

ÂNGELA MARIA DA SILVA SOUSA

**ESTRUTURA, QUALIDADE FISIOLÓGICA E
ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *CARYOCAR
BRASILIENSE* (CARYOCARACEAE)**

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
Coorientadores: Leonardo Monteiro Ribeiro
Maria Olívia Mercadante Simões

Montes Claros

2016

Sousa, Ângela Maria da Silva.

S725e Estrutura, qualidade fisiológica e armazenamento de sementes
2016 de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) / Ângela Maria da Silva
Sousa. Montes Claros, MG: Instituto de Ciências Agrárias/UFMG,
2016.
95 f.: il.

**Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal
de Minas Gerais, 2016.**

Orientador: Prof. Paulo Sérgio Nascimento Lopes.

**Banca examinadora: Andréia Márcia Santos de Souza David, Rúbia
Santos Fonseca, Leonardo Monteiro Ribeiro, Maria Olívia Mercadante
Simões, Paulo Sérgio Nascimento Lopes.**

Referências: f: 82-89.

**1. Pequizeiro – Sementes. 2. Germinação. I. Lopes, Paulo Sérgio
Nascimento. II. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade
Federal de Minas Gerais. III. Título.**

CDU: 634.1

ÂNGELA MARIA DA SILVA SOUSA

ESTRUTURA, QUALIDADE FISIOLÓGICA E ARMAZENAMENTO DE
SEMENTES DE *CARYOCAR BRASILIENSE* (CARYOCARACEAE)

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

Aprovada em 07 de março de 2016.

Montes Claros
2016

“Não é o mais forte que sobrevive,
nem o mais inteligente, mas o que
melhor se adapta às mudanças”.
(Charles Darwin)

“Dedico este trabalho a minha mãe, Francisca Maria da Silva Sousa, e a minha irmã, Angélica da Silva Sousa, pelos incentivos que me deram para que continuasse minha jornada e conseguisse chegar até aqui. Amo muito vocês”.

AGRADECIMENTOS

Nesses anos de mestrado e de muito estudo, esforço e dedicação, gostaria de agradecer a algumas pessoas que acompanharam e foram fundamentais para realização deste sonho. Primeiramente a Deus, aquele que me amparou nesta caminhada, dando-me a certeza de que tudo é possível, basta ter coragem, força e determinação. Obrigado, Senhor, por mais esta conquista! A meu orientador Prof. Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes, pelos conselhos nos momentos de incertezas, por ter me recebido tão bem, pela amizade, carinho, pelos conhecimentos a mim transmitidos, com paciência dedicação e boa vontade. A minha querida coorientadora Prof.^a Dr.^a Maria Olívia Mercadante Simões, pela paciência, disponibilidade, acompanhamento e esclarecimentos necessários para o meu desempenho no trabalho. A meu ilustre coorientador Prof. Dr. Leonardo Monteiro Ribeiro, pela sua competência e responsabilidade na missão que agora se cumpre. Agradeço de coração pelas sugestões, conselhos, dicas, correções. Tudo isso compôs uma somatória fundamental não só para a construção do meu pensamento que se traduz nas páginas deste texto hoje entregue, mas como para a maturidade de toda uma vida a seguir: antes de tudo, este momento se dedica a esses grandes doutores com carinho.

A meus pais, Antônio C. de Sousa e Francisca M. S. Sousa, pela educação e pelo amor incondicional.

A minha irmã, Angélica Sousa, que mesmo de longe torceu por mim e me fez acreditar que sou capaz. Pela sua paciência em me ouvir nos momentos difíceis, não me deixando desanimar.

Aos amigos do mestrado, em especial Anna Regina, Fabíola, Claudiana, Heloisa e Sandra, pelo companheirismo, incentivo, apoio, amizade, carinho, ajuda e grande força.

Aos colegas do GEFEM, em especial Monielly, Thiago, Ianina, Vander, Roger, Levi, Nayara e Armando, por terem me ajudado na tarefa árdua de condução dos experimentos. Reconheço que sem a ajuda de vocês o trabalho não seria possível. Vocês brilharam, e o mérito dedico a vocês também! Ao mestre Diemerson e aos mestrandos Iara e William, pela amizade, carinho e força.

Aos colegas do LAM e LAV, Daiane, Hellen, Joyce, Isabela, Amanda, Anne, Jéssica e Keila, pela recepção, amizade, aprendizado e solidariedade.

Agradeço carinhosamente a Ádila Raíssa, Thiago Alkimim e Sandra Camelo, pela amizade verdadeira, por estenderem a mão amiga e me oferecerem o amparo, com certeza jamais esquecerei. À Thamires Cristinne, pelo acolhimento, conselhos, amizade e apoio nos momentos difíceis. Ao corpo docente e aos funcionários do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Agradeço à CAPES pela bolsa de Mestrado concedida. A minha tia Delma, pelo apoio financeiro e por reconhecer meu esforço. À banca examinadora, pelas sugestões e correções. Por fim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	10
GENERAL ABSTRACT	12
CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO	14
1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Descrição e importância de <i>Caryocar brasiliense</i>	15
2.2 Dormência em sementes	18
2.3 Germinação	20
2.4 Armazenamento e longevidade em sementes	22
3. OBJETIVOS GERAIS	26
CAPÍTULO 2 – ESTRUTURA DO DIÁSPORO, GERMINAÇÃO E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS SEMINAIS EM <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i> (<i>CARYOCARACEAE</i>)	27
RESUMO	27
CHAPTER 2 - STRUCTURE DIASPORE, GERMINATION AND RESERVES MOBILIZE ENABLING IN <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i> (<i>CARYOCARACEAE</i>)	28
ABSTRACT	28
1.INTRODUÇÃO	29
2. MATERIAL E MÉTODOS	30
2.1 Coleta e procedimentos iniciais	30
2.2 Morfologia	31
2.3 Análise morfométrica e da germinação de sementes isoladas e sementes inseridas nos endocarpos	31
2.4 Anatomia dos embriões e plântulas	33
2.5 Histoquímica	34
2.6. Microscopia eletrônica	34
3. RESULTADOS	35
3.1 Morfologia	35
3.2 Análise morfométrica e germinação de sementes isoladas e sementes inseridas nos endocarpos	39
3.3 Anatomia dos embriões e plântulas	45
3.4 Reservas seminais e sua mobilização	46

4. DISCUSSÃO	52
CAPÍTULO 3 – GERMINAÇÃO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i> SUBMETIDAS A ARMAZENAMENTO E GA₃	56
RESUMO	56
CHAPTER 3 - GERMINATION AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF THE <i>CARYOCAR BRASILIENSE</i> SEEDS UNDER STORAGE AND GA₃	58
ABSTRACT	58
1.INTRODUÇÃO	60
2. MATERIAL E MÉTODOS	63
Coleta e procedimentos iniciais	63
2.1 Efeito do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas	64
2.2 Efeito do armazenamento sobre a germinação de pirênios	65
2.3 Efeito de doses de GA ₃ na emergência de plântulas a partir de pirênios	66
2.4 Efeito de doses de GA ₃ e do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas	67
3. RESULTADOS	68
3.1 Efeito do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas	68
3.2 Efeito do armazenamento sobre a germinação de pirênios	71
3.3 Efeito de doses de GA ₃ na emergência de plântulas a partir de pirênios	72
3.4 Efeito de doses de GA ₃ e do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas	75
4. DISCUSSÃO	77
5. CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS	82

RESUMO GERAL

Caryocar brasiliense Cambess., o pequiizeiro, é uma frutífera arbórea nativa do Cerrado brasileiro de grande importância devido ao seu uso alimentar e potencial agroindustrial e medicinal. No entanto, a espécie encontra-se ameaçada pelo desmatamento, degradação do solo e extrativismo intenso dos frutos. Além disso, as sementes possuem dormência, o que dificulta a produção de mudas e o plantio em escala comercial. Verificou-se o papel dos componentes do pirênio no controle da germinação, descreveu-se o padrão de germinação e desenvolvimento inicial das plântulas e avaliou-se o efeito do ácido giberélico (GA_3) e do armazenamento durante a germinação das sementes. Além disso, os resultados obtidos foram relacionados com aspectos ecológicos associados à adaptação da espécie aos locais de ocorrência. Para descrever a germinação e o padrão inicial de desenvolvimento das plântulas, foram feitos dois experimentos, um com sementes isoladas e outro com sementes inseridas nos endocarpos. Cada experimento foi conduzido com três tratamentos pré-germinativos (sementes sem e com pré-embebição e tratadas com GA_3) em onze tempos de avaliação pós-semeadura. Foram descritas as estruturas dos pirênios secos e germinados e as características anatômicas das sementes isoladas, bem como foram avaliados o comprimento, a largura e a profundidade das sementes e das plúmulas e o teor de água ao longo do tempo, após a semeadura. Para avaliar o efeito do GA_3 e do armazenamento sobre a germinação das sementes, foram feitos quatro experimentos. No primeiro e no segundo experimento, utilizaram-se, respectivamente, sementes isoladas e pirênios armazenados por 2, 6, 13, 43 e 100 dias. No terceiro experimento, utilizaram-se pirênios de frutos recém-dispersos embebidos em cinco doses de GA_3 (0, 125, 250, 375, 500 mg/L). Já no quarto experimento, utilizaram-se dois tempos de armazenamento dos pirênios (0 e 20 dias) e seis doses de GA_3 (0, 50, 100, 500, 1000, 2000 mg/L), além de dois tratamentos adicionais (sem pré-embebição), um para cada tempo de armazenamento dos pirênios. Foram avaliados a percentagem de germinação diária ou semanal, o índice de velocidade de germinação e, ao final dos experimentos, a percentagem de sementes não germinadas e deterioradas. Os componentes

estruturais do pirênio têm influência direta na absorção de água, dormência e germinação de sementes de *C. brasiliense*. Sementes isoladas de frutos recém-dispersos apresentaram dormência e necessitaram de aplicação exógena de GA₃ para estimular a germinação. O armazenamento dos pirênios em um curto período de tempo, 43 dias, permitiu a superação parcial da dormência, no entanto aumentou a deterioração e a perda de vigor das sementes. O pirênio de *C. brasiliense* possui mecanismos adaptativos morfoanatômicos e fisiológicos que controlam a germinação e alocam o estabelecimento das plântulas nas épocas favoráveis para a sobrevivência.

Palavras-chave: Ácido giberélico. Armazenabilidade. Embrião. Pequizeiro. Dormência.

GENERAL ABSTRACT

Caryocar brasiliense Cambess., the *pequiizeiro*, is a native tree fruitful importance of Brazilian Cerrado due to its use food and agro-industrial and medicinal potential. However, the species is threatened by deforestation, soil degradation and intense extraction of fruit. In addition, seed dormancy, which hinders the production of seedlings and planting on a commercial scale. It was verified the role of pyrene components in controlling germination, described the pattern of germination and early seedling development and evaluated the effect of gibberellic acid (GA₃) and storage during seed germination. In addition, the results were related to environmental aspects associated with the adaptation of the species to places of occurrence. To describe the germination and initial development pattern of the seedlings were made two experiments, one with seeds isolated and one with seeds inserted in Cores. Each experiment was conducted with three pre-germination treatments (seeds with and without pre-soaking and treated with GA₃) in eleven post-sowing time evaluation. The structures were described dry and germinated pyrenes and anatomical characteristics of seeds isolated and evaluated the length, width and depth of the seed and plumule and the water content over time, after sowing. To evaluate the effect of GA₃ and storage on the seed germination, four experiments were conducted. In the first and second experiment, they used respectively isolated seeds and pyrenes stored for 2, 6, 13, 43 and 100 days. In the third experiment, pyrenes were used in freshly dispersed fruits soaked in five levels of GA₃ (0, 125, 250, 375, 500 mg/L). In the fourth experiment, they used two storage times of pyrenes (0 and 20 days) and six doses of GA₃ (0, 50, 100, 500, 1000, 2000 mg/L), and two additional treatments (without pre-imbibitions), one for each of the pyrenes storage time. They were evaluated the percentage of daily or weekly germination, germination speed index and at the end of the experiments, the percentage of non-germinated seeds and deteriorated. The structural components of the pyrene have direct influence on water absorption, dormancy and germination of *C. brasiliense* seeds. Isolated seeds of freshly dispersed fruits showed numbness and required exogenous

application of GA3 to stimulate germination. The storage of pyrenes in a short period of time, 43 days, allowed to partially overcoming dormancy, however, increased by the deterioration and loss of seed vigor. The pyrene *C. brasiliense* has morphoanatomic and physiological adaptive mechanisms that control the germination and establishment of seedlings allocate in times favorable for survival.

Keywords: Gibberellic acid. Storability. Embryo. Pequiizeiro. Numbness.

CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO

1. INTRODUÇÃO GERAL

O pequizeiro (*Caryocar brasiliense* Cambess.) é uma planta arbórea nativa do Cerrado brasileiro, com distribuição nos estados do Pará, Tocantins, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo, Paraná e no Distrito Federal (FLORA DO BRASIL, 2016). Essa espécie apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antifúngicas, sendo utilizada no controle de diversas doenças (ASCARI *et al.* 2013). Seus frutos oleaginosos são apreciados *in natura* em pratos típicos ou como subprodutos na forma de licores, doces, óleos, sorvetes, conservas pelas populações tradicionais (BARRADAS, 1973). A coleta dos frutos ocorre por meio do extrativismo, que exige grande demanda de mão de obra, assim a espécie proporciona renda para as diversas famílias dos locais de ocorrência (AFONSO *et al.*, 2015). No entanto, a coleta intensiva dos frutos, para suprir a crescente demanda de mercado (LOPES *et. al.*, 2010), e os baixos índices germinativos dificultam a propagação de mudas e o cultivo em larga escala (LEÃO *et al.*, 2012).

Os frutos de *C. brasiliense* caracterizados como drupas possuem polpa carnosa nutritiva e um endocarpo rígido que envolve a semente (BARROSO *et al.*, 1999). O endocarpo protege a semente, embora possa interferir diretamente na dormência e germinação. Trabalhos preliminares descreveram as estruturas morfoanatômicas e o desenvolvimento inicial das sementes de *C. brasiliense* (BARRADAS, 1973), porém ainda não existem estudos detalhados sobre os componentes do pirênio, morfoanatomia e os aspectos fisiológicos da semente durante a germinação e o início de desenvolvimento das plântulas.

C. brasiliense apresenta dormência fisiológica, que está relacionada à incapacidade do embrião em romper as estruturas que o circundam (BASKIN; BASKIN, 2014). O balanço hormonal entre giberelinas e ácido abscísico é que controla o potencial de crescimento do embrião e, conseqüentemente, o rompimento do endocarpo e a protrusão da raiz e/ou caule (ROSENTAL *et al.*, 2014). Estudos mostraram efeito positivo do GA₃ na germinação de sementes

isoladas (BERNARDES *et al.*, 2008; DOMBROSKI *et al.*, 2010; LEÃO *et al.*, 2012) e inseridas nos endocarpos (SOUZA *et al.*, 2007) de *C. brasiliense*. No entanto, os resultados de germinabilidade são variáveis e os autores não evidenciam o período de armazenamento e o teor de água das sementes utilizadas nos estudos, os quais têm influência direta no potencial germinativo dessa espécie.

Trabalhos mostraram que sementes de *C. brasiliense* superam a dormência ao longo do armazenamento, mas perdem a viabilidade (MENDES, 2015). No entanto, ainda não está claro se sementes de pequizeiro isoladas dos endocarpos superam totalmente a dormência, em função dos dados contraditórios encontrados na literatura (SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010; MENDES, 2015). Além disso, faz-se necessário esclarecer se a aplicação exógena de GA₃, caso a semente isolada apresente dormência, favorece a germinação e em qual concentração. Conhecimentos dessa natureza podem contribuir para o desenvolvimento de protocolos de armazenamento e métodos de propagação.

A mobilização de reservas semíníferas tem papel central na germinação e no desenvolvimento das plântulas (BEWLEY *et al.*, 2013). O mecanismo de mobilização de reservas em *C. brasiliense* pode ser considerado complexo, em função dos altos teores de óleos armazenados no embrião, que são transformados em carboidratos em diferentes vias metabólicas para o fornecimento de energia. Estudos relacionados à mobilização de reservas em sementes de *C. brasiliense* durante a germinação ainda são escassos e podem permitir a compreensão dos aspectos fisiológicos e dos mecanismos adaptativos dessa espécie ao ambiente.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Descrição e importância de *Caryocar brasiliense*

O Cerrado (*lato sensu*) está localizado em altitudes entre 300 e mais de 1.600 m, envolvendo uma área de 2.000.000 Km² em diversos estados brasileiros, sendo a maior parte concentrada no Planalto Central Brasileiro. A vegetação do Cerrado é bem diversificada, formada de campos, arbustos,

pequenas árvores e floresta fechada com árvores de mais de 12 m de altura. O domínio fitogeográfico é fortemente influenciado pelo clima sazonal tropical, com duas estações bem definidas, uma chuvosa (setembro-abril) e outra seca (maio-agosto), marcada pelo déficit hídrico. Segundo classificação de Köppen, o tipo de clima se enquadra no Aw, com inverno seco e verão chuvoso. Durante a estação chuvosa, a precipitação pode variar de 50 a 100 mm na parte Sul e de 0 a 50 mm nas demais áreas, que caracteriza os índices pluviométricos na época da seca. Os meses de dezembro a janeiro concentram a maior parte das chuvas, e a precipitação mensal pode variar de 150 a 500 mm, exceto em algumas áreas. As temperaturas médias máximas do bioma variam de 24 a 33 °C, sendo as temperaturas mais quentes na estação primavera-verão. O solo predominante do Cerrado é o Latossolo, caracterizado como profundo e de baixa fertilidade natural (SANO *et al.*, 2008).

A família Caryocaraceae é originária da América do Sul. No Brasil, é composta por 26 espécies distribuídas em dois gêneros, *Caryocar* L. e *Anthodiscus* G. Mey. O gênero *Caryocar* L. é constituído por 12 espécies, e três destas são endêmicas no Brasil. *Caryocar coriaceum* Wittm., com distribuição geográfica nos estados do Amazonas, Bahia e Ceará; *Caryocar cuneatum* Wittm., de ocorrência nos estados do Pará, Bahia, Maranhão, Piauí e Goiás; e *Caryocar edule* Casar., com predomínio na Bahia e Rio de Janeiro (FLORA DO BRASIL, 2016).

Caryocar brasiliense Cambess., o pequi, nativa do Cerrado (*lato sensu*), embora não endêmica do Brasil (FLORA DO BRASIL, 2016), é uma espécie que também merece destaque devido a seu valor econômico, social e ecológico. *C. brasiliense* pode possuir porte elevado, com altura acima de 10 m, mas também pode apresentar porte pequeno a depender da genética da planta e da fertilidade do solo (LOPES *et al.*, 2010). As plantas de *C. brasiliense* são autocompatíveis, porém a maior parte dos frutos é produzida por fecundação cruzada (LOPES *et al.*, 2010), tendo como polinizadores efetivos os morcegos nectarívoros *Glossophaga soricina* e *Anoura geoffroyi* (GRIBEL; HAY, 1993). A espécie apresenta a primeira floração na estação seca, normalmente nos meses de julho a setembro, mas em alguns anos pode ocorrer uma segunda florada no final da estação chuvosa. No segundo período

de floração, 85 árvores produziram cerca de 16.973 flores, mas apenas 526 frutos atingiram a maturação, indicando uma relação fruto/flor de 3,1% (GRIBEL; HAY, 1993). De acordo com Araújo (1995), *C. brasiliense* pode produzir de 500 a 2.000 frutos/safra. A frutificação normalmente inicia a partir do oitavo ano (ARAÚJO, 1995) e ocorre no final de novembro, podendo se estender até fevereiro (SANTOS *et al.*, 2013).

Os componentes dos frutos apresentam características peculiares que podem contribuir para que as sementes persistam no ambiente, até que as condições sejam favoráveis para o seu estabelecimento. Além disso, a espécie possui estratégias de adaptação ao clima seco e aos solos de baixa fertilidade do Cerrado. Trabalhos mostraram que a irrigação (JUNIOR *et al.*, 2013) e o solo ácido com elevados teores de alumínio (LEITE *et al.*, 2006) não afetaram o crescimento das plantas. Desse modo, pode ser considerada uma espécie promissora para agricultura em ambiente com escassez de água e nutrientes.

