

# ESTABELECIMENTO E SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE *Erythrina speciosa* ANDREWS

DEBORA MANZANO MOLIZANE

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de Concentração: Fisiologia Vegetal

**BOTUCATU - SP**

**- 2012 -**



**unesp**

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
Campus Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

ESTABELECIMENTO E SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM  
SEMENTES DE *Erythrina speciosa* ANDREWS

**DEBORA MANZANO MOLIZANE**

**PROF. DR. CLAUDIO JOSÉ BARBEDO**

**ORIENTADOR**

**PROF<sup>a</sup> DR<sup>a</sup> PRICILA GREYSE DOS SANTOS JULIO**

**CO-ORIENTADORA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Área de Concentração: Fisiologia Vegetal

**BOTUCATU - SP**

**- 2012 -**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCN. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSANGELA APARECIDA LOBO**

Molizane, Debora Manzano.

Estabelecimento e superação de dormência em sementes de *Erythrina speciosa* Andrews / Debora Manzano  
Molizane. – Botucatu : [s.n.], 2012

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Claudio José Barbedo

Co-orientadora: Pricila Greyse dos Santos Júlio

Capes: 20303009

1. Fisiologia vegetal. 2. Anatomia vegetal. 3. Sementes – Fisiologia. 4. Sementes – Dormência. 5. Dormência em plantas. 6. Sementes – Maturação.

Palavras-chave: Dormência física; *Erythrina speciosa*; Semente.

“Devo ter uma enorme quantidade de inteligência;  
às vezes até levo uma semana para a colocar em movimento.”

*Mark Twain*

“Sábio é aquele que conhece os limites da própria ignorância.”

*Sócrates*

“Não há nada tão estúpido como a inteligência orgulhosa de si mesma.”

*Mikhail Bakunine*

**Dedico**

Aos meus avós Paulo, Danila, José e Ana

Aos meus pais Neno e Sandra

Ao meu marido Marcos

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que por caminhos tortuosos me conduziu para a execução e conclusão deste trabalho;

Ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto do Edital Universal;

A CAPES pela bolsa concedida;

A Pós-Graduação da Unesp pela oportunidade de realizar o curso;

Ao Núcleo de Pesquisa em Sementes do Instituto de Botânica por permitir a realização dos experimentos em suas dependências;

Ao meu marido Marcos que sempre me incentivou e apoiou até nos momentos mais difíceis. Aos meus pais Sandra e Neno apoio para realização deste trabalho. Ao Borax e a Theodora pelo amor e carinho;

Ao Dr Claudio José Barbedo, pela orientação segura e amizade;

A Dra. Priscila pelo auxílio na formação e pela amizade;

Aos amigos do Instituto de Botânica João e Cibelle pelo auxílio nas coletas, a Vera que tanto me ajudou na execução desse trabalho. A Adriana Fidalgo, Marina Guardia, Waldete Pisciotano e Waldyr Baptista pelo apoio;

Aos pesquisadores e funcionários do Núcleo de Pesquisa em Sementes, do Instituto de Botânica incentivo e colaboração;

E aos amigos da UNESP Bruno, Thais, Willian, Angélica e Talita por me acolherem em suas casas. A Maria Helena pelo apoio;

A Professora Dra. Carmen Marcati por permitir o uso de seu Laboratório de Anatomia da Madeira para cortar sementes pela primeira vez;

As Professoras Célia Leite Sant'anna e Andréa Tucci do Departamento de Ficologia do Instituto de Botânica, que permitiram o uso no de seu laboratório para a realização das fotos anatômicas;

Ao Fábio Bóscio por me auxiliar no trabalho de anatomia;

Aos professores do Departamento de Botânica, IB, Unesp – Botucatu, principalmente aos Dra. Silvia Rodrigues Machado, Dr. Luiz Fernando Rolin de Almeida;

Aos amigos Luiz Mantoam, Daniel Baron, Alessandra Mito, Patrícia Cristófaró David, Juliana Iura, Marília Barberio, Edmir Lamarca, Marcelo Merati, Zé Edu;

A Aline Campana pela permissão de coleta no Parque Catavento Cultural;

Às pessoas e instituições que direta ou indiretamente me auxiliaram, apoiaram e contribuíram para a realização deste trabalho;

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| 1. Resumo.....   | 9  |
| 2. Abstract.....   | 11 |
| 3. Introdução .....  | 12 |
| 4. Revisão bibliográfica .....   | 14 |
| 4.1 Maturação .....  | 14 |
| 4.2 Dormência.....   | 17 |
| 4.3 Impermeabilidade do tegumento em relação à água.....   | 18 |
| 4.4 Escarificação ácida.....   | 20 |
| 4.5 Espécie .....  | 21 |
| 5. Capítulo 1 – Alterações físicas, fisiológicas e anatômicas de sementes de <i>Erythrina speciosa</i> Andrews em diferentes estádios de maturação ..... | 24 |
| 6. Capítulo 2 – Danos causados ao tegumento durante a escarificação ácida em sementes de <i>Erythrina speciosa</i> Andrews.....                          | 45 |
| 6. Considerações finais .....  | 68 |
| 7. Referências bibliográficas .....  | 71 |

## 1. Resumo

**MOLIZANE, D. M.. ESTABELECIMENTO E SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE *Erythrina speciosa* ANDREWS. 2012. 77P. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.**

**RESUMO** - Durante o processo de maturação, algumas espécies desenvolvem tegumento impermeável a água, fato muito comum na família das leguminosas. Essa impermeabilidade caracteriza um tipo de dormência dentre os menos compreendidos da biologia das sementes. O tegumento impermeável à água e gases é o principal modulador na interação entre os tecidos internos da semente e o meio e é classificado como dormência exógena-física. As sementes com esse tipo de entrave não iniciam o processo de germinação sem algum tipo de facilitador para a entrada de água, que neste estudo foi realizado com ácido sulfúrico. Pouco se sabe a respeito dos efeitos deletérios da ação desse ácido no tegumento da semente. *Erythrina speciosa* é uma espécie comum da mata Atlântica cujas sementes apresentam tegumento impermeável à absorção de água. Neste trabalho, foram coletados frutos e sementes de seis estádios de maturação, em dois anos consecutivos, e analisados quanto ao estabelecimento e superação da dormência, pela imersão das sementes em ácido sulfúrico concentrado por até 60 minutos, avaliando-se as sementes física, fisiológica e anatomicamente. Sementes dos diferentes estádios de maturação apresentaram progressiva redução do teor de água e aumento da massa seca, seguindo os padrões das sementes ortodoxas. O aumento observado no tempo médio de germinação demonstrou que a dormência se instala lentamente. Diferenças anatômicas mais evidentes foram observadas entre os estádios 2 e 3, os quais correspondem à fase em que o crescimento da semente cessa e há deposição de lignina para a formação das paredes secundárias. Diferenças também foram observadas nos estádios finais de maturação, quando há diminuição expressiva do teor de água, para os quais verificou-se aumento dos espaços intercelulares. A impermeabilidade do tegumento à água se instalou no último estágio de maturação, com enrijecimento da camada de macroesclereides. Em todos os estádios de maturação foi possível observar a linha lúcida, abaixo da cutícula e entre as duas camadas paliças do hilo. Sementes colhidas em anos diferentes apresentaram comportamento distinto quanto à sensibilidade aos processos de superação da dormência, demonstrando a influência do meio durante a formação das

sementes. Diferenças observadas na cutícula e na lente das sementes, entre os dois anos, podem estar relacionadas à sensibilidade aos tratamentos de superação da dormência.

