOUZA, O. A.; NASCIMENTO, J. L.; NAVES, R. V.; BORGES, J. D. Propagação sexuada de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): efeito da procedência de frutos e do ácido giberélico na emergência de plântulas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p.131-136, 2007.

SUNG, J. M.; CHIU, C. C. Lipid peroxidation and peroxidatives scavenging enzymes of naturally aged soybean seed. **Plant Science**, New York, v. 110, n. 1, p. 45-52, 1995.

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; PINTO, M.C.; GARA, L.D. Effects of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, Bethesda, v.44, p.359-368, 2006.

TWEDDLE, J. C., DICKIE, J. B., BASKIN, C. C., BASKIN, J. M. Aspects of Seed Desiccation Sensitivity. **Journal of Ecology**, Oxford, v.91, p.294-304, 2003.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes**: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 4, p.1- 26.