Os frutos de *C. brasiliense* apresentam alto valor nutricional por serem ricos em óleos, vitaminas, proteínas, carboidratos, fibras e carotenoides (ASCARI *et al.*, 2013). Além disso, as flores, o caule, a folha e a casca têm propriedades fitoquímicas, sendo utilizados na fabricação de cosméticos e produtos farmacêuticos (BARRADAS, 1973; AFONSO *et al.*, 2015). No âmbito ecológico, os frutos são fonte de alimento para os animais silvestres. Devido à sua importância, a extração dos frutos tem sido bastante representativa ao longo dos anos, sendo que, no ano de 2014, a região Sudeste extraiu cerca de 14.543 toneladas de frutos, o Centro Oeste, 3.040 t, e o Nordeste, 1.658 t, o que representa um total de 19.241 t de frutos colhidos no Brasil (IBGE, 2014). A coleta dos frutos é realizada por extrativistas de diferentes idades que tradicionalmente, na época da safra, usufruem da atividade como renda complementar (AFONSO *et al.*, 2015). Na região norte de Minas Gerais, por exemplo, mais de 2.000 famílias de trabalhadores rurais são beneficiadas com o extrativismo dos frutos. Muitos desses trabalhadores estão envolvidos em cooperativas e associações, apoiadas por projetos, programas e órgãos públicos, que visam organizar a produção do pequizeiro, tornando os produtos derivados mais atrativos e competitivos no mercado (CÂNDIDO *et al.*, 2012). Entretanto, o extrativismo intenso dos frutos e o uso da terra para as atividades

agrossilvipastoris têm contribuído para diminuir a densidade de plantas jovens. Com isso, torna-se importante desenvolver estratégias de proteção dessa espécie, ligadas ao seu uso econômico (GIROLDO; SCARIOT, 2015). De acordo com esse mesmo autor, a crescente demanda pela fruta tende a aumentar a pressão de seleção dos frutos mais acessíveis, o que exige um gerenciamento na colheita. De acordo com Leite (2012), a educação ambiental é um dos meios de conscientizar as populações para conservar os recursos naturais e proteger as áreas de ocorrência natural do pequiheiro. O plantio comercial é também uma alternativa que possibilita aumentar o número de plântulas. Porém, o cultivo é complicado e incerto, uma vez que a ocorrência de pragas e doenças tem sido um dos fatores limitantes para o desenvolvimento e sucesso na produção de pomares (LOPES *et al.*, 2010). Além do mais, a limitação da germinação dificulta a produção de mudas uniformes e em quantidades necessárias para cultivo comercial. Considerando a carência de pesquisas relacionadas à propagação do pequiheiro (SANTOS *et al.*, 2013), é de fundamental importância elaborar estudos que favoreçam a compreensão da estrutura, dormência e germinação dessa espécie. Trabalhos desse cunho são de grande relevância e contribuem para a domesticação da espécie, definição de métodos para produção de mudas e para o melhoramento genético.

2.2 Dormência em sementes

A dormência é uma característica intrínseca da semente que determina as condições ambientais apropriadas para a germinação (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Uma semente dormente é aquela incapaz de germinar em uma ocasião específica, sob quaisquer combinações de fatores ambientais em que uma semente não dormente germina (BASKIN; BASKIN, 2014). Além disso, pode ser resultado da adaptação alcançada pelas espécies durante a evolução para superar situações estressantes, que ameaçam a sobrevivência da planta enquanto semente (LINKIES *et al.*, 2010). Ou, quando associada à dispersão, é uma estratégia fenológica da planta que possibilita otimizar a germinação ao longo do tempo (BEWLEY, 1997), favorecer a

sobrevivência das espécies em estações climáticas desfavoráveis, evitar a competição e propiciar a formação do banco de sementes do solo, aumentando a chance de estabelecimento das plântulas (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; LONG *et al.*, 2014). Embora, a dormência apresente diversas vantagens, é um mecanismo que dificulta as avaliações de qualidade dos lotes e prejudica as atividades de produção de mudas, quando se deseja obter grandes quantidades de sementes germinadas e plântulas uniformemente estabelecidas em menor tempo (SANO *et al.*, 2008). Apesar do amplo estudo sobre dormência, este é um dos fenômenos sobre o qual ainda falta compreensão no campo da biologia de sementes (BEWLEY, 1997; NONOGAKI *et al.*, 2010). Baskin e Baskin (2004) propuseram um sistema hierárquico de classificação da dormência que explica os mecanismos fisiológicos das sementes. Nessa proposta, a dormência é classificada em cinco classes: morfológica, fisiológica, morfofisiológica, física e a combinação física e fisiológica. A dormência fisiológica é a mais comum entre os clados de gimnospermas e angiospermas e está relacionada à incapacidade do embrião em superar as restrições mecânicas impostas pelas estruturas que o circundam (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; BASKIN; BASKIN, 2014). As sementes que apresentam esse tipo de dormência absorvem água normalmente, o embrião encontra-se completamente desenvolvido no momento da dispersão, a estratificação quente ou fria aumenta o potencial de crescimento do embrião. Ainda nessa classe, a dormência é subdividida em níveis: profunda, intermediária e não profunda. Essa subdivisão depende da resposta do embrião excisado quando submetido a tratamentos pré-germinativos, como giberelinas e/ou estratificação (BASKIN; BASKIN, 2014). No Cerrado brasileiro, é muito comum a ocorrência de espécies que apresentam dormência fisiológica. Dentre estas, destacam-se *Attalea vitrivir* (NEVES *et al.*, 2013), *Butia capitata* (OLIVEIRA *et al.*, 2013) e *Acrocomia aculeata* (CARVALHO *et al.*, 2015). Em *C. brasiliense* há evidências de que a dormência é fisiológica, causada, em parte, pelo endocarpo que limita o crescimento do embrião, dificultando a germinação. Isso foi evidenciado pelos maiores índices germinativos obtidos após a retirada dessa estrutura (DOMBROSKI *et al.*, 2010, MENDES, 2015). Por outro lado, o endocarpo

apresenta funções fundamentais que garantem o desempenho e a vitalidade da semente, protegendo-a contra agentes externos, mantendo a integridade da sua estrutura e um adequado grau de umidade e regulando as trocas de água e gases com o ambiente (MARCOS FILHO, 2005).

Para a superação da dormência, a fim de completar a germinação, é indispensável o equilíbrio entre as forças do embrião e os tecidos adjacentes às sementes (KUCERA *et al.*, 2005; NONOGAKI *et al.*, 2010). Esse equilíbrio é controlado pelo balanço hormonal entre ácido abscísico (ABA) e giberelinas (GAs) (OGAWA *et al.*, 2003). O ABA induz e mantém as sementes no estado dormente, enquanto as GAs promovem e neutralizam o efeito do ABA (ALIRACHEDI *et al.*, 2004; KUCERA *et al.*, 2005; MULLER *et al.*, 2006; ROSENTAL *et al.*, 2014). O ABA regula a expressão de genes que codificam proteínas, inibindo a germinação e impedindo a extensão da radícula. Altas concentrações de ABA foram observadas em sementes fortemente dormentes (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Por outro lado, as GAs aumentam o potencial de crescimento do embrião, o que favorece a germinação (KUCERA *et al.*, 2005; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). Estudos demonstraram que, em *Caryocar brasiliense*, o balanço desses hormônios é essencial para superar a dormência (DOMBROSKI *et al.*, 1998; SOUZA *et al.*, 2007; BERNARDES *et al.*, 2008; LEÃO *et al.*, 2012; MENDES, 2015). No entanto, ainda são necessários mais estudos relacionados ao uso exógeno de GA₃ em sementes de *C. brasiliense* durante o armazenamento.

2.3 Germinação

A germinação inicia com a absorção de água pelas sementes e termina com o alongamento do eixo embrionário (BEWLEY *et al.*, 2013) e com a protrusão da raiz, através das estruturas que os rodeiam (ROSENTAL *et al.*, 2014). Durante a germinação, a água desempenha funções importantes como, enfraquecimento dos tecidos, aumento do tamanho do embrião, ruptura do revestimento da semente, facilita a difusão de gases e permite que as células ativem o metabolismo para o fornecimento de energia, necessário para o desenvolvimento do embrião (MARCOS FILHO, 2005). Por outro lado, a

reidratação das sementes após a secagem causa tensão sobre os componentes celulares, o que pode ocasionar danos às membranas e extravasamento de conteúdo celular, formação de espécies reativas de oxigênio e danos às proteínas (NONOGAKI *et al.*, 2010).

Normalmente, a absorção de água pelas sementes secas ocorre em três fases (BEWLEY *et al.*, 2013). A fase I se caracteriza pela absorção rápida de água pelas sementes dormentes e mortas, em que o processo é puramente físico e dirigido pelo potencial matricial. A fase II é marcada pela tendência à estabilização do conteúdo de água, em que sementes viáveis dormentes e não dormentes estão diretamente envolvidas nos eventos metabólicos essenciais para a conclusão da germinação. Tais eventos são reparo de membranas, DNAs, organelas e mitocôndrias danificadas durante a secagem e reidratação, síntese de novas proteínas e enzimas, síntese de hormônios, expressão de genes e mobilização de reservas. O controle desses eventos metabólicos na semente é complexo e envolve vários genes que são influenciados pelo ambiente (KOORNNEEF *et al.*, 2002). As sementes dormentes podem estar envolvidas em distintos processos metabólicos, porém um evento desconhecido pode impedir o alongamento do eixo hipocótilo-radícula e, por conseguinte, a germinação (BEWLEY, 1997). Na fase III, marcada pela conclusão da germinação, ocorre a retomada de absorção de água pelas sementes, através da diferença de potencial de pressão e osmótico (BEWLEY *et al.*, 2013).

Estudos relacionados à caracterização da curva de embebição de sementes de *C. brasiliense* concluíram que sementes isoladas secas, com 7% de umidade, absorvem água rapidamente durante a fase I e atingem a fase II da germinação aos dois dias de semeadura, com aproximadamente 40% de conteúdo de água, e a fase III entre quatro e seis dias, associada à emissão da raiz e/ou crescimento da plúmula. Por outro lado, em sementes envolvidas pelos endocarpos a absorção ocorre lentamente, e a fase II da germinação é alcançada entre dez e quinze dias, já a fase III, após 40 dias (MENDES, 2015).

Para que a germinação ocorra, as reservas embrionárias, tais como carboidratos, lipídios e proteínas, precisam ser mobilizadas para subsidiar o crescimento e posterior desenvolvimento das plântulas (NONOGAKI *et al.*,

2010). Em *C. brasiliense*, as reservas seminais são predominantemente lipídicas (ASCARI *et al.*, 2013) e encontram-se armazenadas no hipocótilo (BARRADAS, 1973). Em geral, os lipídios são acumulados nas sementes na forma de triglicerídeos e alocados em organelas denominadas corpos lipídicos (BEWLEY *et al.*, 2013). Diversos autores buscaram entender a dinâmica da mobilização em diferentes espécies com elevados teores de óleos (SUDA; GIORGINI, 2000; MELO *et al.*, 2009; LEONOVA, *et al.*, 2010; ALENCAR *et al.*, 2012; LOPES *et al.*, 2013; ZIENKIEWICZ *et al.*, 2014), uma vez que estudos dessa natureza são importantes para entender o sucesso reprodutivo e o crescimento inicial das plântulas durante e após a germinação. A mobilização de reservas é controlada pelos níveis internos de hormônios no embrião, como giberelinas e ácido abscísico (KUCERA *et al.*, 2005). Em sementes de *Arabidopsis*, o ABA inibe a expressão de genes que codificam enzimas que participam do ciclo do glioxilato e da β -oxidação na mobilização de reservas lipídicas (PRITCHARD *et al.*, 2002). No entanto, nem sempre as sementes respondem de forma tão clara à aplicação desses hormônios, o que se sabe é que, na maioria dos exemplos, o efeito é indireto, retarda ou inibe a germinação ou o crescimento das plântulas, através da redução da síntese e da atividade de enzimas hidrolíticas (BEWLEY *et al.*, 2013). No entanto, em *C. brasiliense*, ainda não existem estudos que envolvam o processo de mobilização de reservas durante a germinação.

2.4 Armazenamento e longevidade em sementes

A capacidade das sementes de se manterem viáveis e sobreviverem durante o armazenamento em condições naturais determina o sucesso da propagação de mudas em épocas adequadas e a longo prazo e expressa a persistência das sementes no ambiente (KAUTH; BIBER, 2014). A persistência consiste na capacidade de sobreviver no ambiente após a dispersão. Isso favorece a distribuição da diversidade genética ao longo do tempo e espaço, possibilita o armazenamento *ex situ* das sementes e a formação do banco de sementes do solo. A persistência varia em função das características físicas e

fisiológicas da semente e tem influência direta dos fatores bióticos e abióticos (LONG *et al.*, 2014).

As sementes que permanecem viáveis no solo após a dispersão compõem o banco de sementes do solo, o qual pode ser classificado em transitório e persistente (ESCOBAR; CARDOSO, 2015). No banco transitório, as sementes mantêm-se viáveis no solo por até um ano após a dispersão, enquanto que no banco persistente as sementes permanecem viáveis por um ano ou mais (ESCOBAR; CARDOSO, 2015; THOMPSON; GRIME, 1979). Trabalhos indicam que *C. brasiliense* tem potencial limitado para formar banco de sementes persistentes no solo, já que apresenta elevada taxa de deterioração ao longo do tempo de armazenamento (MENDES, 2015). Os bancos de sementes são importantes para a sobrevivência das espécies em casos de ocorrência de perturbação no ambiente, já que são fontes de propagação para a regeneração natural (BASKIN; BASKIN, 2014). No geral, é comum espécies lenhosas do Cerrado apresentarem banco de sementes transitórios (SALAZAR *et al.*, 2011).

As sementes secas, após serem dispersas da planta mãe e com o armazenamento, passam por mudanças químicas e fisiológicas que contribuem para sua deterioração (NONOGAKI *et al.*, 2010). Essas mudanças podem estar relacionadas à oxidação e peroxidação de constituintes das sementes, formação de radicais livres, danos de membranas fosfolipídicas e mudanças na expressão gênica. Com a dessecação, os mecanismos de proteção e expressão de genes tornam-se ineficientes (BEWLEY *et al.*, 2013), e, mesmo sob baixo conteúdo de água, o metabolismo das sementes continuam ativos consumindo reservas (MONCALEANO-ESCANDON *et al.*, 2013; NONOGAKI *et al.*, 2010). A tolerância à dessecação normalmente está associada ao ambiente de cultivo das espécies. Plantas cultivadas em clima seco produzem sementes tolerantes à dessecação, enquanto que plantas de clima úmido normalmente são intolerantes (VICI *et al.*, 2010). As sementes que toleram a dessecação após a dispersão são ditas ortodoxas e são dispersadas normalmente com teor de água que varia de 20 a 50%. Estas permanecem viáveis a 5% de conteúdo de água e toleram baixas temperaturas (HONG; ELLIS, 1996). As sementes que não toleram teor de água abaixo de 10%, mas

suportam baixas temperaturas, podem ser classificadas como intermediárias. No entanto, sementes recalcitrantes são dispersadas com teor de água elevado (30 a 70%) quando maduras, mas não toleram redução de 10% de conteúdo de água e nem baixas temperaturas (HONG; ELLIS, 1996). A tolerância à secagem é possível graças aos mecanismos presentes nas sementes, como vacúolo reduzido, habilidade de controle das rotas metabólicas, presença de sistemas antioxidantes, acúmulo de proteínas abundantes da embriogênese tardia (LEA) e eficiência no sistema de reparo durante a reidratação (FRANCHI *et al.*, 2011). No entanto, sementes recalcitrantes são deficientes nesses mecanismos fisiológicos, permanecendo viáveis por um período muito curto de tempo, o que dificulta a conservação dessas sementes a longo prazo (BEWLEY *et al.*, 2013). As sementes de *C. brasiliense* são dispersas com teor de água em torno de 40%, característica mais comum de sementes recalcitrantes (LONG *et al.*, 2014). No entanto, estas são tolerantes à desidratação, sendo capazes de permanecerem viáveis com teor de água em torno de 7% (MENDES, 2015). Aparentemente, a dessecação não é somente a perda de água das sementes, mas um momento em que estão ativos os processos metabólicos e a expressão dos genes, o qual reflete no desenvolvimento da semente, dormência, germinação e pós-maturação (VICI *et al.*, 2010). As condições ambientais nas quais as sementes estão armazenadas podem causar oxidação dos componentes celulares e alterações na conformação e nas funções das proteínas, contribuindo para a perda da dormência e preparo do embrião para o início da germinação (BEWLEY *et al.*, 2013).

A temperatura e a umidade do ambiente são os principais fatores que interferem na longevidade das sementes (BEWLEY *et al.*, 2013). A longevidade pode ser estendida a baixas temperaturas e baixa umidade, entretanto sementes recalcitrantes normalmente não toleram essas condições. Estudos com pinhão manso (*Jatropha curcas*) mostraram que as sementes perderam a viabilidade após seis meses de armazenamento, e o aumento da temperatura reduziu a taxa de germinação (MONCALEANO-ESCANDON *et al.*, 2013). Cousins e outros (2014), em estudos com sementes da família Asphodelaceae, evidenciaram que o período de pós-maturação foi necessário

para a superação da dormência, uma vez que 80% das sementes permaneceram viáveis, mas não germinaram com três meses de armazenamento. Já estudos com sementes de *C. brasiliense* inseridas nos endocarpos evidenciaram que, após 90 e 450 dias de armazenamento em temperatura ambiente, houve superação da dormência, porém os índices de sementes deterioradas e perda de vigor foram elevados (MENDES, 2015). Com isso, é evidente que a influência do armazenamento é variável entre as espécies, algumas mantêm-se viáveis por um longo período de tempo e outras não. Assim, estudos que relacionam o armazenamento *ex situ* das sementes com a dormência e a germinação podem fornecer informações para o desenvolvimento de protocolos de armazenamento a longo prazo e contribuir para estudos voltados para a regeneração das espécies em condição natural (COUSINS *et al.*, 2014).

3. OBJETIVOS GERAIS

Compreender a interação entre a estrutura do diásporo e os aspectos fisiológicos da semente no controle da germinação de *Caryocar brasiliense*, o pequizeiro.

Proporcionar estratégias que maximizem e ampliem a propagação de mudas de pequizeiro.

CAPÍTULO 2 – ESTRUTURA DO DIÁSPORO, GERMINAÇÃO E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS SEMINAIS EM *CARYOCAR BRASILIENSE* (CARYOCARACEAE)

RESUMO

Caryocar brasiliense é uma espécie arbórea oleaginosa amplamente distribuída no Cerrado brasileiro, com importância econômica, social e ecológica. A germinação e o desenvolvimento inicial de suas plântulas são fortemente influenciados pela morfoanatomia do pirênio. No entanto, as interações entre a estrutura do pirênio e os aspectos fisiológicos da semente ainda não foram elucidadas. Estudamos a morfologia do pirênio, o efeito do ácido giberélico (GA₃) sobre a germinação, a anatomia, a histoquímica e a ultraestrutura das sementes. O endocarpo rígido e revestido de acúleos protege a semente contra predação e retarda a absorção de água, controlando a germinação. O embrião expandido e hipocotiledonar altamente especializado apresenta revestimento rico em compostos fenólicos, feixes vasculares diferenciados e abundantes reservas proteicas e lipídicas. A incapacidade do embrião de superar a restrição mecânica imposta pelo endocarpo determina a dormência fisiológica não profunda na espécie. A germinação está associada ao crescimento do hipocótilo devido à mobilização de reservas, expansão celular estimulada pelo GA₃ e crescimento secundário, o que promove a ruptura do revestimento da semente e do endocarpo. A mobilização de reservas inicia-se com a embebição, no entanto a maioria das reservas seminais é consumida após a protrusão da raiz. O pirênio de *C. brasiliense* possui adaptações morfoanatômicas e fisiológicas que controlam a germinação e alocam o estabelecimento das plântulas nas épocas favoráveis à sobrevivência.

Palavras-chave: Dormência. Embrião. Endocarpo. Pequizeiro. Pirênio.

CHAPTER 2 - STRUCTURE DIASPORE, GERMINATION AND RESERVES MOBILIZE ENABLING IN *CARYOCAR BRASILIENSE* (CARYOCARACEAE)

ABSTRACT

Caryocar brasiliense is an arboreal oleaginous species widely distributed in the Brazilian Cerrado, with important economic, social and ecological. The germination and early development of their seedlings are strongly influenced by the morphoanatomy pyrene. However, the interactions between pyrene structure and physiological aspects of seed not yet been elucidated. We study the morphology of pyrene, the effect of gibberellic acid (GA₃) on germination, anatomy, histochemistry and ultrastructural seeds. The hard coated and endocarp spines protect the seed against predation and retard the absorption of water by controlling the germination. The expanded embryo and hypocotyledonary highly specialized features rich coating phenolic compounds, differentiated vascular bundles and abundant protein and lipid reserves. The embryo's inability to overcome the mechanical restriction imposed by cored determines not deep physiological dormancy in species. The germination is associated with growth of the hypocotyl due to the mobilization of reserves, cell growth stimulated by GA₃ and secondary growth, which promotes the breakdown of the seed coat and endocarp. The mobilization of reserves begins with the imbibitions; however most of the seminal reserves are consumed after the protrusion of the root. The pyrene *C. brasiliense* has morphoanatomic and physiological adjustments that control the germination and establishment of seedlings allocate in times favorable to survival.

Keywords: Dormancy. Embryo. Cored. *Pequi*. Pyrene.

1. INTRODUÇÃO

Caryocar brasiliense Cambess. (Caryocaraceae), o pequizeiro, é uma espécie arbórea oleaginosa nativa do Cerrado, com ampla distribuição nas regiões central e Sudeste do Brasil (Fig. 1a) (ASCARI *et al.*, 2013). A espécie apresenta importância ecológica, por produzir muitos frutos oleaginosos (Fig. 1b) que fornecem alimento para a fauna silvestre, importância econômica, na culinária, indústria alimentícia, medicinal e cosmética, e importância social, por ser fonte de renda complementar para populações tradicionais (ARAÚJO, 1995; GIROLDO; SCARIOT, 2015). Considerando o cenário de mudanças climáticas, a espécie tem potencial para a agricultura por ser adaptada ao clima tropical seco. No entanto, *C. brasiliense* encontra-se ameaçada pelo desmatamento, degradação do solo e extrativismo intenso dos frutos (ARAÚJO, 1995; GIROLDO; SCARIOT, 2015). Além disso, as sementes apresentam dormência que causa germinação irregular e em baixos níveis, o que limita a produção de mudas e o cultivo comercial (DOMBROSKI *et al.*, 2010).