**Palavras-chave:** *Erythrina speciosa*, dormência física, ácido sulfúrico, tegumento, hilo, lente, maturação.

## 2. Abstract

**MOLIZANE, D. M.. ESTABLISHMENT AND OVERCOMING SEED DORMANCY IN *Erythrina speciosa* ANDREWS. 2012. 77P. DISSERTATION (MASTER) - INSTITUTE OF BIOSCIENCES, UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.**

**ABSTRACT** - During the maturation process, some species develop coat impermeability to water, it´s very common in the legume family. This impermeability features a type of dormancy among the least understood of the biology of seed. The coats are impermeable to water and gases is the main modulating the interaction between the internal tissues of the seed and the environment and is classified as a dormancy-physical. The seed with this obstacle does not start the germination process without some kind of facilitator for water uptake, which in this study was performed with sulfuric acid. Little is known about the deleterious effects of the action of this acid in the seed coat. *Erythrina speciosa* is a common species of the atlantic forest whose seed coats are impermeable to water absorption. In this paper, fruits and seeds were collected from six different maturation stages in two consecutive years and analyzed to establish and break dormancy, seeds by soaking in concentrated sulfuric acid for 60 minutes while the seeds physical, physiological and anatomically. Seeds of different maturation stages showed progressive reduction of water content and dry mass increase, following the standards of orthodox seeds. The increase in mean germination time showed that the numbness settles slowly. More obvious anatomical differences were observed between stages 2 and 3, which correspond to the phase where growth ceases and no seed deposition lignina to the formation of secondary walls. Differences were also observed in the later stages of ripening, when there is a significant decrease of water content for which there was an increase in intercellular spaces. The seed coat impermeability to water settled at the final stage of maturation with stiffening layer macrosclereids. In all stages of maturation was possible to observe the lucid line, below the cuticle and between the two layers paliças hilum. Seeds harvested in different years showed different performance in terms of sensitivity to break dormancy processes, demonstrating the influence of environment during seed formation. Differences observed in the cuticle and the lens seeds, between the two years, may be related to sensitivity to treatments to overcome dormancy.

**Palavras-chave:** *Erythrina speciosa*, physical dormancy, sulphuric acid, dormancy, seed coat, hilum, lens, maturation.

### 3. Introdução

As sementes são o início da próxima geração e ocupam uma crítica posição na história de vida das plantas (BLACK *et al.*, 1999). Por isso, a conservação de sementes garante a sobrevivência de várias espécies. Essa conservação pode ser realizada de duas maneiras: *in situ*, que é a manutenção das espécies no seu habitat natural, parques e reservas e *ex situ*, que trata da conservação das espécies fora de seu ambiente natural, por meio de coleções de plantas, plântulas *in vitro* e banco de sementes (SANTOS, 2000). Para uma conservação eficiente, muitos estudos são necessários, dentre os quais pode-se destacar os de maturação, que irão auxiliar na determinação do ponto correto para coleta a fim de obter sementes de elevada qualidade.

A maturação é um processo constituído por uma série de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas (MARCOS FILHO, 2005) que ocorrem durante o período de formação das sementes. Nesse processo, a água assume papel crucial, auxiliando na expansão e divisão celular e sendo um veículo para produtos da fotossíntese a serem direcionados para tecidos de reserva nas sementes em formação, os quais serão utilizados durante as fases iniciais da germinação (BARBEDO *et al.*, 1997).

Ao final da maturação, sementes de diversas espécies podem desenvolver mecanismos que impedem a germinação mesmo sob condições favoráveis, caracterizando diferentes tipos de dormência. Observa-se que a dormência é transmitida geneticamente, mas pode ser induzida nas sementes durante o processo de secagem, ao final da maturação, necessitando de condições específicas para superar esse entrave e permitir a germinação (CASTRO, 2004). Dentre os vários tipos de dormência em sementes, a impermeabilidade do tegumento à entrada de água é muito comum na família Fabaceae (PEREZ, 2004). Anatomicamente, as sementes com impermeabilidade do tegumento apresentam camada paliádica simples ou dupla de macroesclereides e uma linha lúcida, formada através justaposição da suberina ou cutina com a celulose (PAMMEL, 1899; ROLSTON, 1978; SOUZA; MARCOS FILHO, 2001). Além dessas características, pode haver deposição de lignina na parede celular, auxiliando assim na presença de impermeabilidade do tegumento à água (KELLY *et al.*, 1992). De certa forma, a impermeabilidade do tegumento em sementes também promove maior longevidade, pois os processos metabólicos como respiração e deterioração não se iniciam, ou são bastante reduzidos, quando o teor de água permanece baixo e constante (BRANCALION *et al.*, 2010).

*Erythrina speciosa* Andrews é uma espécie característica da Mata Atlântica, presente nas regiões Sul e Sudeste brasileiras. É popularmente conhecida como eritrina-candelabro, maçaranduba, mulungu, saranduba ou suinã. Suas flores vermelhas ou alaranjadas possuem néctar abundante e são adaptadas para a polinização por pássaros nectarívoros (VITALI-VEIGA; MACHADO, 2000). É uma espécie arbórea caducifólia, com 3-5 metros de altura, que apresenta espinhos ao longo do tronco e ramos, possui folhas trifoliadas com exceção dos eófilos que são simples; sua floração ocorre nos meses mais frios do ano (KOSZO *et al.*, 2007). Suas sementes apresentam impermeabilidade do tegumento à água (MELLO *et al.*, 2010).

Neste estudo, analisaram-se as alterações físicas, fisiológicas, histológicas e ultraestruturais durante a maturação de sementes de *Erythrina speciosa*, bem como durante o processo de deterioração do tegumento quando submetido à escarificação ácida, objetivando-se identificar as estruturas responsáveis pelo estabelecimento e superação da dormência nessas sementes.

#### 4. Revisão bibliográfica

A partir do momento em que nossos ancestrais aprenderam a utilizar as sementes para produzir seu alimento, iniciava-se a agricultura e com ela a história de muitas civilizações. O aumento na disponibilidade de alimento propiciou o aumento populacional e conseqüentemente a expansão das áreas urbanas e agrícolas, que acabaram por invadir os ecossistemas no entorno das cidades. Essa devastação provocou a diminuição do número de espécies nativas e comprometeu a estabilidade desses ecossistemas. A preservação do ambiente e a restauração da mata nativa protegem tanto espécies que correm risco de extinção como as que possuem estreita base genética. Nesses casos as sementes são consideradas o início da próxima geração e, por isso, assumem importância fundamental (BLACK; *et al.*, 1999; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A conservação só é bem sucedida com o conhecimento sobre a fisiologia da semente como, por exemplo, com estudos de maturação e dormência. O ponto máximo da qualidade das sementes ocorre na maturidade fisiológica. Sementes imaturas apresentam um rápido aumento na deterioração por não estarem completamente formadas e sementes dispersas, que já passaram pelo ponto de maturidade, apresentam queda progressiva na qualidade em função do processo de respiração, aumentando assim também a deterioração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

##### 4.1 Maturação

Um dos primeiros pesquisadores a estudar o processo de maturação de sementes foi C. J. Willard num estudo realizado com soja. Avanços significativos para o entendimento desse processo ocorreram entre 1960 e 1970 nos laboratórios do Dr. Jame C. Delouche, na Universidade Estadual do Mississippi, onde trabalhos foram realizados com diversas espécies, identificando os estádios durante a maturação a partir do momento em que o óvulo é fecundado (MARCOS FILHO, 2005).

Não há, ainda, consenso entre os autores quanto à definição e distinção entre desenvolvimento e maturação, conforme descrito na Figura 1 e apresentado a seguir:

- Desenvolvimento e maturação são sinônimos, possuem três fases distintas que vão desde o momento que o óvulo é fecundado até o desligamento da semente com a planta mãe (PIÑA-RODRIGUES; AGUIAR, 1993; TAIZ; ZEIGER, 2006) E em outros casos esse período é chamado somente de maturação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

- Desenvolvimento vai desde a fecundação até o término de ganho de massa seca e maturação inicia quando a semente adquire peso constante até o fim do período de dessecação (LABOURIAU, 1983).
- Maturação vai desde o óvulo fertilizado até atingir o máximo de matéria seca (POPIGINIS, 1985).
- Desenvolvimento é desde o momento que o óvulo é fecundado até a dispersão (HAY; SMITH, 2002; RAVEN *et al.*, 2008) e a maturação é parte deste desenvolvimento compreendendo o momento em que o embrião passa a acumular matéria seca até o momento da dispersão das sementes (HAY; SMITH, 2002).
- Desenvolvimento ou maturação é desde o óvulo até o momento em que ocorre a dessecação das sementes (MARCOS FILHO, 2005).
- Desenvolvimento ocorre desde a embriogênese até a aquisição da tolerância a dessecação (BEWLEY; BLACK, 1994; OHTO *et al.*, 2002).
- Desenvolvimento ocorre desde a histodiferenciação até a semente quiescente e maturação é parte desse processo sendo somente durante a expansão celular e acúmulo de reservas (CASTRO *et al.*, 2004).

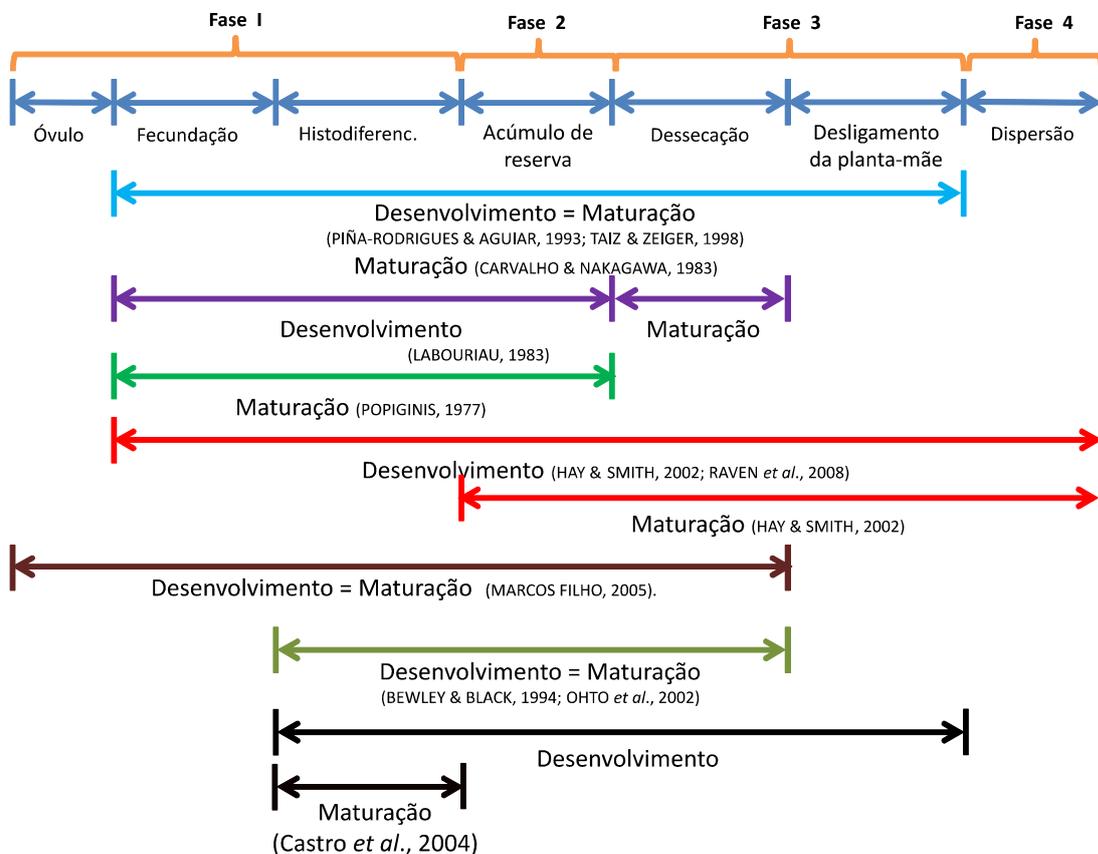


Figura 1 – Quadro comparativo sobre a visão de cada autor sobre desenvolvimento e maturação, e os nomes que cada fase recebe durante a formação da semente.