A dormência é um bloqueio da germinação por causas intrínsecas em condições favoráveis, nas quais as sementes não dormentes germinam (BASKIN & BASKIN, 2014). Em diversas espécies do Cerrado, a dormência está associada à estrutura do pirênio (CARVALHO *et al.*, 2015; NEVES *et al.*, 2013; DA SILVA *et al.*, 2007). Os frutos de *C. brasiliense* são compostos por exocarpo coriáceo, mesocarpo espesso e endocarpo aculeado (Fig. 1b-d). O embrião possui características peculiares, como hipocótilo desenvolvido, cotilédones pequenos, epicótilo diminuto e polo radicular pouco diferenciado (Fig. 1f-g) (BARRADAS, 1973), o que dificulta a definição de critérios morfológicos para a identificação da germinação. Existem indicações de que a estrutura do pirênio de *C. brasiliense* restringe o desenvolvimento do embrião, causando a dormência, que é superada com a aplicação exógena de GA₃ (SOUZA *et al.*, 2007; BERNARDES *et al.*, 2008; DOMBROSKI *et al.*, 2010; LEÃO *et al.*, 2012; MENDES, 2015). No entanto, não existem trabalhos que associem a morfoanatomia dos pirênios com a dormência e germinação, os quais poderiam contribuir para ampliação dos conhecimentos sobre a

reprodução dessa espécie. Além do processo germinativo, a mobilização de reservas seminais e o padrão de desenvolvimento das plântulas são determinantes para o sucesso reprodutivo das espécies (NONOGAKI *et al.*, 2010; BEWLEY *et al.*, 2013), especialmente em ambiente de clima sazonal como no Cerrado. Em *C. brasiliense*, lipídios e proteínas são as reservas predominantes nas sementes (LIMA *et al.*, 2007; ASCARI *et al.*, 2013). No entanto, não há informação sobre mobilização de reservas e sobre o padrão de desenvolvimento inicial das plântulas na espécie.

Objetivou-se avaliar os aspectos fisiológicos e morfoanatômicos dos pirênios e das plântulas de *C. brasiliense*. Procurou-se responder às seguintes perguntas: I) Qual o papel dos componentes do pirênio no controle da germinação? II) Como ocorre a mobilização de reservas na semente? III) Qual é o padrão de desenvolvimento inicial das plântulas? Buscou-se também relacionar os resultados obtidos com aspectos ecológicos associados à adaptação da espécie nos locais de ocorrência.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e procedimentos iniciais

Frutos maduros de *C. brasiliense* foram coletados após a abscisão natural (a abscisão recente foi identificada pela cicatriz de cor amarelada na região do hilo e integridade do exocarpo e mesocarpo externo), em mais de 100 plantas, em janeiro de 2015, no município de São João da Lagoa, Montes Claros, norte do Estado de Minas Gerais, Brasil (16°46'42''S; 44°18'24''W). O exocarpo e o mesocarpo foram removidos com auxílio de uma faca, e os pirênios (sementes inseridas nos endocarpos) foram armazenados à sombra, por 38 dias, em local seco e arejado. Os pirênios, no momento da abscisão dos frutos, apresentavam alto teor de água (em torno de 40%), e as sementes estavam aderidas aos endocarpos, logo o período de armazenamento foi indispensável para que ocorresse a desidratação, que permitiu a extração de sementes intactas. Para a realização dos experimentos, foram utilizados um motoesmeril, para extrair as sementes dos endocarpos e escarificar a circunferência do pirênio, um torno de bancada, para prensar e causar uma

abertura no endocarpo na região do hilo, e um alicate de bico com uma chapa metálica na ponta, para abrir o endocarpo para retirada da semente (MENDES, 2015).

2.2 Morfologia

Vinte frutos recém-dispersos e vinte pirênios foram seccionados longitudinalmente, com o auxílio de faca e guilhotina, e as estruturas foram registradas por meio de câmera digital (Sony DSC-H9, Sony Corporation, Osaka, Japão) e descritas. Cinco repetições de vinte sementes isoladas foram embebidas em água deionizada por 48 horas, e dez repetições de dez pirênios foram embebidos por 14 dias em água (tempos de embebição necessários para sementes com conteúdo de água de aproximadamente 7% atingirem a fase II da germinação, conteúdo de água em torno de 40%) (MENDES, 2015). Após os tratamentos pré-germinativos, as sementes e os pirênios foram desinfestados, semeados em bandejas de polietileno transparente contendo vermiculita, irrigados com água deionizada a 80% da capacidade de retenção e dispostos em germinador a 30 °C, ajustado para fotoperíodo de 12 horas de luz. Observações foram realizadas durante 30 dias em sementes isoladas e 120 dias em pirênios, e as características morfológicas durante o processo germinativo foram descritas.

2.3 Análise morfométrica e da germinação de sementes isoladas e sementes inseridas nos endocarpos

Três amostras de 550 sementes foram extraídas dos endocarpos, como descrito anteriormente, e submetidas a três tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água deionizada por 48 horas (pré-hidratação); embebição em solução de GA₃ a 50 mg/L (Sigma, St Louis, USA) por 48 horas (GA₃). Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram imersas em fungicida comercial contendo 100 g/L de carboxanilida e 100 g/L de dimetilditiocarbamato (Vitavax-tiram® 200 SC, Chemtura, Elmira, Canadá) e dispostas em germinador, como já descrito, até o momento das avaliações.

Antes da semeadura e após 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 10; 15; 20 e 30 dias, cinco repetições de dez sementes, para cada tratamento, foram avaliadas quanto ao comprimento, largura e profundidade das sementes e das plúmulas, com auxílio de um paquímetro (Digital 200 mm, Digimess, Mooca, Brasil). Determinou-se, em balança analítica (FA-2104N, Bioprecisa, Curitiba, Brasil), a massa fresca das sementes, a massa seca, após secagem em estufa a 105 °C, por 24 horas, e o teor de água foi calculado conforme Brasil (2009).

Cinco repetições de vinte sementes, para cada tratamento pré-germinativo, foram dispostas em germinador por 30 dias, nas condições já descritas. Foram avaliadas diariamente a ruptura do revestimento da semente e a germinação. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram ruptura no revestimento seguida pela emissão da raiz e/ou crescimento da plúmula em 3 mm. No final do experimento, avaliaram-se as sementes quanto à deterioração e não germinação. Classificaram-se como deterioradas as sementes amolecidas, atacadas por microrganismos e que não apresentaram nenhum sinal de início de germinação; e não germinadas as que não apodreceram e possuíam, após a retirada do revestimento, coloração branca típica de semente viável (BRASIL, 2009).

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado. O experimento de morfometria foi realizado em esquema fatorial 3 (tratamentos pré-germinativos) x 11 (tempos). Os dados referentes à germinação foram obtidos por contagem e convertidos em percentual. O índice de velocidade de germinação (IVG) foi calculado pelo somatório do número de sementes germinadas por dia, dividido pelo número de dias após a semeadura (MAGUIRE, 1962). Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. A correlação entre a ruptura do revestimento e a germinação foi determinada por meio do coeficiente de Pearson.

Três amostras de 550 pirênios foram submetidas a três tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 14 dias (pré-hidratação); e embebição em água por 10 dias, seguida por embebição por quatro dias em solução de GA₃, a 125 mg/L (Progibb 400, Abbott Laboratories, North Chicago, EUA). Após a aplicação dos tratamentos, os

pirênios foram semeados e dispostos em germinador, como já descrito. Antes e após 0,5; 1; 2; 3; 5; 20; 40; 60; 120 e 180 dias de semeadura, cinco repetições de dez sementes foram extraídas dos endocarpos em cada tratamento, e as dimensões das sementes e das plúmulas e o teor de água foram avaliados, como descrito no experimento com sementes isoladas.

Dez repetições de dez pirênios, para cada tratamento pré-germinativo, foram dispostos em germinador por 196 dias, nas condições descritas acima. Semanalmente, realizaram-se avaliações da germinação e consideraram-se germinadas as sementes inseridas nos endocarpos que conseguiram romper essa estrutura e emitiram raiz e/ou crescimento da plúmula em 3 mm. As demais características avaliadas, o delineamento experimental e o esquema fatorial utilizado, foram os mesmos do experimento com sementes isoladas.

2.4 Anatomia dos embriões e plântulas

Sementes isoladas secas, com teor de água de 6,40%, bem como sementes com um dia de semeadura e sementes recém-germinadas foram fragmentadas sob lupa, com auxílio de lâmina de barbear, em cubos de aproximadamente 3 mm, nas seguintes regiões: mediana central, periférica ventral e dorsal do hipocótilo, polo radicular e epicótilo. Os fragmentos foram fixados em solução Karnovsky (KARNOVSKY, 1965), sob vácuo (500 mmHg), por 24 horas, desidratados em série etílica (JENSEN, 1962) e incorporados em resina glicol metacrilato (Technovit ® 7100, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Alemanha) (PAIVA *et al.*, 2011). Realizaram-se secções transversais e longitudinais (7µm) por meio de um micrótomo rotativo (Atago, Tóquio, Japão), e após obtenção dos materiais, as lâminas foram coradas com azul de toluidina 0,05%, pH 4,7 (modificado de O'BRIEN *et al.*, 1964). Lâminas permanentes foram montadas em resina acrílica (Itacril ®, Itaquaquecetuba, Brasil). Os materiais foram descritos e documentados usando um fotomicroscópio (Al/Axion Cam Icc 3, Zeiss, Jena, Germany).

2.5 Histoquímica

Os materiais para análise histoquímica foram os mesmos utilizados para análise da anatomia. No entanto, estes foram seccionados na espessura de 10 µm e, posteriormente, corados em solução de lugol, para detecção de amido (JENSEN, 1962), Xylidine ponceau (VIDAL, 1970) e azul de bromofenol (MAZIA *et al.*, 1953), para detecção de proteínas e Sudan IV, para lipídios (PEARSE, 1980, modificado). As imagens foram documentadas como descrito para anatomia.

2.6. Microscopia eletrônica

Para microscopia eletrônica de varredura (MEV), foram obtidas, sob lupa, amostras da plúmula e da região do polo radicular de sementes secas e recém-germinadas. As amostras foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) por 24 horas, desidratadas em série etílica, secas ao ponto crítico (utilizando-se CO₂) em equipamento apropriado (CPD 020, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein), preparadas em suportes de alumínio, metalizadas com ouro em aparelho (MED. 010 - Balzers, Balzers, Liechtenstein) e analisadas em microscópio eletrônico de varredura Quantum 200 (FEI Company, Eindhoven, Holanda), com captura de imagem digital, em 12-20 kV (ROBARDS, 1978).

Para microscopia eletrônica de transmissão (MET), sementes secas e recém-germinadas foram fragmentadas sob lupa, na região do hipocótilo adjacente à inserção dos cotilédones, originando secções de aproximadamente 0,4 mm de espessura. As amostras foram fixadas em solução de Karnovsky por 24 h (KARNOVSKY, 1965), pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% (tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2), desidratadas em série acetônica e infiltradas em resina Araldite. Secções ultrafinas (50 nm) foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo. As secções foram examinadas utilizando microscópio eletrônico de transmissão Philips CM 100 (Philips/FEI Corporation, Eindhoven, Holanda) a 80 kV (ROBARDS, 1978; ROLAND, 1978).

3. RESULTADOS

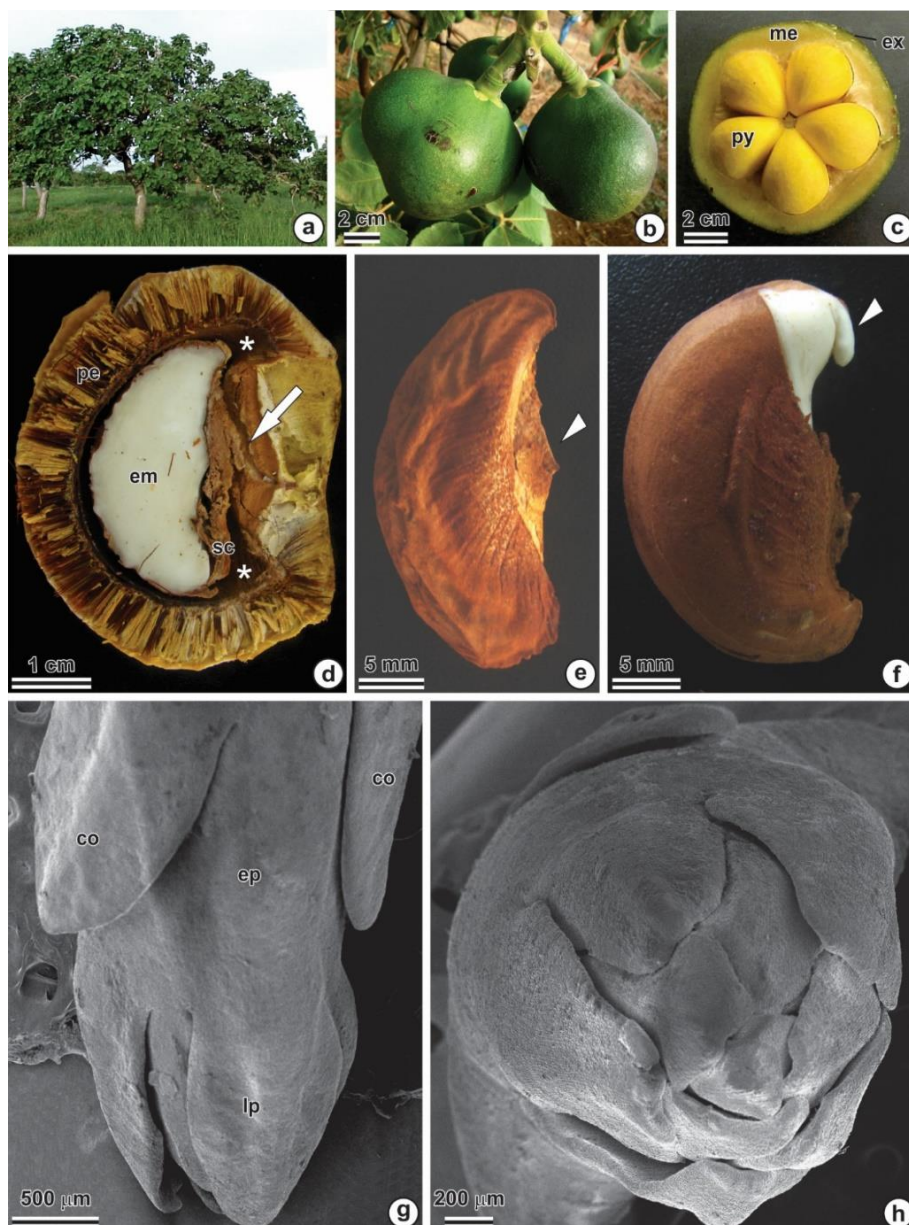
3.1 Morfologia

Frutos de *C. brasiliense* são drupoides e apresentam comprimento variável, em torno de 10 cm (Fig. 1b). O pericarpo é constituído de três regiões distintas: exocarpo de consistência corticosa e coloração verde (Fig. 1b), mesocarpo externo espesso, carnoso de coloração amarelo esbranquiçado, mesocarpo interno amarelo, oleaginoso, macio e aromático (Fig. 1c) e endocarpo lenhoso muito rígido, com numerosos acúleos finos, de aproximadamente 2,5 mm de comprimento (Fig. 1d). Os frutos contêm de um a cinco pirênios (Fig. 1c) formados por endocarpo constituído de tecido heterogêneo, o qual, próximo ao hilo, apresenta textura corticosa e esponjosa, que aparentemente favorece a hidratação da semente (seta) que se encontra envolvida por essa estrutura (Fig. 1d). A semente tem formato reniforme, coloração branca, comprimento que varia de 19 a 31 mm, largura de 10 a 16 mm e profundidade de 6 a 14 mm (Figs. 1d-e e Gráfico 3a-f). O revestimento da semente apresenta consistência papirácea, coloração marrom com pigmentação mais clara e maior espessura próximo ao hilo (Fig. 1e). O embrião do tipo expandido apresenta hipocótilo desenvolvido, polo radicular pouco diferenciado, plúmula com dois cotilédones pequenos escamiformes e epicótilo pouco alongado (Fig. 1d-g), com muitos primórdios foliares imbricados na extremidade (Fig. 1h).

No nono dia após a sementeira, 44% das sementes isoladas pré-hidratadas apresentaram-se entumecidas e com ruptura no revestimento (Fig. 2a). No décimo dia após a sementeira, ocorreu a protrusão do primórdio radicular em 9% dos casos, com emissão precoce de raízes laterais (Fig. 2b-c). Em 2% das sementes germinadas, houve crescimento da plúmula antes da protrusão do primórdio radicular (Fig. 1d). Em alguns casos, ocorreu a degeneração precoce da raiz principal e proliferação de raízes adventícias a partir do hipocótilo (Fig. 2e). A conclusão da germinação a partir dos pirênios foi precedida pela expansão do hipocótilo e ruptura do endocarpo (Fig. 2f). Aos 40 dias após a sementeira, ocorreu emissão da raiz e/ou crescimento da

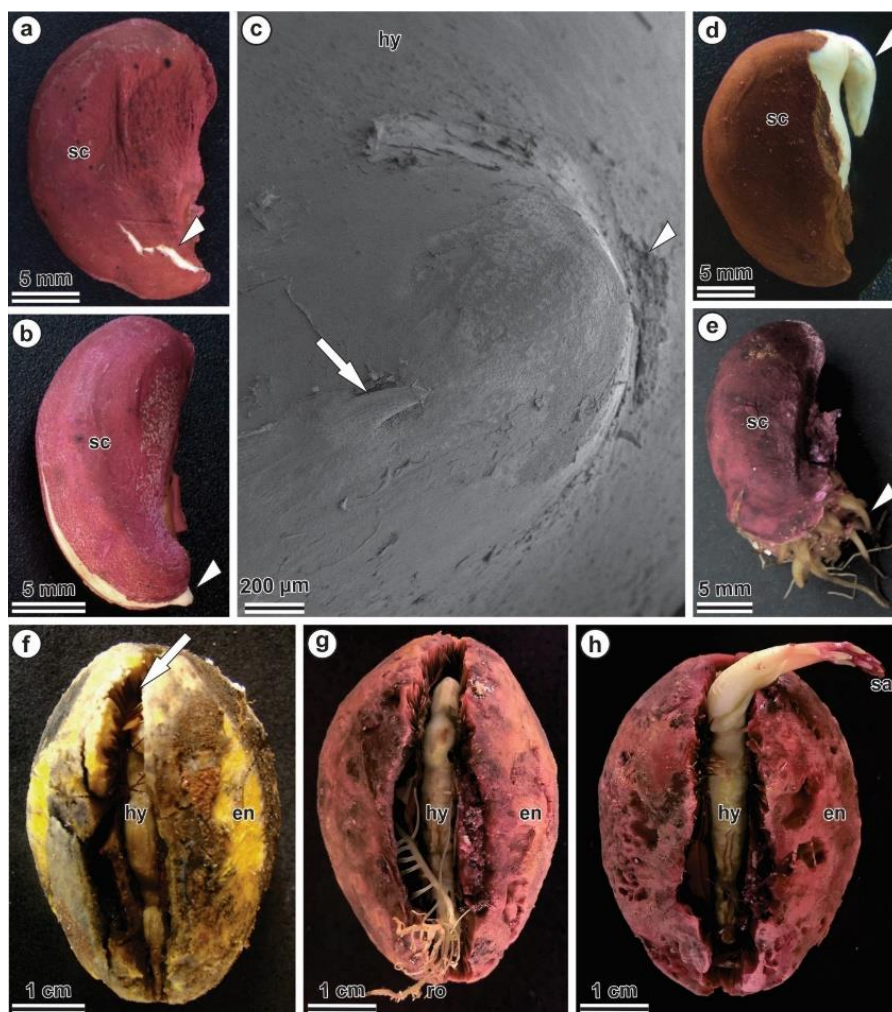
plúmula (Fig. 2g-h). O padrão de desenvolvimento das plântulas de *C. brasiliense* durante o processo germinativo foi muito variável. Algumas sementes foram intensamente atacadas por fungos, mas na maioria dos casos seu desenvolvimento não foi limitado.

Fig. 1 Morfologia de planta e fruto de *Caryocar brasiliense*.



(a) Planta em condição natural. (b) Frutos. (c) Detalhe do fruto seccionado transversalmente. (d) Pirênio com tecido corticoso na região do hilo (seta). (e) Semente seca, evidenciando o hilo (ponta de seta). (f) Semente embebida, evidenciando a plúmula (ponta de seta). (g) Detalhe da plúmula. (h) Detalhe dos primórdios foliares. co: cotilédone, em: embrião, ep: epicótulo, ex: exocarpo, lp: primórdio foliar, me: mesocarpo, pe: pericarpo, py:pirênio, sc: revestimento. Fonte: autora

Fig. 2 Morfologia da semente isolada, pirênio e plântula de *C. brasiliense*.