Neste trabalho, serão adotadas as definições apresentadas por CARVALHO e NAKAGAWA (2012), por acompanhar desde a fecundação e fase de divisão celular até o momento de desligamento da semente em relação à planta mãe. Assim, é possível observar as alterações no teor de água, no conteúdo de massa seca, na capacidade germinativa e de desenvolvimento de plântulas normais, no vigor e na instalação da dormência de forma completa, permitindo fácil identificação do ponto de maturidade fisiológica.

A maturação é um processo constituído por uma série de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas (MARCOS FILHO, 2005). Essas alterações ocorrem durante o período de formação das sementes e, portanto, a água assume papel crucial, atuando na expansão e divisão celular e também como veículo para produtos da fotossíntese que farão parte dos tecidos da semente ou serão armazenados para uma futura utilização nas fases iniciais da germinação (BARBEDO *et al.*, 1997). Durante o processo de maturação, a semente passa por quatro fases. A primeira vai desde a fecundação e expansão celular do zigoto até a semente atingir seu tamanho máximo. Nessa fase inicial, o teor de água é elevado e há pouco ganho de massa seca. Na segunda fase, a semente passa a receber mais nutrientes da planta mãe, acumulando massa seca, que será o material de reserva utilizado durante a germinação até a planta se tornar autotrófica. Durante essa fase, o teor de água diminui gradativamente conforme o ganho de massa seca aumenta (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005; POPIGINIS, 1985). É durante essa fase que sementes de algumas espécies adquirem a capacidade de germinar, mesmo sem estar totalmente formada, como é o caso do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.), demonstrado por BORGES *et al.* (2005). Na terceira fase, a transferência de nutrientes entre a planta mãe e a semente em formação intensifica-se e o teor de água decresce rapidamente e, então, a semente tem seu desenvolvimento completo. A quarta fase é caracterizada pelo desligamento da semente em relação à planta mãe. Nas sementes ortodoxas o teor de água é reduzido, chegando em torno de 10%, e passa a oscilar conforme a variação da umidade do ambiente. A taxa de germinação, a capacidade de produzir plântula normal e o vigor estão no ponto máximo de resposta (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; MARCOS FILHO, 2005; POPIGINIS, 1985).

O processo de maturação é medido em dias após antese (DAA), pois cada espécie tem uma duração diferente para esse período. Em leguminosas, por exemplo, verificou-se que nas sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. o ponto de maturidade ocorreu entre 60-65 DAA (BORGES *et al.*, 2005), já para *Mimosa caesalpinifolia* Benth ocorreu próximo aos 189 DAA (ALVES *et al.*, 2005) e, para *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan, próximo aos 220 DAA (SOUZA; LIMA, 1985).

Além disso, para a mesma espécie as variações ambientais podem influenciar o período de maturação, o conteúdo de matéria seca e o teor de água presente nas sementes no momento da dispersão. Durante os estudos com sementes *Caesalpinia echinata* Lam. oriundas de um mesmo local, em dois anos consecutivos, observou-se que a maior quantidade de chuva promoveu diferença no tamanho das sementes e na quantidade de dias para a maturação (BORGES *et al.*, 2005). Dentre as características utilizadas para a identificação do ponto de maturidade fisiológica, a aquisição de dormência figura entre as verificadas para sementes de espécies nativas e, também, de cultivares que apresentam essa característica (NAKAGAWA *et al.*, 2005).

#### 4.2 Dormência

O termo dormência refere-se a um estado de uma planta inteira ou órgão desta, que é caracterizada por uma interrupção temporária no crescimento e desenvolvimento. É uma característica que provavelmente foi adquirida durante a evolução pela seleção natural através da capacidade de sobreviver em ambientes adversos, tais como calor, frio ou seca (HILHORST, 2007).

A dormência é um dos fenômenos menos compreendidos da biologia das sementes (HILHORST, 1995) e tem sido muito estudada por vários pesquisadores, mas ainda sem uma definição conclusiva (BEWLEY; BLACK, 1994). Na tentativa de simplificar a definição, alguns autores consideram como sendo uma falha, de uma semente intacta viável, em completar a germinação em condições favoráveis (BEWLEY, 1997). Outros autores tentaram esclarecer a dormência como um fenômeno no qual as sementes não germinam mesmo tendo todas as condições ideais para isso (MARCOS FILHO, 2005). Existem, ainda, autores que defendem que dormência está ligada à ausência de germinação; no entanto, a ausência de germinação pode ter outras causas, como semente inviável, limitações do ambiente ou, ainda, a espécie pode levar muitos dias para germinar, como é o caso do café (HILHORST, 2007).

As sementes cujo tegumento são impermeáveis à água são consideradas por BEWLEY (1997) como sementes não dormentes, pois o envoltório impede que a água abasteça o embrião para dar início à germinação. Outro exemplo de sementes que são incluídas na classificação atual de dormência elaborada por BASKIN e BASKIN (2004), são as sementes das famílias Orchidaceae e Orobanchaceae, que contêm embriões indiferenciados, geralmente constituídos apenas por poucas células, não possuindo reservas nutritivas e, portanto, não são capazes de completar o desenvolvimento embrionário e a

germinação. Nesse caso, essas sementes necessitam de fontes exógenas de alimentação para o crescimento do embrião, como na simbiose.

Uma classificação foi desenvolvida para facilitar o entendimento sobre dormência. Essa classificação é baseada no momento da aquisição da dormência, sendo primária e secundária. A primária ocorre antes da dispersão da semente como parte do programa genético durante a maturação, como em sementes de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; a secundária ocorre após a dispersão, influenciada por falta de condições adequadas para a germinação (CARDOSO, 2004; HILHORST, 2007).

Dentro desses dois grandes grupos ainda podemos classificar a dormência como exógena e endógena (BASKIN, C.; BASKIN, J., 1998), apesar de outros autores considerarem como dormência embrionária ou de cobertura (tegumentar) (BEWLEY; BLACK, 1994). A dormência endógena está relacionada a algum bloqueio que o embrião apresenta e pode ser subdividida em fisiológica, física, morfológica e morfofisiológica. A dormência exógena não atinge o embrião, mas sim as outras partes da semente e pode ser subdividida em fisiológica, física e mecânica (CARDOSO, 2004; HILHORST, 2007).

#### 4.3 Impermeabilidade do tegumento em relação à água

O tegumento impermeável à água é conhecido como dormência exógena-física (HILHORST, 2007) e é muito comum em espécies da família Fabaceae (PEREZ, 2004). É um fator controlado geneticamente por poucos genes, que são muito influenciados pelas variações do ambiente (RAMSAY, 1997). Está presente em 17 famílias de angiospermas (BASKIN *et al.*, 2000).