(a) Semente, após nove dias de semeadura, evidenciando ruptura no revestimento (ponta de seta). (b) Semente, após dez dias de semeadura, evidenciando a protrusão da raiz principal (ponta de seta). (c) Fotomicrografia obtida em microscopia eletrônica de varredura, evidenciando a protrusão do primórdio da raiz principal, a qual rompe os tecidos embrionários de revestimento (ponta de seta). A seta indica a emissão da raiz lateral. (d) Semente, após dez dias de semeadura, evidenciando crescimento inicial da plúmula (ponta de seta). (e) Semente, evidenciando raízes adventícias, a partir do hipocótilo (ponta de seta). (f) Pirênio, com 40 dias de semeadura, evidenciando a ruptura do endocarpo (seta). (g) Pirênio, após 40 dias de semeadura, evidenciando a proliferação de raízes adventícias. (h) Pirênio, após 40 dias de semeadura, evidenciando crescimento da plúmula. (a-b, e, g-h) Cor rósea – devido ao fungicida. en: endocarpo, hy: hipocótilo, sa: ápice caulinar, sc: revestimento. Fonte: autora

3.2 Análise morfométrica e germinação de sementes isoladas e sementes inseridas nos endocarpos

Os teores de água das sementes isoladas no tratamento controle (6,3%) aumentaram rapidamente até o segundo dia após a semeadura, quando atingiram 38,5%, o que caracterizou o final da fase I da germinação e início da fase II (Gráfico 1a). A fase II foi marcada pela tendência à estabilização no conteúdo de água. Aos 10 dias após a semeadura, nesse mesmo tratamento ocorreu um pequeno aumento nos teores de água das sementes, marcando a fase III da germinação, por estar associada à emissão da raiz e/ou crescimento da plúmula (Fig. 2b-d). A pré-hidratação e a aplicação de GA₃, nas sementes isoladas, anteciparam a fase II da germinação. No entanto, o tratamento em GA₃ promoveu aumentos significativos nos teores de água das sementes, na maioria dos tempos após a semeadura, em relação ao tratamento controle. As sementes inseridas nos endocarpos absorveram água de forma lenta e gradual até os 120 dias (Gráfico 1b). Aparentemente, as sementes inseridas nos endocarpos do tratamento controle atingiram a fase II da germinação aos 20 dias após a semeadura, quando alcançaram teores de água de 39,7%, valor similar ao das sementes isoladas quando atingiram a fase II nesse mesmo tratamento. Já a fase III foi alcançada aos 40 dias após a semeadura e foi associada à emissão da raiz e/ou crescimento da plúmula (Fig. 2g-h). Os teores de água das sementes pré-hidratadas até os 40 dias e aos 120 dias após a semeadura foram significativamente mais elevados do que no tratamento controle. Por outro lado, os teores de água das sementes tratadas com GA₃ foram maiores em todos os tempos após a semeadura, em relação ao tratamento controle. Aos 20 dias após a semeadura, a absorção de água das sementes isoladas foi maior e mais rápida do que nas sementes inseridas nos endocarpos (Gráfico 1a-b).

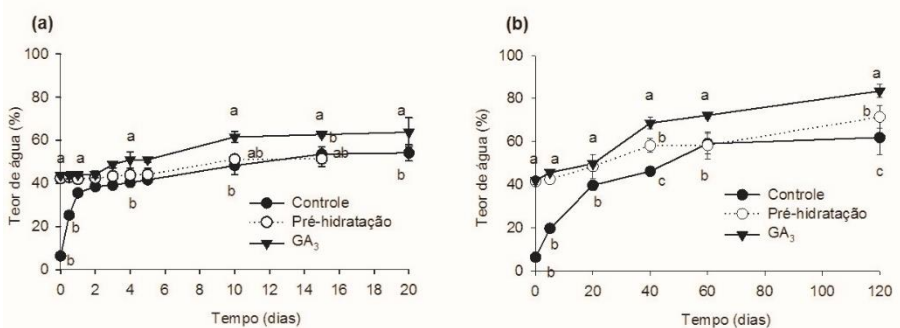
No nono dia após a semeadura, sementes isoladas pré-hidratadas e tratadas com GA₃ apresentaram ruptura no revestimento (Fig. 2a), evento que apresentou alta correlação ($R_2=0,82$) com a protrusão da raiz e/ou crescimento da plúmula (Fig. 2b-d). Nas sementes isoladas, os maiores valores de germinação no tratamento controle foram alcançados aos 26 dias após a

semeadura, enquanto que nas tratadas com GA₃ o mesmo ocorreu aos 23 dias. No tratamento controle, o atraso na germinação das sementes foi evidenciado pelo menor IVG (0,46), em relação ao tratamento com GA₃ (1,29). Os percentuais germinativos das sementes tratadas com GA₃ foram maiores do que no tratamento controle. A germinação das sementes inseridas nos endocarpos iniciou aos 40 dias após a semeadura, e a aplicação de GA₃ proporcionou índices germinativos e IVG (1,16) maiores do que no tratamento controle (0,58) e pré-hidratação (0,43) (Fig. 2g-h e Gráfico 2b). No entanto, a germinação das sementes no tratamento com GA₃ não diferiu estatisticamente do tratamento controle. A germinação das sementes isoladas teve tendência a estabilizar após 24 dias de semeadura, enquanto que em sementes inseridas nos endocarpos o mesmo ocorreu aos 133 dias (Gráfico 2a-b). Isso indica que o endocarpo conferiu restrição mecânica ao crescimento do embrião. Tanto em sementes isoladas quanto em sementes inseridas nos endocarpos, o tratamento com GA₃ promoveu aumento da germinação. No entanto, nas sementes isoladas, os índices germinativos foram maiores do que nas sementes inseridas nos endocarpos. Os percentuais de sementes isoladas e inseridas nos endocarpos não germinadas foram de 15% e 13%, e os de deterioradas foram de 35% e 60%, respectivamente. Essa situação sugere que as sementes não são adaptadas a longos períodos com alta umidade do substrato inerte, do tipo vermiculita, em câmara de germinação.

As dimensões das sementes isoladas no tratamento controle aumentaram ao longo do tempo, em relação à condição inicial (Gráfico 3a, c, e). A pré-hidratação e o tratamento com GA₃ aumentaram a largura e a profundidade das sementes na condição inicial, em relação ao tratamento controle. Além disso, o tratamento com GA₃, também proporcionou aumentos significativos no comprimento e na profundidade das sementes, em relação ao tratamento controle, a partir do décimo dia após a semeadura. O tratamento controle e de pré-hidratação promoveram aumentos significativos nas dimensões das sementes aos 120 dias, quando comparado à condição inicial (Gráfico 3b, d, f). Sementes pré-hidratadas diferiram significativamente no comprimento, em relação ao tratamento controle, no quinto e no vigésimo dia após a semeadura, e na largura e profundidade nas avaliações anteriores ao

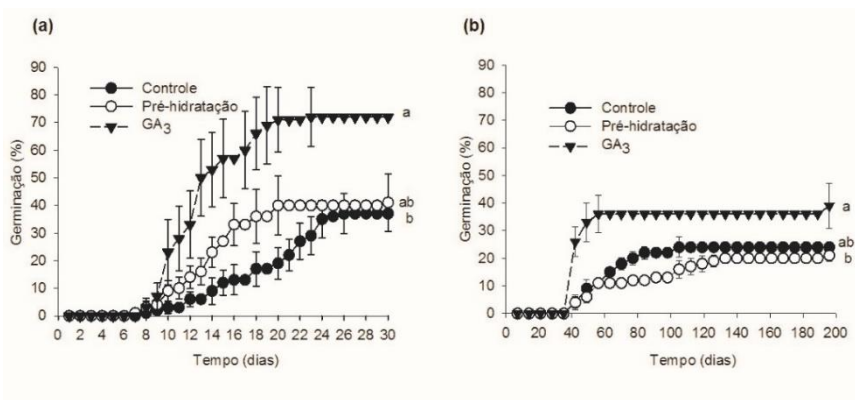
quinto dia. O tratamento com GA₃ proporcionou aumentos significativos no comprimento e na profundidade das sementes, em quase todos os tempos após a semeadura, e na largura nas avaliações anteriores ao quinto dia e a partir dos 60 dias, em relação ao tratamento controle. O tratamento controle e a pré hidratação não promoveram aumentos significativos nas dimensões das plúmulas de sementes isoladas ao longo do tempo de semeadura (Gráfico 4a, c, e). Já o tratamento em GA₃ promoveu aumentos significativos no comprimento das plúmulas, a partir dos 15 dias após a semeadura, e na largura e profundidade, a partir dos 10 dias, em relação ao tratamento controle. Aos 120 dias após a semeadura, as dimensões das plúmulas de sementes inseridas nos endocarpos aumentaram significativamente em relação à condição inicial (Gráfico 4b, d, f). O tratamento pré-hidratação não diferiu do tratamento controle em relação às dimensões das plúmulas. Já o tratamento em GA₃ proporcionou aumentos significativos no comprimento, a partir dos 40 dias após a semeadura, e na largura e profundidade, aos 40 dias, em relação ao tratamento controle.

Gráfico. 1 Teor de água de sementes de *C. brasiliense*. (a) isoladas (b) e inseridas nos endocarpos, semeadas em vermiculita e dispostas em germinador, a 30 °C, por 20 dias ou 120 dias. As sementes isoladas foram submetidas aos seguintes tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 48 horas (pré-hidratação); embebição em solução de GA₃ por 48 horas (GA₃). Os pirênios foram submetidos aos seguintes tratamentos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 14 dias (pré-hidratação); embebição em água por 10 dias, seguida por quatro dias em GA₃. Barras: representação do erro padrão. Letras indicam diferença estatística entre os tratamentos, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



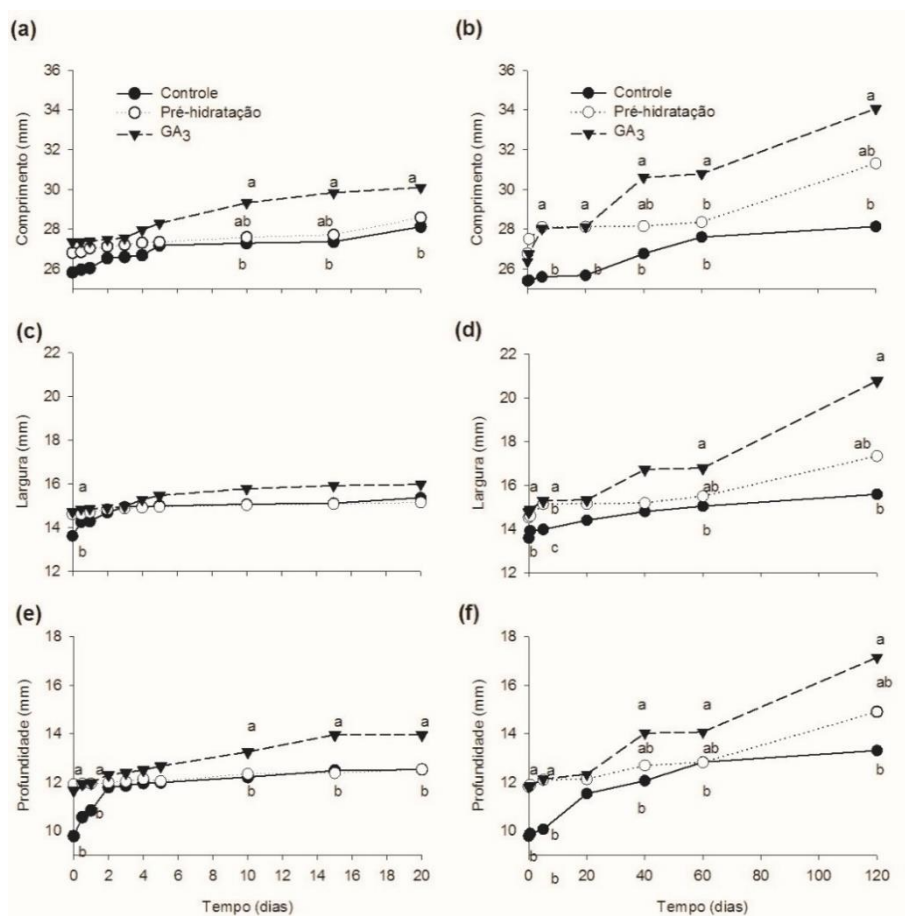
Fonte: autora

Gráfico. 2 Germinação de sementes de *C. brasiliense*. (a) isoladas e (b) inseridas nos endocarpos, semeadas em vermiculita e dispostas em germinador, a 30 °C, por 30 ou 196 dias. As sementes isoladas foram submetidas aos seguintes tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 48 horas (pré-hidratação); embebição em solução de GA₃ por 48 horas (GA₃). Os pirênios foram submetidos aos seguintes tratamentos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 14 dias (pré-hidratação); embebição em água por 10 dias, seguida por quatro dias em GA₃; Barras: representação do erro padrão; Letras indicam diferença estatística, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



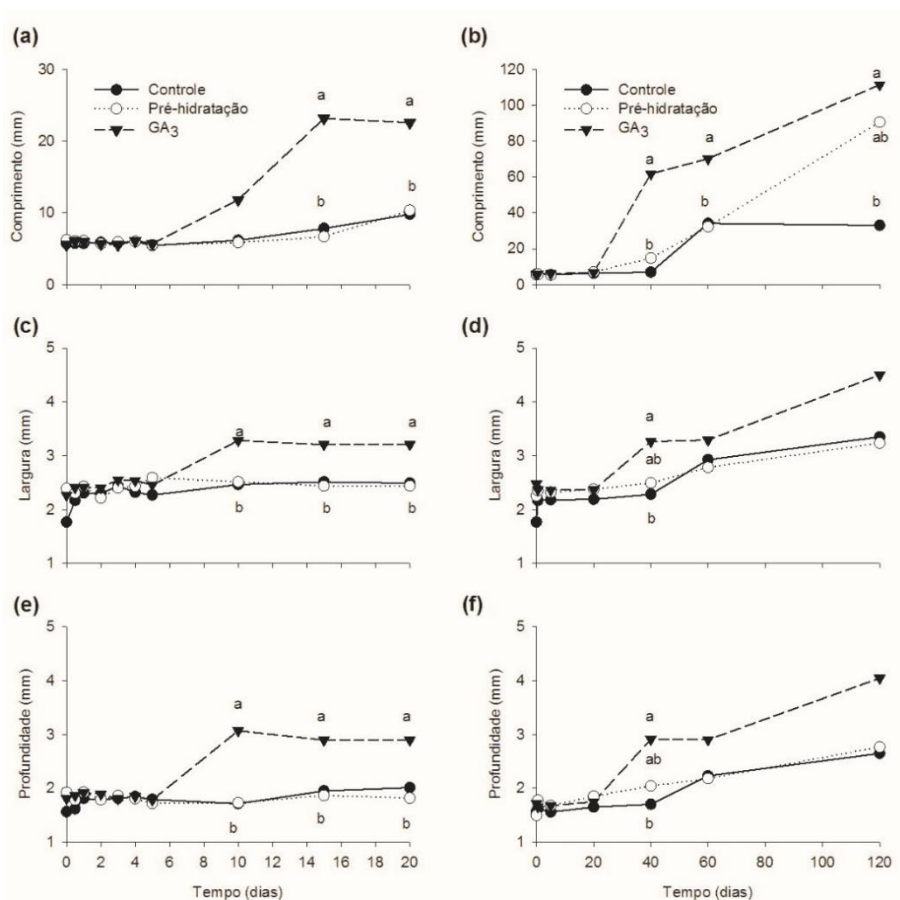
Fonte: autora

Gráfico. 3 Comprimento, largura e profundidade de sementes de *C. brasiliense*. Sementes isoladas (a, c, e) e inseridas nos endocarpos (b, d, f), semeadas em vermiculita e dispostas em germinador, a 30 °C, por 20 ou 120 dias. As sementes isoladas foram submetidas aos seguintes tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 48 horas (pré-hidratação); embebição em solução de GA₃ por 48 horas (GA₃). Os pirênios foram submetidos aos seguintes tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 14 dias (pré-hidratação); embebição em água por 10 dias, seguida por quatro dias em GA₃. Letras minúsculas indicam diferença estatística entre os tratamentos, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



Fonte: autora

Gráfico. 4 Comprimento, largura e profundidade de plúmulas de *C. brasiliense*. Sementes isoladas (a, c, e) e inseridas nos endocarpos (b, d, f), semeadas em vermiculita e dispostas em germinador, a 30 °C, por 20 dias ou 120 dias. As sementes isoladas foram submetidas aos seguintes tratamentos pré-germinativos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 48 horas (pré-hidratação); embebição em solução de GA₃ por 48 horas (GA₃). Os pirênios foram submetidos aos seguintes tratamentos: sem pré-embebição (controle); embebição em água por 14 dias (pré-hidratação); embebição em água por 10 dias, seguida por quatro dias em GA₃. Letras minúsculas indicam diferença estatística entre os tratamentos, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



Fonte: autora

3.3 Anatomia dos embriões e plântulas

Os embriões de *C. brasiliense* são hipocotiledonares (Fig. 3a), com radícula indiferenciada, hipocótilo volumoso, cotilédones rudimentares e plúmula desenvolvida (Figs. 1f-h e 3a). Na plúmula, os primórdios e cotilédones apresentam acúmulo de reservas e envolvem o meristema apical, que apresenta células isodiamétricas, compactamente arranjadas, citoplasma denso e núcleo volumoso. As células do meristema fundamental são globulares, volumosas, com divisões preferencialmente transversais à direção do alongamento da plúmula (Fig. 3b-c). Os primórdios foliares e cotilédones apresentam feixes vasculares diferenciados e células com acúmulo de reservas. A protoderme é formada por uma camada de células de formato cuboide, levemente alongadas no sentido anticlinal. As células da protoderme do cotilédone são grandes, alongadas, com aparência secretora (Fig. 3c-d). O sistema vascular possui padrão eustélico (Fig. 3e). O revestimento externo da semente, na região do hipocótilo, apresenta células colapsadas com acúmulo de compostos fenólicos (Fig. 3f). O revestimento interno é corrugado, porém fortemente aderido à protoderme do embrião. As células possuem paredes espessas, ricas em substâncias pécticas. O meristema fundamental do hipocótilo apresenta pequenos espaços intercelulares, células globoides e volumosas com acúmulo de reservas e paredes com numerosos campos de pontuação (Fig. 3g). O hipocótilo apresenta floema com elementos de tubo crivado diferenciados (Fig. 3h). O revestimento externo da semente, próximo ao polo radicular, apresenta células ricas em compostos fenólicos (Fig. 3i). O procâmbio apresenta formato cônico sem padrão tipicamente protostélico (Fig. 3j). As células procambiais são constituídas de elementos traqueais diferenciados com deposição escalariforme de parede secundária e meristema fundamental com células globulares vacuoladas (Fig. 3j-l). O promeristema é composto de células pequenas, compactamente arranjadas, com citoplasma denso e núcleo proeminente.

Nas sementes recém-germinadas, a epiderme que reveste o epicótilo apresentou células com estrias nas paredes anticlinais (Fig. 4a). As células parenquimáticas apresentaram vacúolos volumosos hialinos, indicando

descarregamento das reservas, em especial próximo aos feixes vasculares (Fig. 4b-c). Na região periférica dorsal do hipocótilo, ocorreu crescimento secundário, com atividade cambial na região interfascicular (Fig. 4c). Com a protrusão radicular, ocorreu a ruptura do revestimento da semente e da protoderme do embrião, simultaneamente à diferenciação da protoderme radicular (Fig. 4d). As células do revestimento da semente não apresentaram intenso acúmulo de compostos fenólicos como nas sementes secas (Fig. 3i). A radícula apresentou coifa bem desenvolvida revestindo o promeristema, composto por células com núcleo denso e intensa divisão celular. As células parenquimáticas apresentaram-se volumosas, com grandes vacúolos e presença de compostos fenólicos. O procâmbio se diferenciou em sistema vascular com padrão protostélico, no qual as células da região mediana apresentaram, em diferenciação com o pronunciado, alongamento celular, vacúolos volumosos e acúmulo de compostos fenólicos, e as células da região próxima à coifa apresentaram estrutura semelhante à das células do promeristema.

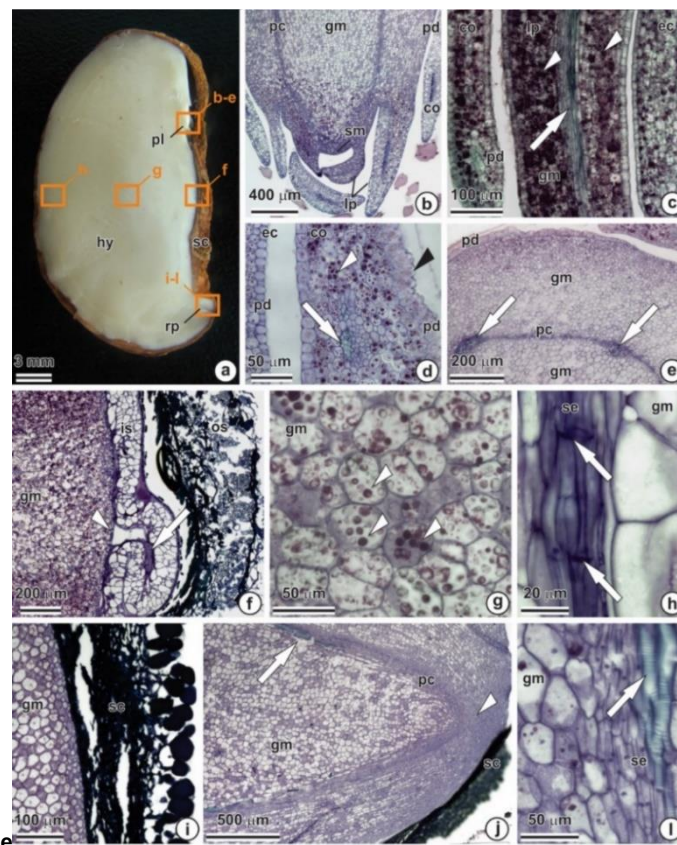
3.4 Reservas seminais e sua mobilização

Proteínas e lipídios são os compostos de reservas predominantes nas sementes secas (Figs. 5a-c, 6a-b). Essas reservas são os principais componentes dos protoplastos das células e estão presentes em todo embrião. Nas células do meristema fundamental da plúmula e na região de inserção dos cotilédones, as proteínas encontram-se armazenadas em corpos proteicos globosos de tamanho e densidade variáveis, com matriz proteica densa (Figs. 5a-b, 6a). Os lipídios encontram-se armazenados em corpos lipídicos globoides de tamanho irregular, aglomerados em torno dos corpos proteicos (Figs. 5c, 6b). Grãos de amido são encontrados em pequenas quantidades nas células do meristema fundamental da plúmula, entorno dos feixes vasculares, localizados no interior dos corpos proteicos (Figs. 5d, 6b).

A mobilização de reservas seminais ocorreu, inicialmente, nas regiões próximas à plúmula e ao polo radicular, avançando para as regiões centrais e internas do hipocótilo, após a conclusão da germinação. Proteínas foram

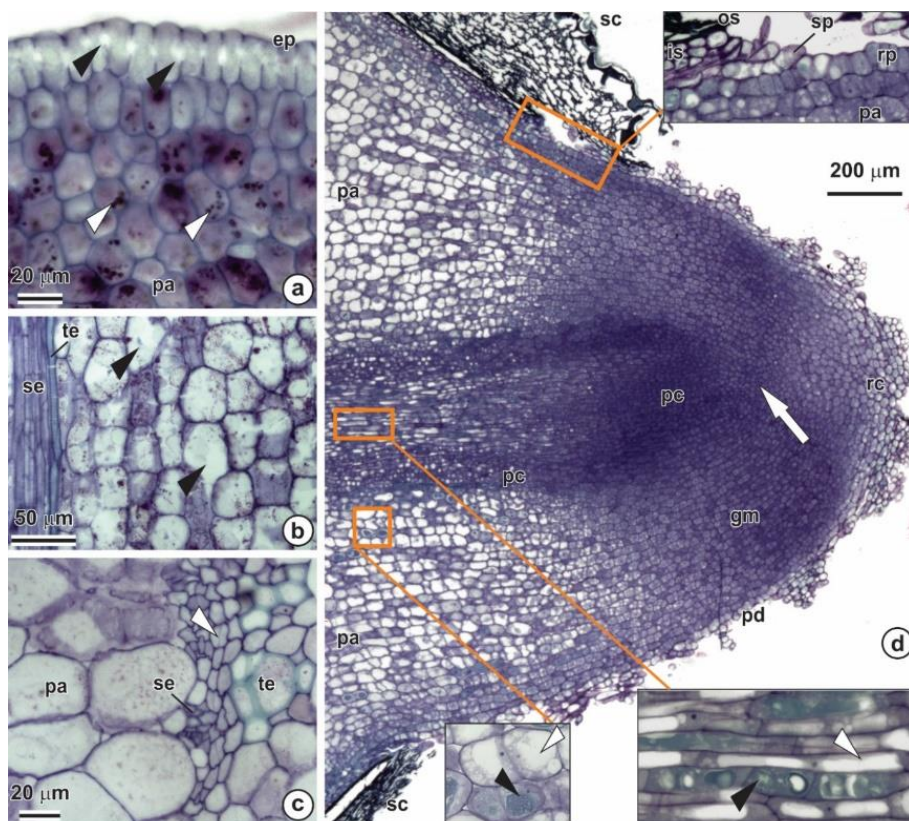
mobilizadas no primeiro dia após a semeadura, nas células do meristema fundamental da plúmula (Fig. 5e). À medida que as proteínas foram sendo consumidas, ocorreu o esvaziamento e a fusão dos corpos proteicos, formando um grande vacúolo, tornando-se um vacúolo lítico. Simultaneamente, ocorreu formação de vesículas dentro do vacúolo devido ao consumo de grãos de amido (Figs. 5f, 6c). Isso foi evidenciado também nas células do polo radicular com a protrusão da raiz (Fig. 5g-h). Além do consumo de proteínas e grãos de amido, houve acúmulo desses compostos nas regiões de crescimento da raiz. A mobilização de lipídios foi evidenciada mais tardiamente, na região de inserção dos cotilédones, após a protrusão radicular (Fig. 6c-d). Aparentemente, a mobilização dos corpos lipídicos foi constatada pela presença das invaginações nas membranas das células e sua coalescência em alguns pontos.

Fig. 3 Morfologia e anatomia de semente seca de *Caryocar brasiliense*.



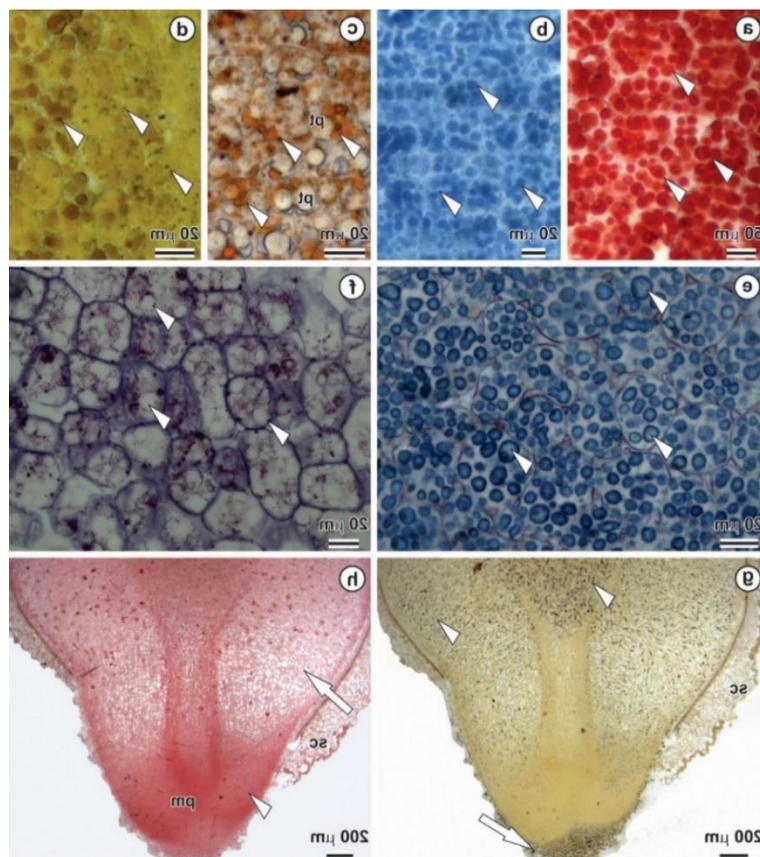
Seções longitudinais (a-c, h, j, l), seções transversais (d-g, i). (a) Morfologia, destacando regiões representadas em b-l. (b) Visão geral da plúmula, evidenciando os cotilédones e primórdios foliares. (c) Detalhe da plúmula, evidenciando abundantes reservas (ponta de seta) e feixes vasculares (seta). (d) Detalhe do cotilédone, destacando feixe vascular (seta), reservas (ponta de seta branca), células alongadas com aparência secretora (ponta de seta preta). (e) Epicótilo, com destaque para feixes vasculares (seta) e camada procambial. (f) Superfície ventral do hipocótilo, destacando invaginações no revestimento interno do embrião (seta) e protoderme (ponta de seta). (g) Região central do hipocótilo, destacando acúmulo de reservas nas células do meristema fundamental. (h) Região dorsal do hipocótilo, destacando elementos de tubo crivado diferenciados e placas crivadas (setas). (i) Revestimento da radícula, evidenciando abundantes compostos fenólicos. (j) Radícula com sistema vascular sifonostélico, feixes vasculares (seta) e promeristema radicular (ponta de seta). (l) Radícula, evidenciando elementos traqueais diferenciados, com deposição escalariforme de parede secundária (seta). co: cotilédone, ec: epicótilo, gm: meristema fundamental, hy: hipocótilo, is: revestimento interno, lp: primórdios foliares, os: revestimento externo, pc: procâmbio, pd: protoderme, pl: plúmula, rp: polo radicular, sc: revestimento, se: elementos crivados, sm: promeristema caulinar. Fonte: autora

Fig. 4 Secções anatômicas de sementes recém-germinadas de *C. brasiliense*.



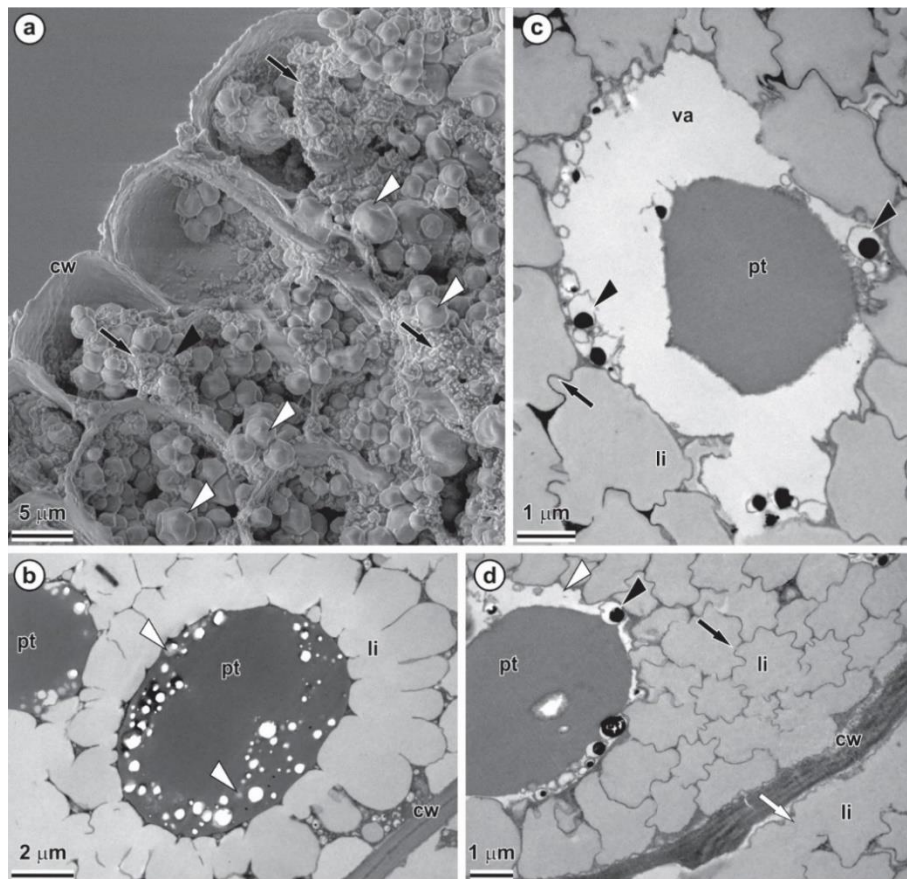
(a, c) Secções transversais. (b, d) Secções longitudinais. (a) Epicótilo, destacando estrias na epiderme (ponta de seta preta) e reservas nas células parenquimáticas (ponta seta branca). (b) Epicótilo, destacando a mobilização de reservas em células próximas aos feixes vasculares (ponta de seta). (c) Região periférica dorsal do hipocótilo, destacando atividade cambial (ponta de seta). (d) Protrusão radicular. Caixa superior: revestimento externo e interno da semente, protoderme da semente e protoderme da raiz. Caixa inferior direita: procâmbio com sistema vascular protostélico. Caixa inferior esquerda: células parenquimáticas com grandes vacúolos (ponta seta branca) e acúmulo de compostos fenólicos (ponta de seta preta). ep: epiderme, gm: meristema fundamental, is: revestimento interno, os: revestimento externo, pa: parênquima, pc: procâmbio, pd: protoderme, rc: coifa, rp: polo radicular, sc: revestimento, se: elementos crivados, sp: protoderme da semente, te: elementos traqueais. Fonte: autora

Fig. 5 Secções anatômicas de sementes de *C. brasiliense* submetidas a testes histoquímicos.



(a, h) Xylidine ponceau, coloração vermelha indicativa de proteína. (b, e) Azul de bromofenol, coloração azul indicativa de proteína. (c) Sudan IV, coloração alaranjada indicativa de lipídios. (d, g) Lugol, coloração preta indicativa de amido. (f) Azul de toluidina, coloração roxa indicativa de proteína. (a-d) Sementes secas. (e) Semente após um dia de sementeira. (f-h) Sementes recém-germinadas. Região mediana da plúmula, destacando (a, b) corpos proteicos (ponta de seta) e (c) corpos lipídicos (ponta de seta). (d) Detalhe da plúmula na região próxima aos feixes vasculares, destacando pequenos grãos de amido (ponta de seta). (e) Região mediana da plúmula, destacando consumo de reservas proteicas nas células do meristema fundamental (ponta de seta). (f) Região mediana da plúmula, mostrando áreas menos densas do vacúolo (ponta de seta). (g-h) Regiões do polo radicular após a protrusão da raiz. (g) Células da coifa, destacando acúmulo de grãos de amido (seta), e células parenquimáticas, destacando consumo de grãos de amido (ponta de seta). (h) Células do promeristema, destacando acúmulo de reservas proteicas (ponta de seta), e células parenquimáticas, destacando consumo de reservas proteicas (seta). pm: promeristema, pt: proteína, sc: revestimento. Fonte: autora

Fig. 6 Microscopia eletrônica de transmissão de células do hipocótilo de *Caryocar brasiliense*, na região de inserção dos cotilédones.



(a-b) Sementes secas. (c-d) Recém-germinadas. (a) Células com numerosos corpos lipídicos (seta preta) e corpos proteicos (ponta de seta branca). (b) Grãos de amido depositado no interior dos corpos proteicos (ponta de seta branca). (c) Vacúolo lítico formado pela mobilização de proteína (ponta de seta preta) e presença de invaginações nos corpos lipídicos com a mobilização (seta). (d) Coalescência dos corpos lipídicos (seta branca), vesículas de grãos de amido (ponta de seta preta), vacúolo lítico em formação (ponta de seta branca). cw: parede celular, li: corpos lipídicos, pt: corpos proteicos, va: vacúolo. Fonte: autora

4. DISCUSSÃO

A germinação de *C. brasiliense* depende de interações complexas entre a estrutura do pirênio e os aspectos fisiológicos da semente. Após a abscisão dos frutos, o exocarpo e o mesocarpo externo carnoso são consumidos por insetos e microrganismos do solo. O mesocarpo interno, rico em polpa nutritiva, é atrativo alimentar para os animais que dispersam os pirênios. O pirênio, altamente especializado com endocarpo aculeado resistente e flexível, protege o embrião contra predação e retarda a absorção de água, estabelecendo mecanismos de controle da germinação. Como a absorção de água não é significativamente limitada pelo endocarpo, as sementes não apresentam dormência física (BASKIN; BASKIN, 2014). Evidenciamos que sementes sem pré-embebição, inseridas nos endocarpos, demandam aproximadamente 20 dias, após a semeadura, para atingir teores de água acima de 35%, necessários para germinação (fase estacionária de embebição de água) (BEWLEY *et al.*, 2013). No entanto, sementes isoladas atingem essa fase em dois dias após a semeadura. Mecanismo similar de controle da germinação foi relatado para *Attalea vitrivir* (Arecaceae) em condições de cerrado (NEVES *et al.*, 2013).

A germinação é um evento complexo que se inicia com a embebição de água pelas sementes e termina com o alongamento do eixo embrionário e emissão da raiz e/ou plúmula, a partir das estruturas circundantes (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; NONOGAKI *et al.*, 2010; BEWLEY *et al.*, 2013). *C. brasiliense* apresenta dormência fisiológica não profunda (BASKIN; BASKIN, 2014), e o crescimento do hipocótilo tem papel crucial em sua superação, já que promove a ruptura do endocarpo rígido, permitindo a conclusão da germinação. O crescimento do hipocótilo está associado à mobilização de reservas embrionárias, expansão celular mediada por giberelinas e ao início do crescimento secundário. Nós observamos efeito favorável do GA₃ sobre a embebição, aumento das dimensões das sementes e germinação. Outros autores também relataram o efeito do GA₃ sobre a germinação de sementes de *C. brasiliense* (SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010; LEÃO *et al.*, 2012; MENDES, 2015). Além disso, evidenciamos intensa mobilização de reservas e expansão e alongamento celular

significativos nas avaliações anatômicas realizadas nas sementes recém-germinadas. É conhecido que a mobilização de reservas diminui o potencial osmótico, aumentando a turgidez das células (BEWLEY, 1997; TAN-WILSON; WILSON, 2012; ROSENTAL *et al.*, 2014), e que as giberelinas causam afrouxamento da parede celular, eventos que favorecem a expansão e o alongamento das células (BEWLEY, 1997; DEBEAUJON *et al.*, 2000; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; NONOGAKI *et al.*, 2010). As giberelinas também regulam a expressão de genes que codificam enzimas responsáveis pela mobilização de reservas (PRITCHARD *et al.*, 2002; KOORNNEEF *et al.*, 2002; KUCERA *et al.*, 2005; BEWLEY *et al.*, 2013). A mobilização de reservas em *C. brasiliense* seguiu o mesmo padrão descrito para outras espécies de dicotiledôneas (BEWLEY *et al.*, 2013), sendo direcionadas para os pontos de crescimento e avançando para as regiões centrais e internas do hipocótilo. Durante as fases de embebição, a mobilização de reservas é necessária para a conclusão da germinação. No entanto, a maioria das reservas é consumida após a germinação (NONOGAKI *et al.*, 2010; BEWLEY, *et al.*, 2013). Processo similar foi observado nas avaliações anatômicas no presente estudo.

C. brasiliense apresenta mecanismos adaptativos às condições climáticas do Cerrado, marcado por duas estações bem definidas, a chuvosa, entre os meses de setembro e abril, e a seca, entre os meses de maio e setembro, período de pronunciado déficit hídrico (SANO *et al.*, 2008). A dormência fisiológica na espécie possibilita a sincronização da germinação, evitando condições desfavoráveis para o estabelecimento das plântulas (KOORNNEEF *et al.*, 2002; FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; MIRANSARI; SMITH, 2014). Normalmente, sementes de *C. brasiliense* são dispersas na segunda metade da estação chuvosa (dezembro a março). Com isso, os feixes vasculares diferenciados presentes no embrião favorecerão a absorção imediata de água e nutrientes após a dispersão, já que a disponibilidade de água no solo é restrita a um curto período de tempo. Por outro lado, durante a estação chuvosa é comum a ocorrência de longos períodos de estiagem, assim as sementes não irão encontrar água disponível no solo para completar sua hidratação, atrasando a germinação para o próximo

período de chuvas. Desse modo, o endocarpo exerce funções determinantes para manter o vigor das sementes até a conclusão da germinação. Nós mostramos que o embrião de *C. brasiliense* expandido (LINKIES *et al.*, 2010) e hipocotiledonar (BARROSO *et al.*, 1999) apresenta revestimento rico em compostos fenólicos, cotilédone com protoderme de aparência secretora e abundantes reservas de proteínas e lipídios. Compostos dessa natureza também foram observados em sementes de palmeiras do Cerrado (MOURA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2013). Além disso, foi observado, após a germinação, o espessamento da epiderme do epicótilo e o aparecimento do câmbio vascular nas células do hipocótilo. Essas características podem ser estratégia ecológica e evolutiva da espécie que garantem o desenvolvimento das plântulas em condições ambientais adversas do clima sazonal do Cerrado. O padrão de desenvolvimento inicial das plântulas de *C. brasiliense* foi diversificado em termos de emissão de raízes, persistência da raiz principal e crescimento da plúmula. Normalmente, espécies do Cerrado desenvolvem raízes de forma rápida e precoce nas fases iniciais de desenvolvimento das plântulas (RIZZINI, 1965; HOFFMANN, 2000). A raiz principal tem capacidade de atingir solos profundos, característica importante que permite a alta tolerância das plântulas às secas prolongadas (SILVEIRA *et al.*, 2013).

É possível que o padrão germinativo de *C. brasiliense* em condições naturais seja errático, devido à heterogeneidade fisiológica e ao balanço hormonal de cada semente, causando baixos índices germinativos (máximo de 40%). No entanto, a produção de muitos pirênios, a tolerância das sementes à desidratação e a dormência garantem o sucesso reprodutivo dessa espécie no ambiente.

Este é o primeiro relato detalhado do papel dos componentes do pirênio no controle da germinação da família Caryocaraceae. Nossos resultados indicam que a germinação de *C. brasiliense* é controlada pela interação complexa entre os componentes do pirênio. A dormência fisiológica não profunda é determinada pelo endocarpo rígido associado aos aspectos fisiológicos da semente. O endocarpo protege as sementes e atrasa a absorção de água, estabelecendo mecanismos de controle da germinação. A mobilização de reservas seminais, a expansão celular mediada por giberelinas

e o crescimento secundário permitem a conclusão da germinação. O desenvolvimento inicial das plântulas é peculiar em termos de emissão de raiz e/ou desenvolvimento da plúmula. O sucesso reprodutivo de *C. brasiliense* no ambiente do Cerrado está associado às características morfoanatômicas e fisiológicas do pirênio.