Basicamente, o tegumento é formado por quatro camadas. A mais externa é a cutícula cerosa, formada por uma camada de cera que tem espessura variada e é a primeira barreira para que ocorra a embebição. A segunda é a epiderme, formada por apenas uma camada de células paliçadas e alongadas perpendicularmente à superfície externa da semente, chamada de macroesclereides. Os macroesclereides tem, frequentemente, um lúmen estreito, membrana lateral irregular e espessa na parte superior da célula, pois é reforçada por bandas de celulose. Em alguns casos a lamela média é lignificada e, em outros, a espessura da cutícula aumenta a impermeabilidade do tegumento. Também há casos em que algumas espécies tem diferenças no nível de lignificação da camada paliçada, produzindo assim sementes permeáveis e não permeáveis à água. Nessa camada de células podemos observar, ainda, em algumas espécies, a presença da linha lúcida, que é uma região mais densa que só pode ser distinguida utilizando microscopia de luz. A linha lúcida, em alguns casos, pode ser bem definida e, em outros, não

ser visível ou com refração completamente ausente (CAVAZZA, 1950; CORNER, 1951; KELLY *et al.*, 1992; SOUZA; MARCOS FILHO, 2001) podendo ser única, como em sementes de *Trifolium pratense* L. (ALGAN; BÜYÜKKARTAL, 2000) e *Acacia caven* (Molina) Molina (VENIER *et al.*, 2012) ou dupla, como em *Geranium carolinianum* L. (GAMA-ARACHCHIGE *et al.*, 2011).

A hipoderme é formada por uma única camada de células em formato de ampulheta, chamadas de osteoesclereides, separados por amplos espaços intercelulares formando, assim, a terceira camada. A quarta e última camada é formada por parênquima contando de seis a oito camadas de paredes finas tangencialmente alongadas e distribuídas uniformemente. No tegumento maduro, as células do parênquima muitas vezes são parcialmente ou completamente condensadas (MILLER *et al.*, 1999).

A espessura do tegumento, por si só, não indica seu grau de impermeabilidade. O mecanismo bioquímico no processo de endurecimento varia de acordo com a espécie e genótipo. Algumas sementes tem a impermeabilidade relacionada com a cutícula cerosa, para outras espécies está relacionado com a presença de altos níveis de cálcio e fósforo. É possível citar, ainda, a presença de quinonas na camada paliçada ou na hipoderme. Há sementes que apresentam uma camada de fenóis, falta de poros, presença da linha lúcida, cutina na região do hilo, cera presente entre as células da camada paliçada e, ainda, níveis elevados de lignina na base da camada de macroesclereides e topo de osteoesclereides e a calose presente na linha lúcida (PAMMEL, 1899; HARRIS, 1987; BEWLEY; BLACK, 1994; SOUZA; MARCOS FILHO, 2001; SOUZA *et al.*, 2012; VENIER *et al.*, 2012), todos como potenciais causadores de impermeabilidade à água.

O hilo é uma cicatriz formada quando o funículo se desprende da semente e é uma estrutura importante no controle da troca de água entre o embrião e a planta mãe ou ambiente. No momento em que a umidade é baixa o hilo se fecha para evitar a perda de água e no momento em que há água disponível ele se abre. Durante o processo de redução no teor de água, ao final da maturação, o hilo se fecha e uma camada de cera é depositada, estabelecendo-se a impermeabilidade (HYDE, 1954; LUSH; EVANS, 1980; MA *et al.*, 2004).

Próximo ao hilo, no lado oposto à micrópila, encontra-se a lente (*lens*, em inglês). Essa estrutura apresenta um grau de saliência, tamanho e células constituintes muito variáveis na superfície da semente. A lente não faz parte do hilo, mas é comumente confundida com estruturas que surgem a partir deste. Tem a função de regular a absorção de umidade do ar ou cortar o fluxo de nutrientes para o embrião em seus estádios finais de desenvolvimento (LERSTEN *et al.*, 1992; HU *et al.*, 2009). A lente é tida como uma estrutura que serve de

ponto inicial para a entrada de água na semente, dando assim início à germinação. Somente após algum tipo de escarificação ou, ainda, após flutuações da temperatura ela se torna permeável com o rompimento da camada de macro esclereides, como pode ser observado num estudo com sementes de *Leucaena leucucephala* Lam. (De wit) após imersão em água a 98°C. É possível que, além da lente e da micropila, a entrada da água também ocorra de forma geral ao longo do revestimento da semente (tegumento), pois a estrutura e a composição química da testa são diferentes em cada espécie (SERRATO-VALENTI *et al.*, 1995; MORRISON *et al.*, 1998; BASKIN, 2003).

#### 4.4 Escarificação ácida

Para os casos de dormência exógena-física há duas formas para sua superação: a escarificação mecânica e a química. Na escarificação mecânica as sementes são submetidas a atritos em superfície abrasiva. Este método foi eficiente para *Bauhinia unguolata* L (ALVES *et al.*, 2000), *Sterculia foetida* L. (SANTOS *et al.*, 2004), *Bixa orellana* L. (AMARAL *et al.*, 1995) e *Adenantha pavonina* L. (RODRIGUES *et al.*, 2009). A escarificação química é realizada com a imersão das sementes em ácidos, como o sulfúrico. Esse tratamento foi eficiente para a quebra de dormência em sementes de *Zizyphus joazeiro* Mart. (ALVES *et al.*, 2006), *Ochroma lagopus* Sw. (BARBOSA *et al.*, 2004) e *Strelitzia reginae* Ait (BARBOSA *et al.*, 2005).

A celulose e a lignina estão entre os principais componentes das paredes celulares (BUCHANAN *et al.*, 2000). A celulose é composta por longas cadeias que, quando expostas a altas temperaturas com ácido sulfúrico, quebram em grupos mais curtos de moléculas, liberando assim a glicose (OGEDA; PETRI, 2010). A lignina é um polímero aromático formado por um sistema heterogêneo e ramificado sem nenhuma unidade repetidora definida, presente em toda a planta, mas sua composição é diferente em cada local. O ácido sulfúrico penetra na lignina promovendo a decomposição de monossacarídeos em compostos como o furfural, um produto de desidratação de pentoses e HMF-hidroximetilfurfural, um produto de desidratação de hexoses (KLOCK *et al.*, 2005; LENIHAN *et al.*, 2010). O ácido sulfúrico também é empregado na conversão da biomassa de natureza ligno-celulósica em açúcares, aumentando a produção final de etanol (LODI, 2008).

Apesar da larga utilização do ácido sulfúrico para quebra de dormência em sementes, pouco se sabe a respeito dos efeitos deletérios da ação desse ácido no tegumento da semente. Duas hipóteses foram levantadas por JORDAN *et al.* (1983), a primeira relacionada à digestão discreta das camadas do tegumento e a segunda promovendo furos na parede do tegumento,

permitindo a passagem de água ou de oxigênio. Sabe-se, contudo, que nem todas as sementes da família das leguminosas apresentam a mesma resposta para os tratamentos de superação de dormência (HU *et al.*, 2009).

#### 4.5 Espécie

O gênero de *Erythrina* apresentam flores com cores vermelhas ou laranjas e com néctar abundante e adaptadas para a polinização por pássaros nectarívoros (VITALI-VEIGA; MACHADO, 2000). Possui aproximadamente 100 espécies distribuídas de áreas tropicais e subtropicais de todo o mundo (PARSONS; PALFRAMAN, 2010).

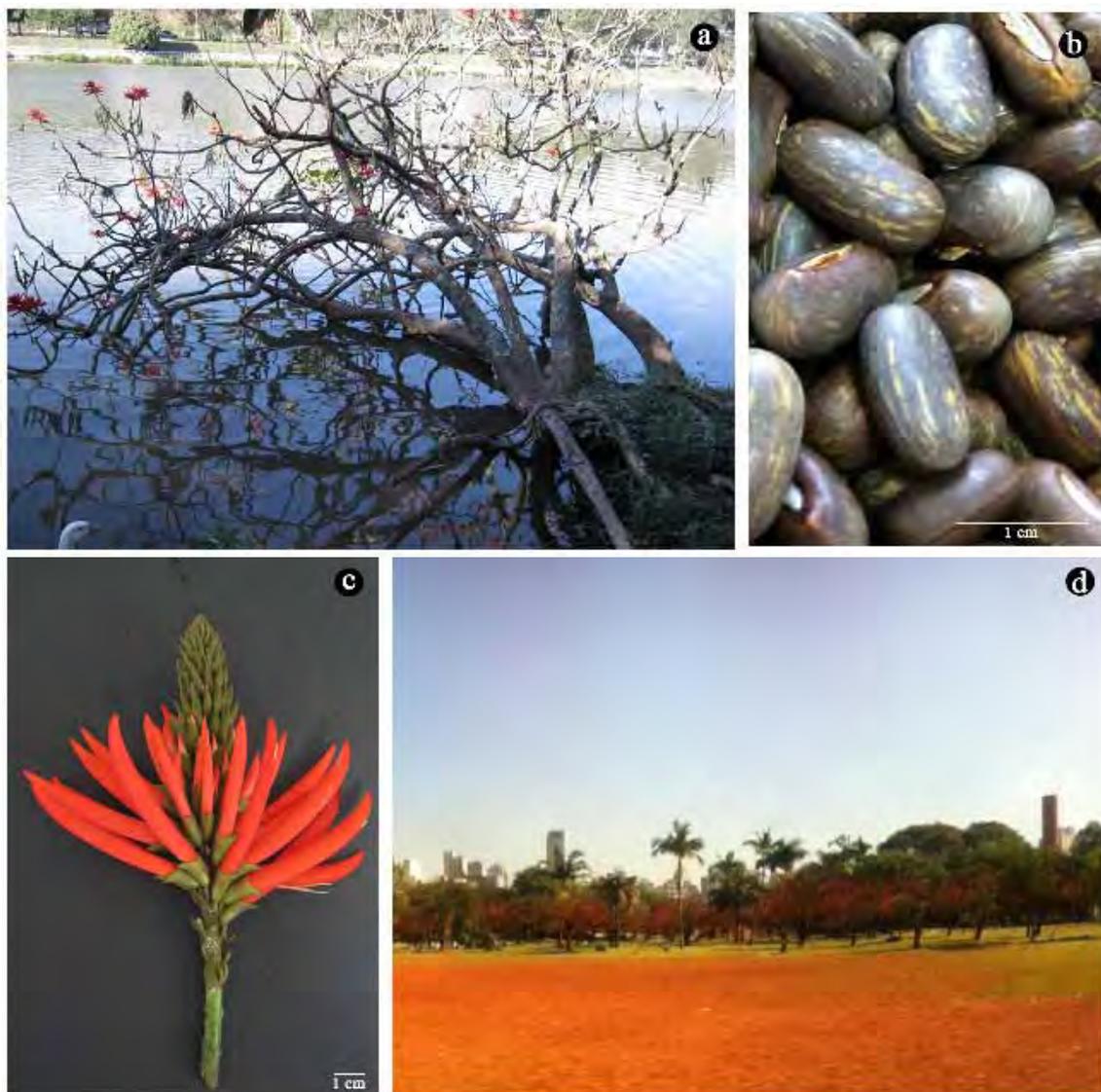


Figura 2. *Erythrina speciosa* Andrews. (a) Sobrevivência em área alagada (b) sementes maduras (c) Inflorescência (d.) Local da coleta no Parque Catavento Cultural, na região central da cidade de São Paulo

Essas árvores são de importância religiosa para algumas minorias étnicas, sendo utilizadas como emblemas florais em muitos países. *E. crista-galli*, por exemplo, é a flor nacional de Argentina e Uruguai e *E. caffra* é a árvore oficial da cidade de Los Angeles, Califórnia. Na Venezuela *E. poeppigiana* e *E. variegata* são usadas como emblema floral em Yonabaru, Okinawa (SZIRMAI, 2011).

Em grego, ερυθρός (*erythros*) significa vermelho (SZIRMAI, 2011) e, em latim, *speciosa* corresponde à vistosa, qualidades que evidenciam suas flores. *Erythrina speciosa* (Figura 2) é uma espécie característica e bastante comum da Mata Atlântica, popularmente conhecida como eritrina-candelabro, maçaranduba, mulungu, saranduba ou suinã. Pertence à família Fabaceae (JOLY, 1970) e são facilmente encontrada nas regiões Sul e Sudeste brasileiras, preferencialmente em solos úmidos e áreas ensolaradas. É espécie arbórea caducifólia, com 3-5 metros de altura, que apresenta espinhos ao longo do tronco e ramos, possui folhas trifoliadas com exceção dos eófilos que são simples; sua floração ocorre nos meses mais frios do ano (KOSZO *et al.*, 2007), por isso é muito utilizada como planta ornamental.

Testes realizados com folhas de *E. speciosa* evidenciam efeitos contra formas epimastigotas, como o *Trypanosoma cruzi* (FARIA *et al.*, 2007) e a ação antibacteriana em menores concentrações (PESSINI *et al.*, 2003). Na região sul do Brasil, a medicina popular utiliza as folhas dessa espécie como ansiolítico (LOLLATO *et al.*, 2010).