CAPÍTULO 3 – GERMINAÇÃO E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *CARYOCAR BRASILIENSE* SUBMETIDAS A ARMAZENAMENTO E GA₃

RESUMO

Investigou-se a influência do armazenamento e da aplicação de GA₃ sobre a germinação, a dormência e a qualidade fisiológica de semente de *Caryocar brasiliense* e recomendaram-se estratégias para a produção de mudas de pequizeiro. Foram feitos quatro experimentos em delineamento inteiramente casualizado. No primeiro e no segundo experimento, utilizaram-se sementes isoladas e pirênios (endocarpo + semente) armazenados por 2, 6, 13, 43 e 100 dias, respectivamente. No terceiro experimento, utilizaram-se pirênios de frutos recém-dispersos embebidos em cinco doses de GA₃ (0, 125, 250, 375 e 500 mg/L). Já no quarto experimento, utilizaram-se dois tempos de armazenamento dos pirênios (0 ou 20 dias) e seis doses de GA₃ (0, 50, 100, 500, 1000 e 2000 mg/L), além de dois tratamentos adicionais (sem pré-embebição), um para cada tempo de armazenamento dos pirênios. Foram avaliados a germinação e o índice de velocidade de germinação e, ao final do estudo, determinou-se o percentual de sementes deterioradas e não germinadas. A heterogeneidade, dentro e entre lotes, e as condições ambientais do ano de coleta propiciaram a rápida germinação de partes das sementes isoladas. A baixa emergência de plântulas a partir de pirênios recém-dispersos mostrou a resistência das sementes em formar banco de plântulas. O endocarpo tem papel fundamental na manutenção do estado de quiescência das sementes não dormentes, limitando a entrada de água e a condição térmica da semente e protegendo-a contra a deterioração. O período chuvoso subsequente, após a dispersão dos frutos, favorece a superação da dormência em sementes de pirênios recém-dispersos. Para fins de produção de mudas, recomenda-se dose de 50 mg/L de GA₃ para promover germinação acima de 90% em sementes isoladas. Em sementes isoladas armazenadas, não é necessário o uso de GA₃ para estimular a germinação. No caso de pirênios recém-dispersos, faz-se o uso de doses mais elevadas de GA₃ (375 ou 500

mg/L) para obter de 30 a 40% de germinação. Recomenda-se o armazenamento por 20 e 43 dias e teor de água das sementes em torno de 7%, a fim de superar a dormência de sementes isoladas e propiciar uma germinação por volta de 65% sem o uso de GA₃. Em plantios em casa-de-vegetação, recomenda-se manter o substrato úmido, a fim de reduzir a taxa de deterioração das sementes de pequiheiro.

Palavras-chave: ácido giberélico. Armazenabilidade. Dormência. Pequiheiro. Viabilidade.

CHAPTER 3 - GERMINATION AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF THE *CARYOCAR BRASILIENSE* SEEDS UNDER STORAGE AND GA₃

ABSTRACT

It was investigated the influence of storage and application of GA₃ on germination, the dormancy and the physiological quality of *Caryocar brasiliense* seed and recommended to strategies for producing *pequi* seedlings. Four experiments were performed in a completely randomized design. In the first and second experiment, they used seeds isolated and pyrenes (cored + seed) stored for 2, 6, 13, 43 and 100 days, respectively. In the third experiment, pyrenes were used in freshly dispersed fruits soaked in five levels of GA₃ (0, 125, 250, 375 and 500 mg / L). In the fourth experiment, they used two storage times of pyrenes (0 or 20 days) and six doses of GA₃ (0, 50, 100, 500, 1000 and 2000 mg / L), and two additional treatments (without pre-imbibitions), one for each of the pyrenes storage time. They were evaluated the germination and germination speed index and at the end of the study, it was determined the percentage of damaged seeds and not germinated. The heterogeneity within and among lots, and the environmental conditions of the year of collection led to the rapid germination of seeds isolated parts. The low seedling emergence from newly dispersed pyrenes showed the resistance of seeds to form bank seedlings. The cored plays a key role in maintaining the state of quiescence of non-dormant seeds, limiting water entry and the thermal condition of the seed and protecting it from decay. The subsequent rainy season, after the dispersion of fruits, favors overcome dormancy in newly pyrenes dispersed seeds. For seedling production purposes, it is recommended dose of 50 mg / L GA₃ to promote germination above 90% in seeds isolated. In stored seeds isolated, it is not necessary to use GA₃ to stimulate germination. In the case of newly dispersed pyrenes, it makes the use of higher doses of GA₃ (375 and 500 mg / L) for 30 to 40% germination. It is recommended storage for 20 and 43 days and water content of seeds around 7% in order to overcome the isolated seed

dormancy and germination provide an about 65% without the use of GA3. In plantations at house-of-vegetation, it is recommended to keep the moist substrate in order to slow the rate of deterioration of *pequi* seeds.

Keywords: gibberellic acid. Storability. Numbness. *Pequi*. Viability.

1. INTRODUÇÃO

Caryocar brasiliense Cambess., o pequiizeiro, é uma espécie arbórea nativa do Cerrado brasileiro, encontrada principalmente nas regiões Centro-Oeste e Sudeste do país. A espécie é uma frutífera conhecida por produzir frutos muito utilizados na culinária regional, na fabricação de alimentos industrializados, de cosméticos e medicamentos (OLIVEIRA; SCARIOT, 2010). Em função dos seus múltiplos usos, os frutos de pequiizeiro são muito demandados no mercado, constituindo uma importante fonte de renda e emprego para as comunidades rurais que os coletam e comercializam (ARAÚJO, 1995; GIROLDO; SCARIOT, 2015). Por outro lado, a elevada procura pelos frutos de pequiizeiro leva a um extrativismo intenso que, associado à expansão agropecuária para implantação de culturas e pastagens, coloca em risco a sobrevivência da espécie no futuro (GIROLDO; SCARIOT, 2015). Por isso, torna-se importante desenvolver estratégias de proteção do pequiizeiro aliadas ao seu uso econômico. Entretanto, a restrita informação acerca da superação da dormência das sementes e de seu armazenamento limita a produção de mudas em larga escala, o estabelecimento de programas de melhoramento, a conservação da espécie e a ampliação dos conhecimentos sobre o banco de sementes no solo.

As sementes, após a dispersão, podem germinar imediatamente ou permanecer no estado de quiescência ou dormência. Uma semente quiescente é aquela não dormente que não germina em função da ausência de um ou mais fatores físicos ambientais (temperatura, água, oxigênio), enquanto que a semente dormente é aquela que não tem a capacidade de germinar, num período de tempo, sob qualquer variação desses fatores (BASKIN; BASKIN, 2004). O pequiizeiro apresenta dormência em suas sementes, classificada como fisiológica não profunda (DOMBROSKI *et al.*, 2010; MENDES, 2015), ou seja, a incapacidade do embrião de romper os tecidos circundantes (BASKIN; BASKIN, 2014). Nessa dormência há dois componentes: um ligado à força potencial de crescimento do embrião e o outro à restrição mecânica a esse crescimento, imposta pelo tecido circundante (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006).

A estrutura de dispersão do pequizeiro é denominada pirênio ou putâmem, constituído de uma semente envolvida por um endocarpo duro e aculeado (BARRADAS, 1973). De forma geral, os trabalhos relatam que a baixa taxa de emergência de plântulas, a partir dos pirênios de *C. brasiliense*, está ligada ao fenômeno da dormência, que pode ser aliviada com a aplicação de giberelina e/ou com o uso da semente isolada (SOUZA *et al.*, 2007; BERNARDES *et al.*, 2008; DOMBROSKI *et al.*, 2010; LEÃO *et al.*, 2012). Entretanto, ainda não está claro se as sementes isoladas de pequizeiro superam totalmente a dormência, em função dos dados contraditórios encontrados na literatura (SOUZA *et al.*, 2007; DOMBROSKI *et al.*, 2010; MENDES, 2015). Outro aspecto que também deve ser esclarecido, caso a semente isolada apresente dormência, é se a giberelina aplicada exogenamente, como no pirênio, favoreceria a germinação e em que concentração.

Sementes de *C. brasiliense*, após a abscisão dos frutos, passam por um período de desidratação intensa, uma vez que são dispersas com um teor de água por volta de 40%, atingindo a estabilidade (cerca de 7%) após 20 dias de armazenamento (MENDES, 2015). A desidratação pós-abscisão dos frutos associada ao armazenamento pode causar alterações fisiológicas e estruturais na semente e/ou no pirênio, levando à superação da dormência (BEWLEY *et al.*, 2013). Além disso, as mudanças fisiológicas podem proporcionar a síntese de giberelinas (GAs) e a degradação do ácido abscísico (ABA), determinando um balanço entre estes favorável à germinação. Mudanças estruturais também podem ocorrer, principalmente nos tecidos adjacentes ao embrião, reduzindo a sua resistência ao crescimento deste (NONOGAKI *et al.*, 2010).

O armazenamento também pode causar a deterioração da semente, apesar de ser importante na superação da dormência, na manutenção da diversidade genética, na conservação de germoplasma e na obtenção do sucesso reprodutivo na propagação a longo prazo (NONOGAKI *et al.*, 2010; BEWLEY *et al.*, 2013). Durante o armazenamento, processos químicos de deterioração continuam nas sementes secas, o que causa perda de vigor, redução na taxa de germinação e aumento da mortalidade (BEWLEY *et al.*, 2013; BARRETO *et al.*, 2014). Esses processos em *C. brasiliense* estão

relacionados à peroxidação das suas abundantes reservas lipídicas e aos danos das membranas celulares causados durante a reidratação das sementes (MENDES, 2015). No entanto, poucos são os trabalhos que avaliam o efeito do armazenamento sobre a germinação e viabilidade em sementes de pequiheiro (SILVA; MEDEIROS FILHO, 2006; LEÃO *et al.*, 2012; MENDES, 2015). Esses trabalhos demonstraram que a estocagem leva, em parte, à superação da dormência e à perda do vigor e da viabilidade, porém não avaliaram as sementes no momento da abscisão dos frutos e nem antes da estabilização do teor de água. Além disso, há uma lacuna no conhecimento sobre a espécie, pois não se sabe em que momento, após a abscisão dos frutos, a dormência e a deterioração permitem uma máxima germinação. Mesmo com intensidade diferente de dormência, em função de tempos de armazenamento, pode-se combinar o uso de semente isolada ou dos pirênios com doses distintas de GAs, visando obter taxas satisfatórias de germinação, antes que ocorra uma significativa perda de viabilidade.

Informações que combinem estrutura de propagação (semente e pirênio), doses de regulador de crescimento e armazenamento de pirênios são muito valiosas dentro de um sistema de produção de mudas de pequiheiro em larga escala ou mesmo para projetos de regeneração, pois permitem estabelecer estratégias que maximizem e ampliem a propagação da espécie ao longo dos anos. Também dados sobre vigor e viabilidade de sementes ao longo do tempo contribuem para o entendimento sobre as condições ecológicas de manutenção do banco de sementes no solo e mecanismos de adaptação de *C. brasiliense* em condições de Cerrado, bioma fortemente marcado pela sazonalidade climática (ESCOBAR; CARDOSO, 2015).

Objetivou-se avaliar o efeito do armazenamento e da aplicação exógena de GA₃ sobre a germinação de sementes de *Caryocar brasiliense*. Procurou-se responder às seguintes perguntas: 1) Qual a influência do armazenamento e da aplicação de GA₃ sobre a germinação, a dormência e a qualidade fisiológica da semente? Quais as estratégias para a produção de mudas de pequiheiro?

2. MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e procedimentos iniciais

Frutos de *Caryocar brasiliense* foram obtidos logo após a sua abscisão natural, durante os meses de janeiro e fevereiro de 2015, em mais de 100 plantas, em fisionomia de Cerrado *lato sensu*, no município de São João da Lagoa, no norte de Minas Gerais, Brasil (16°46'42"S; 44°18'24"W). O exocarpo e o mesocarpo externo e interno dos frutos foram retirados manualmente, com o auxílio de uma faca, e os pirênios, conforme tratamentos descritos a seguir, permaneceram armazenados em galpão aberto, seco e arejado, com temperatura variando entre 23,87 e 29,28 °C, por até 100 dias.

Em pirênios obtidos de frutos recém-dispersos e daqueles armazenados em galpão, extraíram-se as sementes utilizando um torno manual de bancada, alicate, motoesmeril e pinça, de acordo com a metodologia de Mendes (2015). Foram mensuradas e descartadas as sementes inviáveis devido à má-formação ou a injúrias, como: danificadas por insetos ou fungos, apodrecidas, enegrecidas, demasiadamente pequenas, murchas ou inconsistentes. Já as sementes aparentemente sem danos foram avaliadas quanto ao teor de água e à germinabilidade do lote, antes e durante o armazenamento.

Antes da realização dos experimentos, foi feita a caracterização dos lotes de sementes utilizadas no estudo. O teor de água foi obtido por meio do método da estufa, com secagem de cinco repetições de 20 sementes a 105 °C, por 24 horas (BRASIL, 2009). Já a porcentagem de germinação dos lotes foi determinada por meio da semeadura de cinco repetições de 20 sementes isoladas, previamente imersas em fungicida Vitavax-tiram® (50% pc) e colocadas em bandejas de polietileno transparente, contendo vermiculita irrigada com água destilada a 80% da capacidade de retenção. Estas foram mantidas em câmara de germinação (BOD), a 30 °C, com fotoperíodo de 12 horas de luz, por 30 dias.

2.1 Efeito do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas

Cinco repetições de dez pirênios, armazenados por 2, 6, 13, 43 e 100 dias nas condições descritas, foram seccionados longitudinalmente com o auxílio de uma guilhotina, separando os endocarpos das sementes. Foi determinado, em cada uma dessas estruturas, o teor de água, de acordo com Brasil (2009), como já relatado. Também nesses mesmos períodos de estocagem dos pirênios (2, 6, 13, 43 e 100 dias), sementes inteiras foram extraídas, e aquelas consideradas inviáveis, conforme relatado anteriormente, foram descartadas. Já as sementes aparentemente sem danos foram semeadas em bandejas e colocadas em câmara de germinação, a 30 °C. Aos 24 dias após a semeadura, as sementes que não germinaram, nos tempos de armazenamento de 2, 6 e 13 dias, foram imersas em solução de GA₃ (Sigma, St Louis, USA), na dose de 50 mg/L de água deionizada (dose determinada com base nos resultados obtidos a partir de outro experimento neste estudo), por 48 horas (tempo necessário para as sementes atingirem a fase II da germinação) (MENDES, 2015). Após a imersão, realizou-se o replantio das mesmas. As sementes que apresentaram danos por fungo, apodrecimento ou inconsistência foram consideradas deterioradas e descartadas. As sementes dos tempos 43 e 100 dias não foram imersas em GA₃, uma vez que a maioria destas, aos 24 dias pós-semeadura, já estavam germinadas ou deterioradas. Os procedimentos, condições de extração e semeadura foram os mesmos descritos no item anterior.

A germinação foi avaliada diariamente. Aos 42 dias pós-semeadura, ao final do experimento, a percentagem de sementes germinadas, deterioradas e não germinadas e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram avaliados. Foram consideradas germinadas as sementes que apresentaram rupturas no revestimento e protrusão da raiz e/ou crescimento da plúmula de 3 mm. Classificaram-se como deterioradas aquelas sementes amolecidas, atacadas por microrganismos e que não apresentaram nenhum sinal de início de germinação. Foram consideradas não germinadas aquelas capazes de absorver água e intumescer, mas que não apodreceram e que possuíam, após a retirada do tegumento, coloração branca típica de semente viável (BRASIL,

2009). O percentual de germinação foi determinado pelo número de sementes germinadas dividido pelo número total de sementes da parcela, multiplicado por cem, enquanto que o IVG foi calculado pelo somatório da divisão do número de sementes germinadas por dia pelo número de dias após a semeadura (MAGUIRE, 1962).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições de 20 sementes para cada tempo de armazenamento dos pirênios. Os dados de teor de água das sementes e dos endocarpos foram correlacionados usando-se o coeficiente de Pearson, a 5% de probabilidade. O IVG e a percentagem de sementes germinadas, não germinadas e deterioradas foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

2.2 Efeito do armazenamento sobre a germinação de pirênios

Foram utilizados pirênios sob as mesmas condições e tempos de armazenamento (2, 6, 13, 43 e 100 dias) do experimento anterior. Dez repetições de dez pirênios, para cada tempo de armazenamento, foram imersas em fungicida, semeadas em bandejas contendo vermiculita e dispostas em câmara de germinação, como já descrito para a semente isolada em cada tempo de armazenamento. Os pirênios foram avaliados semanalmente quanto à germinação e, ao final de 245 dias após a semeadura, a percentagem de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG) foram determinados. Foram considerados germinados os pirênios que apresentaram ruptura do endocarpo na região do hilo e protrusão da raiz e/ou crescimento da plúmula de 3 mm. Também ao final do estudo, os pirênios não germinados foram cortados transversalmente com auxílio de guilhotina, e suas sementes foram avaliadas quanto à deterioração e à não germinação, como já relatado.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado. O IVG e a percentagem de germinação dos pirênios e de suas sementes não germinadas e deterioradas foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados

foram previamente transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$, a fim de atender aos pressupostos de normalidade e homogeneidade dos dados para o emprego da estatística paramétrica.

2.3 Efeito de doses de GA₃ na emergência de plântulas a partir de pirênios

Cinco repetições de 20 pirênios por tratamento, obtidos de frutos recém-dispersos nas condições já descritas, foram imersas em soluções de GA₃ (Progibb 400), nas concentrações de 0, 125, 250, 375, 500 mg/L de água, por quatro dias. Também utilizou-se um tratamento adicional que consistiu em pirênios sem pré-embebição. Após a aplicação dos tratamentos pré-germinativos, os pirênios foram plantados aleatoriamente em parcelas de 30 x 27 cm, em canteiro, em casa-de-vegetação, a cinco centímetros de profundidade de solo de ambiente Cerrado, e regados diariamente até o final do estudo. Monitorou-se a temperatura máxima e mínima diária do solo e do ambiente dentro da casa-de-vegetação, por meio de um termo-higrômetro digital.

A emergência das plântulas foi avaliada semanalmente, até oito meses após o plantio, sendo consideradas emergidas as que emitiram 0,5 cm de parte aérea acima do solo. O percentual de emergência das plântulas foi determinado por meio da divisão do número de plântulas emergidas pelo número total de pirênios plantados na parcela, multiplicado por 100. O índice de velocidade de emergência (IVE) foi calculado por meio do somatório da divisão do número de plântulas emergidas pelo número de dias após o plantio (MAGUIRE, 1962). No final do experimento, os pirênios não germinados foram avaliados conforme mencionado no estudo anterior.

O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado. O IVE e a percentagem de germinação dos pirênios e de suas sementes não germinadas e deterioradas foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

2.4 Efeito de doses de GA₃ e do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas

Foram utilizadas sementes isoladas de pirênios de frutos recém-dispersos (0 dias de armazenamento) e armazenados por 20 dias, nas condições de estocagem já descritas. Vinte dias foi o tempo necessário para que o teor de água das sementes se estabilizasse, passando de 36,8%, no momento da coleta dos frutos, para 6,59% após o armazenamento. Cinco repetições de 20 sementes, para cada tempo de armazenamento dos pirênios (0 ou 20 dias), foram imersas em seis soluções de GA₃ (Sigma-Aldrich), nas concentrações de 0, 50, 100, 500, 1.000 e 2.000 mg/L de água deionizada, sendo mantidas em recipientes envolvidos por papel alumínio durante 48 horas, quando se atinge a fase II da embebição em sementes de pequi (MENDES, 2015). Utilizaram-se também dois tratamentos adicionais sem pré-embebição das sementes nos dois tempos de armazenamento dos pirênios. Após os tratamentos, as sementes foram imersas em fungicida Vitavax-tiram® (50% pc) e semeadas em bandejas, conforme relatado anteriormente para a caracterização dos lotes.

A germinação foi avaliada diariamente. Aos 18 dias após a semeadura, ao final do experimento, avaliou-se a porcentagem de sementes germinadas, deterioradas e não germinadas, além do índice de velocidade de germinação (IVG). Os critérios de avaliação dessas características foram os mesmos adotados no experimento que avaliou o efeito do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas.

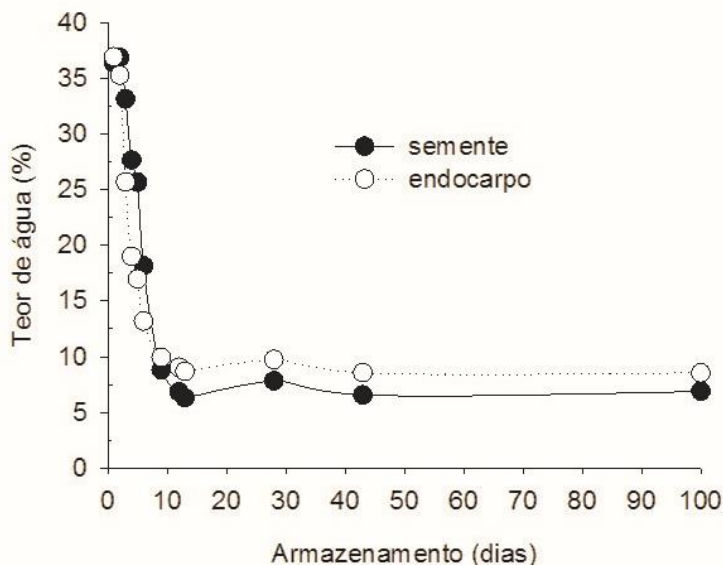
O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial, 2 (tempos de armazenamento do pirênio) x 6 (concentrações de GA₃) + 2 tratamentos adicionais (sem pré-embebição), para cada tempo de armazenamento dos pirênios. Os percentuais de sementes germinadas, deterioradas e não germinadas, além do IVG, foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Os dados de sementes deterioradas foram previamente transformados em $\arcsin \sqrt{x/100}$.

3. RESULTADOS

3.1 Efeito do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas

O teor de água das sementes e dos endocarpos diminuiu rapidamente até o décimo segundo dia de armazenamento, no qual houve uma tendência de estabilização (Gráfico. 1). Os valores dos teores de água das sementes e dos endocarpos, ao longo do tempo de armazenamento, foram quase os mesmos e possuem uma elevada correlação positiva ($R^2= 0,94$), indicando uma estreita relação entre as estruturas.

Gráfico 1 Teor de água de endocarpos e sementes de *C. brasiliense* determinado em estufa, a 105 °C, por 24 horas, em intervalos, por até 100 dias.



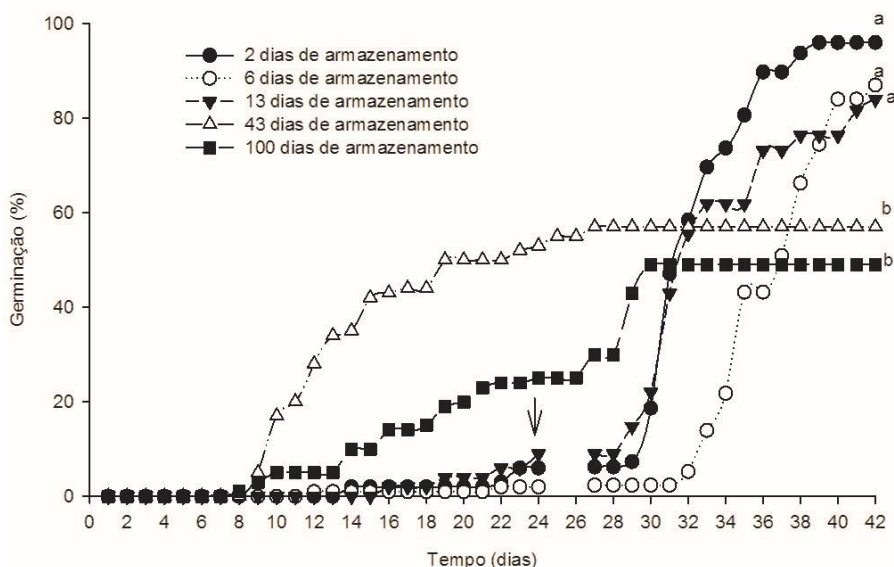
Fonte: autora

A percentagem de sementes inviáveis extraídas dos pirênios, antes da semeadura foi de 10%. Inicialmente, o armazenamento foi eficiente na promoção da germinação, pois sementes armazenadas por mais de 43 dias germinaram mais rapidamente e em maior quantidade até 29 dias após a semeadura. As sementes com até 13 dias de armazenamento germinaram em baixos percentuais até a aplicação do GA₃, 24 dias após a semeadura, quando

ocorreu um incremento considerável na germinabilidade, atingindo, ao final do experimento, uma taxa acima de 80% (Gráfico. 2).

O IVG, aos 42 dias após a semeadura, diminuiu com o maior tempo de armazenamento das sementes, apesar de que, antes da aplicação de GA₃, esse comportamento era o inverso (dados não mostrados). Ao contrário, a deterioração das sementes aumentou com o tempo de estocagem, atingindo uma taxa de 47%, aos 100 dias de armazenamento (Tabela 1). O número de sementes não germinadas não diferiu em relação ao tempo de armazenamento. Portanto, ao final do experimento, o armazenamento levou à diminuição do vigor e da germinação das sementes isoladas de *C. brasiliense*.

Gráfico. 2 Percentagem de germinação de sementes de *C. brasiliense* isoladas, semeadas em vermiculita e dispostas em câmara de germinação, a 30 °C, em cinco tempos de armazenamento, até 42 dias. A seta indica o momento da aplicação de GA₃. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



Fonte: autora

Tabela 1 Percentagem de sementes deterioradas (DT) de *C. brasiliense* e índice de velocidade de germinação (IVG), em cinco tempos de armazenamento, semeadas em vermiculita e dispostas em câmara de germinação, a 30 °C, por 42 dias.

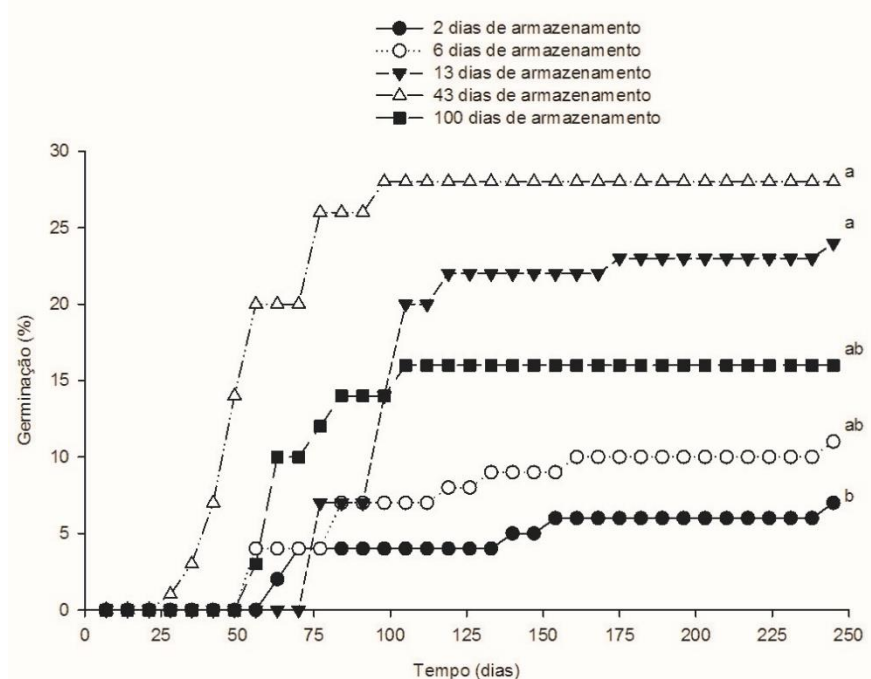
Tempos de armazenamento (dias)	DT (%)	IVG
2	0 a	2,94 a
6	6 a	1,28 b
13	14 ab	1,23 b
43	31 cb	0,76 bc
100	47 c	0,39 c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Fonte: autora

3.2 Efeito do armazenamento sobre a germinação de pirênios

Os pirênios armazenados por 43 dias iniciaram a germinação aos 28 dias após a semeadura, enquanto que os demais só começaram a germinar partir dos 56 dias (Gráfico. 3), o que explica o maior IVG (0,36) para esse tratamento (Tabela 2). Os maiores percentuais de germinação, 24 e 28%, foram obtidos, respectivamente, a partir de pirênios armazenados por 13 e 43 dias (Gráfico. 3). Por outro lado, pirênios recém-dispersos (dois dias de armazenamento) apresentaram uma menor taxa de germinação (7%), indicando que, até certo ponto, o armazenamento nessas condições proporcionou um aumento na germinação. O tempo de armazenamento pode favorecer a germinação ou mesmo reduzir o vigor e a viabilidade das sementes a partir de pirênios (Gráfico. 3 e Tabela 2).

Gráfico. 3 Percentagem de germinação de sementes a partir de pirênios de *C. brasiliense*, em cinco tempos de armazenamento, semeadas em vermiculita e dispostas em câmara de germinação, a 30 °C, por 245 dias. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



Fonte: autora

Independentemente do tempo de armazenamento dos pirênios, houve uma elevada taxa de deterioração das sementes (Tabela 2), indicando que as sementes dentro dos pirênios não toleram longos períodos com alta umidade do substrato inerte, tipo vermiculita, em câmara de germinação, a 30 °C.

Tabela 2 Percentagem de sementes deterioradas (DT) de *C. brasiliense* e índice de velocidade de germinação (IVG) a partir de pirênios, em cinco tempos de armazenamento, semeados em vermiculita e dispostos em câmara de germinação, a 30 °C, por 245 dias.

Tempos de armazenamento (dias)	DT (%)	IVG
2	67 ab	0,05 b
6	57 b	0,09 b
13	67 ab	0,17 b
43	58 b	0,36 a
100	84 a	0,16 b

Médias da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Fonte: autora

3.3 Efeito de doses de GA₃ na emergência de plântulas a partir de pirênios

O período de maior emergência das plântulas concentrou-se nos três primeiros meses após o plantio, até abril, independentemente da dose de GA₃, à exceção da dose zero. A partir daí, entre os meses de abril e agosto, manteve-se estável, retomando o ritmo a partir deste último mês (Gráfico. 4a). O período de emergência mais considerável coincidiu com as épocas mais quentes (Gráfico. 4b). As maiores doses de GA₃, 375 e 500 mg/L⁻¹, estimularam, respectivamente, a emergência das plântulas em 39% e 35%, a partir de pirênios recém-dispersos, enquanto que a ausência do regulador permitiu uma taxa muito baixa, somente 2%. O IVE seguiu a mesma tendência, tendo os maiores valores em função das duas maiores doses (Tabela 3).

O percentual de pirênios que não deram origem a plântulas, de forma geral, declinou com o aumento das doses de GA₃, o que pode ser explicado

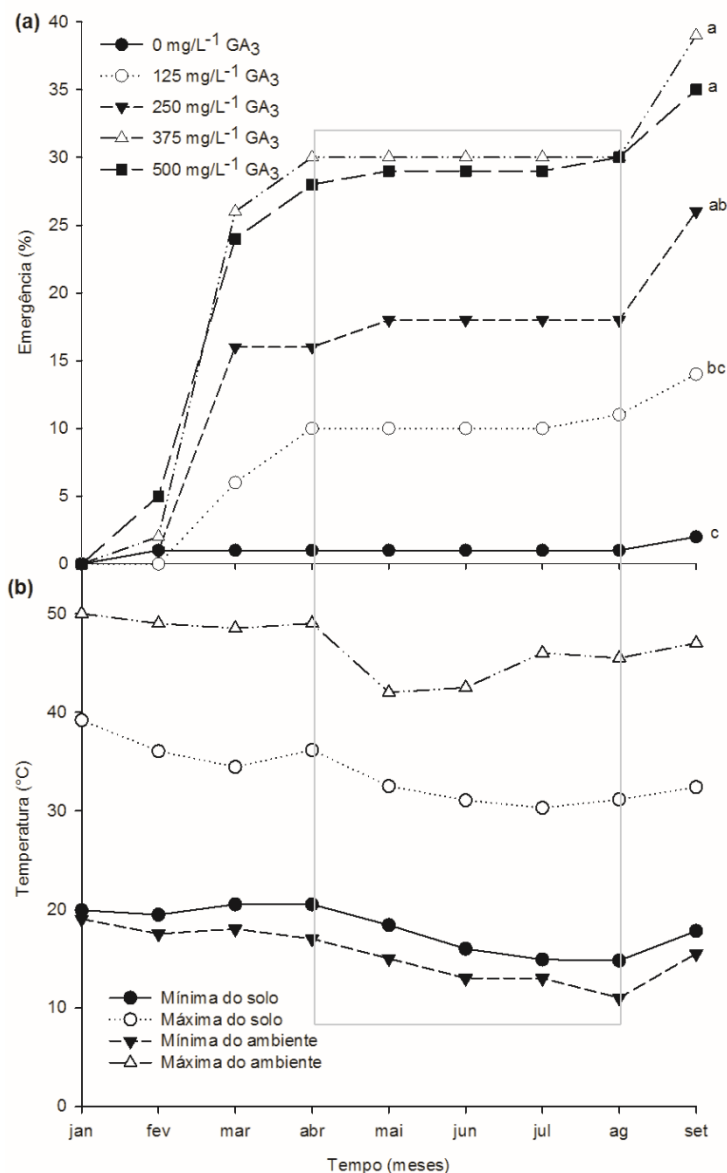
pelo aumento da taxa de emergência. No tratamento adicional (sem pré-embebição), não houve emergência, a maioria dos pirênios manteve suas sementes não germinadas, indicando a presença da dormência (Tabela 3). A média geral de sementes deterioradas foi de 36,8%.

Tabela 3 Percentagem de pirênios não germinados (NG), emergência de plântulas de *C. brasiliense* (EP), a partir de pirênios sem pré-embebição (tratamento adicional), e índice de velocidade de emergência (IVE), submetidos a cinco doses de GA₃, plantados em casa-de-vegetação.

Doses (mg/L ⁻¹)	NG (%)	IVE	
0	63 a	0,007 c	
125	40bc	0,042bc	
250	43ab	0,080ab	
375	21 c	0,136 a	
500	30bc	0,139 a	
			EP (%)
Adicional (secas)	66,0a	0 b	0 b
Média das doses	39,4b	0,08a	23,2a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. Fonte: autora

Gráfico. 4 Percentagem de emergência de plântulas de (a) pirênios de *C. brasiliense*, submetidos a cinco doses de GA₃, plantados em solo, em casa-de-vegetação, em janeiro de 2015, e avaliados por oito meses. (b) Temperatura máxima e mínima do solo e do ambiente dentro da casa-de-vegetação, durante o período experimental. A área marcada em retângulo indica a associação entre a emergência e a temperatura. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.



Fonte: autora

3.4 Efeito de doses de GA₃ e do armazenamento sobre a germinação de sementes isoladas

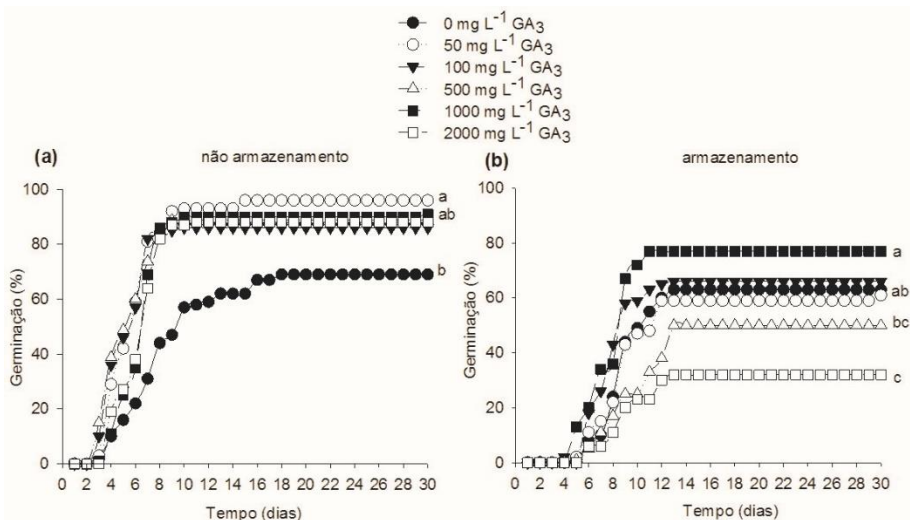
A percentagem de sementes inviáveis extraídas dos pirênios, antes da sementeira, foi de 14%. Sementes isoladas não armazenadas começaram a germinar a partir do terceiro dia de sementeira, atingindo, no oitavo dia, de forma geral, o pico de germinação (acima de 90%), quando aplicou-se GA₃ (Gráfico. 5a). Já no tratamento adicional e na dose zero de GA₃, os maiores índices de germinação (68 e 69%) foram obtidos no décimo quarto e no décimo oitavo dia, respectivamente.

Nas sementes armazenadas, a germinação iniciou no quinto dia e alcançou o pico no décimo e no décimo segundo dia, dependendo das doses de GA₃ (Gráfico. 5b). Houve um efeito positivo de todas as doses de GA₃ sobre a germinação, quando comparado à dose zero, nas sementes não armazenadas. No entanto, isso não ocorreu nas sementes armazenadas, pelo contrário, a dose de 2.000 mg/L⁻¹ de GA₃ diminuiu a germinabilidade (32%) mais do que aquela sem o uso do regulador de crescimento, dose zero (63%) e sem embebição (70%). O atraso e a menor taxa de germinação nas sementes armazenadas foram demonstrados também pelo seu menor valor de IVG em todas as concentrações de GA₃, em relação às sementes não estocadas (Tabela 4).

O armazenamento, mesmo que por 20 dias, promoveu aumento da perda de viabilidade das sementes, uma vez que a percentagem de sementes deterioradas foi significativamente superior naquelas armazenadas (37%), em comparação às não estocadas (8%). A mesma tendência foi observada nos tratamentos adicionais, com uma taxa de deterioração das sementes armazenadas de 25%, enquanto que naquelas não armazenadas a taxa foi de 10%. Já entre as concentrações de GA₃, a dose de 2.000 mg/L proporcionou uma maior deterioração (66%) quando comparada aos demais tratamentos.

Ao final do experimento, o armazenamento e o uso de GA₃ interferiram na percentagem de sementes não germinadas. O armazenamento, na dose zero de GA₃, reduziu o número de sementes não germinadas. A aplicação de GA₃, a partir da dose 50 mg/L⁻¹, também diminuiu a quantidade de sementes não germinadas, mas somente naquelas não estocadas (Tabela 4).

Gráfico. 5 Percentagem de germinação de sementes isoladas de *C. brasiliense*, (a) não armazenadas – 0 dias – e (b) armazenadas por 20 dias, em seis doses de GA₃, semeadas em vermiculita e dispostas em câmara de germinação, a 30 °C, por 30 dias. Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade



Fonte: autora

Tabela 4 Percentagem de sementes isoladas de *C. brasiliense* não germinadas (NG) e índice de velocidade de germinação (IVG), a partir de pirênios não armazenados – 0 dias (N) – e armazenados por 20 dias (AR), em seis doses de GA₃, semeadas em vermiculita e dispostas em câmara de germinação, a 30 °C, por 30 dias.

Doses de GA ₃ (mg/L ⁻¹)	N		AR	
	NG (%)	IVG	NG (%)	IVG
0	24Aa	9Ba	2,29A	1,45B
50	0Ab	4Aa	3,52A	1,44B
100	6Ab	4Aa	3,86A	1,88B
500	1Ab	7Aa	3,95A	1,12B
1000	0Ab	2Aa	2,95A	2,08B
2000	0Ab	2Aa	3,77A	0,98B

Letras diferentes, maiúsculas na linha e minúsculas na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Fonte: autora

4. DISCUSSÃO

A dormência fisiológica em *C. brasiliense* (DOMBROSKI *et al.*, 2010; MENDES, 2015) é causada pela interação entre dois componentes: o embrião e o endocarpo (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; NONOGAKI *et al.*, 2010; BASKIN; BASKIN, 2014). O embrião controla a germinação através do seu estado fisiológico, interagindo com os fatores ambientais (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006). O endocarpo regula o fluxo de água e impõe restrição mecânica ao crescimento do embrião, limitando a germinação. A influência dessa estrutura no controle da germinação é relatada também para outras espécies do Cerrado (MAGALHÃES *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2014; CARVALHO *et al.*, 2015).

De forma geral, sementes isoladas de *C. brasiliense*, após abscisão dos frutos (teor de água próximo de 40%), germinam mais lentamente e em baixos percentuais (2%), indicando que o componente de parte da dormência na espécie está ligado ao embrião (DOMBROSKI *et al.*, 2010). Entretanto, as condições ambientais do ano de coleta dos frutos e a variabilidade genética dos lotes e de cada semente podem interferir no comportamento fisiológico do embrião (BASKIN; BASKIN, 2014), ocasionando maior germinação mesmo em sementes isoladas de pirênios de frutos recém-dispersos. Isso explica a maior germinabilidade de sementes isoladas não armazenadas, como verificado em um lote neste estudo, no tratamento adicional (68%) e na dose zero de GA₃ (69%), e em outra pesquisa em que se atingiram percentuais acima de 80% (MENDES, 2015).

O comportamento fisiológico do embrião ligado à baixa germinação está relacionado com o balanço hormonal entre giberelinas (GAs) e ácido abscísico (ABA) (KUCERA *et al.*, 2005; BEWLEY *et al.*, 2013). Essas substâncias estão envolvidas na ativação ou inativação de enzimas responsáveis por manter ou não o embrião no estado dormente. As giberelinas promovem o afrouxamento da parede e a expansão celular, causando enfraquecimento dos tecidos adjacentes ao embrião, enquanto o ABA inibe tal evento (KUCERA *et al.*, 2005; NONOGAKI *et al.*, 2010; ROSENTAL *et al.*, 2014). O aumento na relação

GAs/ABA pela aplicação exógena de GAs pode acelerar e elevar a germinação, superando a dormência (MIRANSARI; SMITH, 2014). Entretanto, as sementes têm respostas variáveis em relação às concentrações de GA₃, um dos principais reguladores de crescimento utilizados na quebra da dormência fisiológica em sementes (HARTMANN *et al.*, 2010). A dose de 50 mg/L de GA₃ é satisfatória para promover a germinação de sementes isoladas não armazenadas, enquanto que as sementes estocadas dispensam o uso de GA₃. No entanto, as sementes, quando envolvidas pelos endocarpos (pirênio), demandam concentrações mais elevadas, 375 ou 500 mg/L de GA₃. É possível que essa maior dose de GA₃ demandada pelos pirênios tenha relação com a necessidade de uma força potencial mais elevada do embrião para superar a restrição mecânica imposta pelo endocarpo rígido. Outro aspecto que reforça o papel preponderante do endocarpo na manutenção da dormência é que as taxas de germinação em pirênios, mesmo utilizando o GA₃, foram, em média, cerca de 30 a 40% ao final de 245 dias de semeadura, bastante inferiores em comparação com as sementes isoladas, que atingiram mais de 90% com 42 dias pós-semeadura. Por último, é importante ressaltar que a dose comumente recomendada para pirênios de pequizeiro é de 125 mg/L de GA₃ (MENDES, 2015), mas quando estes são recém-dispersos, deve-se no mínimo triplicar a concentração de GA₃.

Os teores de água das estruturas do pirênio de *C. brasiliense*, semente e endocarpo, foram quase os mesmos valores e declinaram rapidamente após 10 dias de armazenamento, de aproximadamente 40% para cerca de 7%. Essa íntima relação entre as estruturas e a capacidade do endocarpo de reter um elevado teor de água pode, em algum momento, contribuir para o processo germinativo. O elevado conteúdo de água das sementes, acima de 40%, no momento da dispersão, é mais comum em sementes recalcitrantes (LONG *et al.*, 2014), porém a ocorrência da germinação em sementes com teores de água próximo a 7%, neste estudo e também em outros (SILVA; MEDEIROS FILHO, 2006; LEÃO *et al.*, 2012; MENDES, 2015) indica sua tolerância à dessecação.