As flores tem tamanho mediano, são hermafroditas com 5 pétalas de tamanhos diferentes, sendo que a pétala maior recobre toda a flor e internamente estão presentes as demais. O cálice apresenta muitos pelos com néctar e a antese ocorre entre o dia, e os visitantes mais presentes são os insetos, como *Apis mellífera* Linnaeus, com 45% da frequência e *Trigona spinipes* (Fabricius) com 28,6% (VITALI-VEIGA; MACHADO, 2000).

Nos estádios iniciais da formação dos frutos de *E. speciosa*, foram observadas formigas (*Camponotus* sp., *Cephalotes* sp. e *Pseudomyrmex* sp.) em busca de néctar sobre a superfície dos frutos em desenvolvimento, os quais possuem tricomas secretores. Essa patrulha e alimentação protegem a planta contra herbivoria. Não foram realizados estudos para avaliação se há alteração na produção, morfologia, anatomia ou fisiologia dessas sementes (PAIVA, 2009). O fruto de *E. speciosa* é oblongo-elíptico, deiscente, com 8-9 sementes (GROTH *et al.*, 2003). A semente é alongada-subquadrangular, com ápice e base arredondado-truncado; é possível observar o lóbulo radicular mais ou menos protuberante lateralmente, com o hilo oblongo (Figura 4C), levemente afundado, obscurecida por uma camada de tecido cortical esbranquiçado, sulco hilar que circunda o hilo; restos do funículo

esbranquiçado, em maior ou menor tamanho também podem ser observados; o tegumento é castanho-avermelhado quando a semente está madura (GROTH *et al.*, 2003), com manchas negras (BRUNEAU, 1996) e com impermeabilidade à absorção de água. As sementes dessa espécie também são muito tolerantes a dessecação e podem ser armazenadas por vários anos e em diversas condições ambientais diferentes no estado seco (MELLO *et al.*, 2010). Apresentam 45% de rafinose, 40% de sacarose, 12% de estaquiose e pequenas quantidades dos açúcares redutores livres, glucose e frutose, na sua composição (MELLO *et al.*, 2007).

A morfologia inicial da plântula é epígeo-carnosa. A germinação tem início com a protrusão da raiz primária no segundo dia e, no quinto dia, observam-se várias raízes laterais e o hipocótilo em crescimento. A plântula normal é observada com sistema radicular axial com várias raízes secundárias e terciárias. Os cotilédones continuam presentes e com coloração verde. O primeiro par de eofilos é unifoliado. A folha é peciolada com espinhos em toda sua extensão (OLIVEIRA, 2001).

## 5. Capítulo 1

### **ALTERAÇÕES FÍSICAS, FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS DE SEMENTES DE *Erythrina speciosa* Andrews EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO**

Debora Manzano Molizane\*, Pricila Greyse dos Santos Júlio\*, Claudio José Barbedo\*\*

\*Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Rubião Júnior.

\*\*Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Sementes, Av. Miguel Stéfano 3687, São Paulo, SP.

Bolsista CNPq. Email: claudio.barbedo@pesquisador.cnpq.br

**RESUMO** - A maturação é um processo constituído por uma série de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem durante o período de formação das sementes. Nesse processo, é frequente a busca pelo ponto de maturidade fisiológica, entendido como o momento de máximo acúmulo de matéria seca e baixo teor de água das sementes, com elevada porcentagem de germinação e alto vigor. Durante esse processo, o tegumento de sementes de algumas espécies, especialmente nas da família das leguminosas, tornam-se impermeáveis à água, como em *Erythrina speciosa*. No presente trabalho, analisaram-se sementes desta espécie em seis estádios de maturação visando a caracterizar o momento no qual a impermeabilidade do tegumento se estabelece. Análises físicas (teor de água e conteúdo de massa seca), fisiológicas (germinação e vigor) e anatômicas (material fixado em FAA70, com cortes a mão livre, corados com safrabau) de sementes nos diferentes estádios de maturação demonstraram que essas sementes seguiram o padrão de formação de sementes ortodoxas, mas o aumento no tempo médio de germinação indicou que a dormência se instala progressivamente desde os primeiros estádios da maturação. Diferenças anatômicas foram identificadas entre os estádios 2 e 3, quando a fase de crescimento cessa e há deposição de lignina para formação das paredes secundárias. Nos estádios finais de maturação, quando há grande redução no teor de água das sementes, verificou-se aumento dos espaços intercelulares. A dormência se instalou definitivamente no último estágio, com enrijecimento da camada de macroesclereides. Em todos os estádios de maturação foi possível observar a linha lúcida abaixo da cutícula e, também, entre as duas camadas paliças do hilo.

**Palavras-chave:** *Erythrina speciosa*, maturação, semente, dormência física.

**ABSTRACT** – Maturation is a process consisting of a series of morphological, physical, physiological and biochemical changes which occur during the seed formation. In this process, it is often the search for physiological maturity, understood as the moment of maximum dry matter accumulation and low water content of seeds with high germination and high vigor. During this process, the seed coat seeds of some species, especially in the family of legumes become impermeable to water, as in *Erythrina speciosa*. In this study, we analyzed the seeds of this species in six stages of maturation in order to characterize the moment in which the impermeability of the integument is established. Physical analysis (water content and dry matter content), physiological (germination and vigor) and anatomical (fixed material FAA70 with cuts free hand, stained with safrabau) seeds at different stages of maturation showed that these seeds followed formation pattern orthodox seeds, but the increase in mean germination time indicated that the numbness sets in gradually from the early stages of maturation. Anatomical differences were identified between stages 2 and 3, when the growth phase ceases and no deposition lignina for forming the secondary walls. In the final stages of maturation, when there is a great reduction in the water content of the seeds, it was found enlargement of intercellular spaces. The dormancy finally settled at the final stage, with stiffening layer macrosclereids. In all stages of maturation was possible to observe the light line below the cuticle, and also between the two layers palissade hilum.

**Palavras-chave:** *Erythrina speciosa*, maturation, seed, physical

## 1. Introdução

A maturação é um processo constituído por uma série de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem durante o período de formação das sementes, dentre as quais estão aquisição da capacidade germinativa e da tolerância à dessecação e a instalação da dormência (SAMARAH *et al.*, 2004). Nesse processo, é frequente a busca pelo ponto de maturidade fisiológica, entendido como o momento de máximo acúmulo de matéria seca e baixo teor de água das sementes, com elevada porcentagem de germinação e alto vigor. Esse ponto pode, muitas vezes, ser identificado por alterações visuais no aspecto de frutos e sementes (POPIGINIS, 1985; MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Durante a maturação das sementes de diversas espécies verificam-se transformações do tegumento que o tornam impermeável à água, frequentemente na fase de perda de água quando a semente ainda está ligada à planta-mãe. Dentre essas transformações, a formação de compostos de coloração escura, resultante da oxidação de substâncias fenólicas, pode contribuir para a formação dessa barreira impermeável (NAKAGAWA *et al.*, 2007).