A desidratação na pós-maturação associada ao armazenamento pode causar alterações fisiológicas importantes na semente, interferindo na

dormência, no vigor e na viabilidade da mesma (NONOGAKI *et al.*, 2010; BEWLEY *et al.*, 2013). Os períodos de armazenamento de 20 e 43 dias permitiram que as sementes isoladas atingissem uma taxa de germinação de cerca de 65% sem o uso de GAs, superando a dormência. Por outro lado, tanto nesses períodos como no de 100 dias de armazenamento, a porcentagem de sementes deterioradas foi maior e o vigor menor, em comparação com as sementes com uma época de estocagem igual ou inferior a 13 dias, mas que ainda estavam dormentes. Quando se utilizaram pirênios armazenados no plantio, observou-se a mesma tendência, com a superação da dormência, pelo menos em parte, aos 43 dias, ocorrendo, a partir daí, uma diminuição no vigor e na viabilidade da semente.

O armazenamento pode levar à redução da concentração do ABA, da síntese de GAs e do aumento na taxa de GAs/ABA, além de mudanças nas estruturas de resistência ao redor da semente, o que foi identificado em diversas espécies, inclusive no próprio pequizeiro (DEBEAUJON *et al.*, 2000; DIAS *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2013; MENDES, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2015). Essas alterações causam o aumento do potencial de crescimento do embrião e o enfraquecimento dos tecidos que o circundam, propiciando a germinação e, conseqüentemente, a superação da dormência (BASKIN; BASKIN, 2014). Por outro lado, o armazenamento também reduz o vigor e a viabilidade das sementes, em função da peroxidação das abundantes reservas lipídicas e devido aos danos nas membranas celulares, causados durante a reidratação das sementes de *C. brasiliense*, como já identificado em trabalho anterior (MENDES, 2015). A perda da viabilidade e do vigor é muito precoce quando se utiliza a semente isolada, logo após a estabilização do teor de água (20 dias de armazenamento), em comparação com o pirênio (100 dias de armazenamento). Isso demonstra que o endocarpo pode ter um papel importante na proteção contra a deterioração da semente.

A baixa emergência de plântulas (1%), após três meses de plantio, em pirênios recém-dispersos, sem ou com embebição em água, e semeados em casa-de-vegetação, em relação àqueles que receberam doses de GA₃, confirmou a presença da dormência nas sementes. Em seguida, houve a paralisação da emergência nos tratamentos com GA₃, entre os meses de abril

a agosto, quando ocorreram baixas temperaturas (abaixo de 20 °C) e elevadas amplitudes térmicas (45/20 °C). Essa interrupção na emergência possivelmente se deve ao estado de quiescência das sementes não dormentes, uma vez que a sua exigência térmica não é satisfeita para proporcionar a germinação. A retomada da emergência coincide com o aumento da temperatura (após o mês de agosto), corroborando a hipótese de que uma parte das sementes estava quiescente. Também não pode ser excluído o fato de que a elevação da temperatura e a redução da amplitude térmica funcionem como um gatilho para a germinação das sementes dormentes, como constatado para outra espécie de Cerrado (NEVES *et al.*, 2013), que também possui dormência fisiológica. Apesar de ocorrer, em função aumento da temperatura, uma pequena taxa de emergência dos pirênios não tratados com GA₃, tal fato é contraposto pelo curto período de avaliação após o incremento térmico, somente um mês, impossibilitando afirmar que variações desse fator climático não atuem também como elemento aliviador da dormência em sementes de *C. brasiliense*.

Nas condições naturais do Cerrado, é comum, no período entre abril e outubro, a ocorrência de déficits hídricos pronunciados e de baixas temperaturas, o que impede a germinação. Entretanto, os pirênios de pequiheiro são dispersos na estação chuvosa, entre dezembro a março, o que pode permitir encontrar condições favoráveis de umidade e temperatura para a germinação. Esta, porém, é bloqueada inicialmente pelo fenômeno da dormência e depois pelas condições de baixas temperaturas, sendo adiada até o próximo período chuvoso. Todo esse ciclo de variação de temperatura e hidratação e secagem das sementes de *C. brasiliense* pode diminuir a intensidade da dormência fisiológica, mas também levar a uma deterioração significativa das sementes (99%), reduzindo a germinação a menos de 1% (MENDES, 2015). É importante destacar também que, quando o substrato se mantém úmido dentro da casa-de-vegetação, a taxa deterioração das sementes de *C. brasiliense* é reduzida para menos de 40%, significando, talvez, que o maior teor de água na semente tem o efeito de atenuar os processos degradativos.

5. CONCLUSÕES

As estratégias de sobrevivência de plantas de pequiheiro são variadas e complexas. A planta longeva com produção de muitos pirênios favorece a manutenção dos dispersores. A heterogeneidade, dentro e entre lotes, e as condições ambientais do ano de coleta propiciam a rápida germinação de partes das sementes isoladas. A baixa emergência de plântulas a partir de pirênios recém-dispersos, devido à presença da dormência, evidenciou a resistência das sementes em formar banco de plântulas. O endocarpo tem papel fundamental na manutenção do estado de quiescência das sementes não dormentes, limitando a entrada de água e a condição térmica da semente e protegendo-a contra a deterioração. O período chuvoso subsequente, após a dispersão dos frutos, favorece a superação da dormência em sementes de pirênios recém-dispersos. Para fins de produção de mudas, recomenda-se a dose de 50 mg/L de GA₃ para promover germinação acima de 90% em sementes isoladas. Em sementes isoladas armazenadas, não é necessário o uso de GA₃ para estimular a germinação. No caso de pirênios recém-dispersos, faz-se o uso de doses mais elevadas de GA₃, 375 ou 500 mg/L, para obter de 30 a 40% de germinação. Recomenda-se o armazenamento por 20 e 43 dias e teor de água das sementes em torno de 7%, a fim de superar a dormência de sementes isoladas e propiciar uma germinação por volta de 65% sem o uso de GA₃. O armazenamento reduz o vigor e a viabilidade das sementes isoladas, porém essa redução é amenizada quando as sementes estão envolvidas pelos endocarpos. Em plantios em casa-de-vegetação, recomenda-se manter o substrato úmido, a fim de reduzir a taxa de deterioração das sementes de pequiheiro.

REFERÊNCIAS

AFONSO, S. R.; ANGELO, A. H.; ALMEIDA A. N. Caracterização da produção de Pequi em Japonvar, MG. **Revista Floresta**, v. 45, p. 49-56, 2015.

ALENCAR, N. L. M.; INNECCO, R.; GOMES-FILHO, E.; GALLÃO, M. I.; ALVAREZ-PIZARRO, J. C.; PRISCO, J. T.; OLIVEIRA, A. B. Seed reserve composition and mobilization during germination and early seedling establishment of *Cereus jamacaru* D.C. ssp. *jamacaru* (Cactaceae). **Annals of the Brazilian Academy of Sciences Fortaleza**, v. 84, n. 3, p. 823-832, 2012.

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**, v. 219, p. 479-488, 2004.

ARAÚJO, F. D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae): an economically valuable of central Brazilian Cerrados. **Economic Botany**, Bronx, v. 49, p. 40-48, 1995.

ASCARI, J.; TAKAHASHI, J.A.; BOAVENTURA, M.A.D. The Phytochemistry and Biological Aspects of Caryocaraceae Family. **Revista Brasileira de plantas medicinais**, Campinas, v.15, n.2, p.293-308, 2013.

BARBOSA, S. Métodos para superação da dormência fisiológica de *Caryocar brasiliense* Camb. **Cerne**, Lavras, v. 16, n. 2, p. 131-135, abr./jun. 2010.

BARRADAS, M. M. Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui) em várias fases de desenvolvimento. **Revista de Biologia**, [S.l.], v. 9, p. 69-84, 1973.

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. **Journal Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 2014. Disponível em: <10.1007/s11240-014-0474-8>. Acesso em: 04 abr. 2016.

BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV, 1999. 443p.

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

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

BENECH-ARNOLD, R.L.; GUALANO, N.; 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**, v.57, p. 1423-1430, 2006.

BERNARDES, T. G.; NAVES, V. N.; REZENDE, C. F. A.; BORGES, J. D.; CHAVES, J. Propagação sexuada do pequizeiro (*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. **The Plant Cell**, v. 9, p. 1055-1066, 1997.

BEWLEY JD, BRADFORD KJ, HILHORST HWM, NONOGAKI H. **Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy**. Springer, New York, 2013.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.

CÂNDIDO P. A.; MALAFAIA G. C.; REZENDE M. L. A exploração do pequi na região norte de Minas Gerais: abordagem por meio do Sistema Agroalimentar localizado, **Revista IDeAS**, v. 5, n. 2, p. 118- 138, 2012.

CARVALHO, V. S.; RIBEIRO, L. M.; LOPES, P. S. N.; AGOSTINHO, C. O.; MATIAS, L. J.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; CORREIA L. N. F. Dormancy is modulated by seed structures in palms of the cerrado biome. **Australian Journal of Botany**, v. 63, n. 5, p. 444-454, 2015.

COUSINS, S. R.; WITKOWSKI, E. T. F.; MYCOCK, D. J. Seed storage and germination in *Kumara plicatilis*, a tree aloe endemic to mountain fynbos in the Boland, south-western Cape, South Africa. **South African Journal of Botany** v. 94, p. 190-194, 2014.

DA SILVA, E. A. A.; MELO, D. L. B.; DAVIDE, A. C.; BODE, N.; ABREU, G. B.; FARIA, J. M. R.; HILHORST, H.W. M. Germination Ecophysiology of *Annona crassiflora* Seeds. **Annals of Botany**, v. 99, p. 823-830, 2007.

DEBEAUJON, I.; KLOOSTERZIEL, K. M. L.; KOORNNEEF, M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 122, p. 403-414. 2000.

DIAS, D. S.; LOPES, P. S. N.; RIBEIRO, L. M.; OLIVEIRA, L. A. A.; MENDES, E. V.; CARVALHO, V. S. Effects of seed structures, sucrose and gibberellic acid on the germination of *Butia capitata* (Arecaceae). **Seed Science and Technology**, v. 41, p. 371-382, 2013.

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 pequiheiro (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz da Almas, v. 20, n. 1, p. 68-73, abr. 1998.

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

FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, v.171, p.501-523, 2006. Disponível em: <10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x>. Acesso em: 04 abr. 2016.

FLORA DO BRASIL. Lista de espécies da Flora do Brasil. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/>> Acesso em: 04 abr. 2016.

FRANCHI, G. G.; PIOTTO, B.; NEPI, M.; BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M.; PACINI, E. Pollen and seed desiccation tolerance in relation to degree of developmental arrest, dispersal, and survival. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 5267-5281, 2011.

GIROLDI, A. B.; SCARIOT, A. Land use and management affects the demography and conservation of an intensively harvested Cerrado fruit tree species, **Biological Conservation**, v.191, p. 150-158, 2015.

GRIBEL, R.; HAY, J. D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) in Central Brasil cerrado vegetation. **Jornal Tropical Ecology**, v. 9, p. 199-211, 1993.

HARTMANN, H.T.; KESTER, D. E.; DAVIES JR, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: Principles and practices**. 8. ed. Printice hall: Upper Sadd River, 2010. 928p.

HOFFMANN, W. A. Post-Establishment Seedling Success in the Brazilian Cerrado: A Comparison of Savanna and Forest Species. **Biotropica**, v.32, n. 1, p. 62-69, 2000.

HONG, T.D., ELLIS, R.H. **A protocol to determine seed storage behavior**. Technical Bulletin n. 1, Italy, International Plant Genetic Resources Institute, 1996.

IBGE. **Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura** v. 29, Brasil, 2014 Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 13 jan. 2016.

JENSEN W. A. **Botanical histochemistry: principles and practice**, San Francisco: W.H. Freeman & Company, 1962.

JUNIOR, J. A.; TAVEIRA, M. R.; EVANGELISTA, A. W. P.; CASAROLI, D.; BARBOSA, L. H. A. Crescimento de plantas jovens de Pequizeiro irrigadas na região do cerrado. **Revista Agrotecnologia**, Anápolis, v. 4, n. 1, p. 58-73, 2013.

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

KAUTH, P.J.; BIBER, P. D. Moisture content, temperature, and relative humidity influence seed storage and subsequent survival and germination of *Vallisneria americana* seeds. **Aquatic Botany**, v. 120, p. 297-303, 2014.

KELLY, A. A.; QUETTIER, A. L.; SHAW, E.; EASTMOND, P. J. Seed Storage Oil Mobilization Is Important But Not Essential for Germination or Seedling Establishment in Arabidopsis. **Plant Physiology**, v. 157, p. 866-875, 2011.

KOORNNEEF, M.; BENTSINK, L.; HILHORST, H. Seed dormancy and germination. **Plant Biology**, v. 5, p. 33-36, 2002.

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

LEÃO, E. F.; PEIXOTO, N.; JÚNIOR, O. P. M. Emergência de plântulas de pequizeiro 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; VELOSO R. V. S.; ZANUNCIO J. C; FERNANDES L. A.; ALMEIDA C I. M. Phenology of *Caryocar brasiliense* in the Brazilian cerrado region. **Forest Ecology and Management**, v. 236, p. 286–294, 2006.

LEITE, G.L.D.; NASCIMENTO, A.F.; ALVES, S.M.; LOPES, P.S.N.; SALES, N.P.L.S.; 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, apr./jun. 2012.

LEONOVA, S.; GRIMBERG, A.; SALLA MARTTILA, S.; STYMNE, S.; CARLSSON, A. S. Mobilization of lipid reserves during germination of oat (*Avena sativa* L.), a cereal rich in endosperm oil. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, n. 11, p. 3089-3099, 2010.

LIMA, A.; SILVA, A. M. O.; TRINDADE, R. A.; TORES, R. P.; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LINKIES, A.; GRAEBER, K.; KNIGHT, C.; LEUBNER-METZGER, G. The evolution of seeds. **New Phytologist**, v.186, n. 4, p. 817-831, 2010.

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. The ecophysiology of seed persistence: a mechanistic view of the journey to germination or demise. **Biological Reviews Cambridge Philosophical Society**, 2014.

LOPES, L. S.; GALLÃO, M. I.; BERTINI, C. H. C. M. Mobilization of reserves during germination of *Jatropha* seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 44, n. 2, p. 371-378, abr./jun. 2013.

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, 320p., 2010.

MAGALHÃES, H.M.; LOPES, P.S.N.; RIBEIRO, L.M.; SANT'ANNA-SANTOS, B.F.; OLIVEIRA, D.M.T. Structure of the zygotic embryos and seedlings of *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, v. 27, n. 1, p. 273-283, 2012. Disponível em: <10.1007/s00468-012-0797-1>. Acesso em: 04 abr. 2016.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p.176-177, 1962.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495p.

MAZIA, D.; BREWER, P. A.; ALFERT, M. The cytochemistry staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. **Biological Bulletins**, v. 104, p. 57-67, 1953.

MELO, Z.L.O.; GONÇALVES, J.F.C.; MAZZAFERA, P.; SANTOS, D.Y.A.C. Mobilization of seed reserves during germination of four tropical species of the Amazon Rainforest. **Seed Science & Technol**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 597-607, 2009.

MENDES, D. S. **Dormência, germinação e longevidade em sementes de pequi (Caryocar brasiliense Camb.)** 2015. 50p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2015.

MIRANSARI, M.; SMITH, D. L. Plant hormones and seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p.110-121, 2014.

MONCALEANO-ESCONDON, J.; SILVA, B. C. F.; SILVA, S.R.S.; GRANJA, J. A.A.; ALVES, M. C. J. L.; POMPELLI, M. F. Germination responses of *Jatropha*

curcas L. seeds to storage and aging. **Industrial Crops and Products** v. 44, p. 684- 690, 2013.

MOURA, E. F.; VENTRELLA M. C.; MOTOIKE S. Y. Anatomy, histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Scientia Agricola**, v.67, n.4, p.399-407, 2010.

MULLER, K.; TINTELNOT, S.; LEUBNER-METZGER, G. Endosperm-limited Brassicaceae seed Germination: Abscisic acid Inhibits Embryo-induced Endosperm Weakening of *Lepidium sativum* (cress) and Endosperm Rupture of Cress and *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Phytochemist.** v.47, n. 7, p. 864-877, 2006.

NEVES, S.C.; RIBEIRO, L. M.; CUNHA, I. R. G.; PIMENTA, M. A. S.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; LOPES, P. S. N. Diaspore structure and germination ecophysiology of the babassu palm (*Attalea vitrivir*), **Flora**, v. 208, p. 68-78, 2013.

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

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

OGAWA, M.; HANADA, A.; YAMAUCHI, Y.; KUWAHARA, A.; KAMIYA, Y.; YAMAGUCHI, S. Gibberellin Biosynthesis and Response during Arabidopsis Seed Germination. **The Plant Cell**, v. 15, p. 1591-1604, Jul. 2003.

OLIVEIRA, N.C.C.; LOPES, P.S.N.; RIBEIRO, L.M.; MERCADANTE-SIMÕES, M.O.; OLIVEIRA, L.A.A.; SILVÉRIO, F.O. Seed structure, germination, and reserve mobilization in *Butia capitata* (Arecaceae). **Trees**, v. 27, p. 1633-1645, 2013.

OLIVEIRA, W.L.; SCARIOT, A. Boas Práticas de Manejo para o Extrativismo Sustentável do Pequi. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, Brasília, 2010.

PAIVA, E.A.S.; PINHO, S.Z.; OLIVEIRA, D.M.T.. Large plant samples: how-to process for GMA embedding. In: CHIARINI-GARCIA, H.; MELO, R.C.N.(Eds.), Light Microscopy: Methods and Protocols. **Humana Press**, Totowa, p. 37-49, 2011.

PEARSE, A. G. E. **Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology**. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1980. 439 p.

PRITCHARD, S. L.; CHARLTON, W. L.; BAKER, A.; GRAHAM, I. A. Germination and storage reserve mobilization are regulated independently in Arabidopsis. **The Plant Journal**, v. 31 n. 5, p. 639-647, 2002.

RIBEIRO, L. M. R.; GARCIA, Q. S.; MÜLLER, M.; MUNNÉ-BOSCH, S. Tissue-specific hormonal profiling during dormancy release in macaw palm seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 153, p. 627-642. 2015.

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

RIZZINI, C. T. Experimental studies on seedling development of Cerrado woody plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 52, p. 410-426, 1965.

ROBARDS, A. W., An introduction to techniques for scanning electron microscopy of plant cells. In: HALL, J.L. (Ed.). **Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells**. New York: Elsevier, 1978. p. 343-403.

ROLAND, A.M. General preparations and staining of thin sections. In: HALL, J.L. (Ed.). **Electron Microscopy and Cytochemistry of Plant Cells**. New York: Elsevier, 1978.

ROSENTAL, L.; NONOGAKI, H.; FAIT, A. Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. **Seed Science Research**, v. 24, p. 1-15, 2014.

SALAZAR, A.; GOLDSTEIN, G.; FRANCO, A.C.; MIRALLES-WILHELM, F. Timing of seed dispersal and dormancy, rather than persistence in soil seed-banks, control recruitment of woody plants in Neotropical savannas. **Seed Science Research**, v. 21, p. 103-116, 2011.

SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: Ecologia e Flora**, Vol. 1. Brasília: Livraria Embrapa, 2008.

SANTOS, F. S.; SANTOS, R. F.; DIAS, P. P.; JUNIOR, L.A. Z.; TOMASSONI, F. A cultura do Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Acta Iguazu**, Cascavel, v.2, n.3, p. 46-57, 2013.

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

SILVA, R. S.; RIBEIRO, L. R.; MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; NUNES, Y. R. F.; LOPES, P. S. N. Seed structure and germination in buriti (*Mauritia flexuosa*) — Thes wamp palm. **Flora**, v. 209, p. 674-685, 2014.

SILVEIRA, C. E. S.; PALHARES, D.; PEREIRA, L. A. R.; PEREIRA, K. B. D.; SILVA, F. A. B. Strategies of plant establishment of two Cerrado species: *Byrsonima basiloba* Juss. (Malpighiaceae) and *Eugenia dysenterica* Mart. ex DC (Myrtaceae). **Plant Species Biology**, v. 28, p. 130-137, 2013.

SOUZA, O.A.; NASCIMENTO, J.L.; NAVES, R.V.; BORGES, J.D. Propagação sexuada de pequizeiro (*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.

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

TAN-WILSON, A. L.; WILSON, K. A. Mobilization of seed protein reserves. **Physiologia Plantarum**, v. 145, p. 140-153, 2012.

THOMPSON, K.; GRIME, J.P. Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. **Journal of Ecology**, v. 67, p. 893-921, 1979.

VICI, R. A.; GALILI, G.; FERNIE, A. R.; FAIT, A. Seed desiccation: a bridge between maturation and germination. **Trends in Plant Science**, v.15, n.4, p. 1360-1385, 2010.

VIDAL, B.C. Dichroism in collagen bundles stained with Xylidine-Ponceau 2R. **Ann. Histochem.** v.15, p. 289-296, 1970.

ZIENKIEWICZ, A.; ZIENKIEWICZ, K.; REJON, J. D.; ALCHE, J. D.; CASTRO, A. J.; GARCIA-RODRÍGUEZ, M. I. Olive seed protein bodies store degrading enzymes involved in mobilization of oil bodies. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 1, p. 103-115, 2014.