Na família das leguminosas é comum as sementes apresentarem a impermeabilidade do tegumento à água, conferida por uma camada de células epidérmicas, paliçádicas ou macroesclereídes, uma subcamada epidérmica de células em ampulheta, ou osteosclereídes e algumas camadas de parênquima (MILLER *et al.*, 1999; PEREZ, 2004). Na tribo Papilionoideae uma característica marcante é a barra de traqueídes, presente na região subhilar, com uma ou mais camadas de grandes células lignificadas (LERSTEN, 1982) com parede celular espessa, cuja função é a de desidratar a semente nos estádios finais de maturação (HYDE, 1954).

*Erythrina speciosa* Andrews é uma espécie característica e bastante comum da Mata Atlântica, popularmente conhecida como eritrina-candelabro, maçaranduba, mulungu, saranduba ou suinã. É uma espécie arbórea caducifólia, com 3-5 metros de altura muito característica da Mata Atlântica, em solos úmidos e áreas ensolaradas. Sua floração ocorre nos meses mais frios do ano. Suas sementes podem apresentar, quando maduras, tegumento impermeável à absorção de água (JOLY, 1970; KOSZO *et al.*, 2007), mas ainda não foram identificados o momento no qual essa impermeabilidade se instala e as estruturas ou os compostos responsáveis por essa impermeabilidade, dificultando o desenvolvimento de tecnologia que permita maximizar a utilização dessas sementes em programas de produção de mudas. Neste trabalho, estudaram-se as alterações físicas, fisiológicas e anatômicas em sementes de *E. speciosa*, procurando-se identificar o momento no qual a impermeabilidade do tegumento se instala no hilo e no tegumento.

## 2. Material e métodos

### *Obtenção do material vegetal*

Os frutos de *Erythrina speciosa* Andrews foram coletados de 30 matrizes do Parque Cultural Catavento, em área urbana do município de São Paulo, SP (23°32'44"S e 46°37'40"O), de agosto a outubro de 2011. A extração das sementes foi realizada por meio de quebra dos frutos e retirada manual das sementes. As sementes foram separadas visualmente em função da pigmentação do tegumento, variando gradualmente do verde claro ao castanho escuro, baseando-se em experimentos anteriores (KRETZSCHMAR *et al.* 2012).

As sementes do estágio 1 (Figura 3a) apresentavam-se de coloração verde-clara, sem



Figura 3. Aspectos visuais e na cor no tegumento nos estádios de maturação de *Erythrina speciosa* Andrews. (a) estágio 1 (imaturado). (b) estágio 2. (c) estágio 3. (d) estágio 4. (e) estágio 5. (f) estágio 6 (maduro).

manchas no tegumento, com comprimento próximo a 1,3 cm; as do estágio 2 (Figura 3b) também eram de coloração verde-clara, mas maiores em comprimento (cerca de 1,6 cm); as do estágio 3 (Figura 3c), também verde-claras, já possuíam manchas castanho-claras por toda a superfície do tegumento e tinham comprimento próximo a 1,6 cm; nas sementes do estágio 4 (Figura 3d), o tegumento, ainda verde, era completamente coberto por manchas castanhas e tinham comprimento próximo a 1,88 cm; no estágio 5 (Figura 3e) a coloração das sementes era castanha, com algumas pequenas manchas de cor verde e tinham comprimento próximo a 1,52 cm; finalmente, as sementes do estágio 6 (Figura 3f) eram de cor castanha e tinham comprimento próximo a 1,27 cm.

### *Avaliações físicas e fisiológicas*

O teor de água e o conteúdo de massa seca foram avaliados pelo método gravimétrico, em estufa a 103 °C por 17 horas (ISTA, 1985), sendo os resultados apresentados, respectivamente, em porcentagem (base úmida) e em mg/semente (BRASIL, 2009).

Testes de germinação foram instalados em rolos de papel, previamente umedecidos e sem excesso visível de água (BRASIL, 2009), acondicionados em sala de germinação regulada para 25°C com umidade relativa de 70%. As avaliações de germinação foram realizadas a cada 2 dias durante 30 dias, sendo registradas as sementes que emitiram raiz primária (para o cálculo da porcentagem de germinação) e as que apresentarem capacidade de produção de plântulas normais (para o cálculo da porcentagem de sementes com capacidade de produzir plântulas normais, doravante denominada porcentagem de desenvolvimento). Foi calculado, também, o tempo médio de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando-se fórmula empregada por Maguire (1962).

### *Análises histológicas*

As sementes dos estádios de maturação descritos acima foram analisadas anatomicamente, fixando-se o material em formaldeído, álcool etílico a 70% e ácido acético (FAA70) (JOHANSEN, 1940) e armazenados em etanol 70%. Os cortes anatômicos dos estádios imaturos foram feitos a mão com auxílio de lâmina; para os cortes das sementes maduras utilizou-se micrótomo de deslize marca Reichert. O material já cortado de cada amostra foi hidratado, passado por álcool 60, 30 e 10% e, então, foi lavado em água destilada por três vezes. Após a descoloração, realizada com hipoclorito a 20% por 20 minutos, as amostras foram lavadas em água destilada, neutralizadas em água acética 1% por 3 minutos e lavadas em água destilada novamente. As amostras foram coloridas com corante safrablau por 3 minutos e lavadas em água destilada até a retirada do excesso do corante. Lâminas foram montadas em gelatina glicerinada e lutadas com esmalte incolor.

O material foi analisado em microscópio Zeiss Axioskop e fotografados com câmera Canon A480.

### *Delineamento experimental e análises estatísticas*

O delineamento experimental para todos os experimentos foi inteiramente casualizado, com 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), ao nível de 5% de probabilidade e as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, também ao nível de 5% (GOMES, 1982).

### 3. Resultados e discussão

A separação das sementes de *E. speciosa* nos seis estádios descritos mostrou-se eficiente em termos de maturação, conforme observado nos resultados físicos e fisiológicos. Os valores de teor de água (Figura 4a), por exemplo, passaram de aproximadamente 80%, no estágio 1, para 9%, no estágio 6, seguindo o comportamento clássico de sementes ortodoxas, para as quais a perda de água é contínua e mais acentuada ao final da maturação (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Além disso, nas sementes de *E. speciosa* do presente trabalho, a clássica secagem da maturação, preconizada para sementes ortodoxas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012) ocorreu entre os estádios 4 e 6. O comportamento clássico da maturação de sementes ortodoxas pode ser observado, também, pelos valores de acúmulo de massa seca (Figura 4b), com máximo sendo atingido no estágio 6. O máximo acúmulo de massa seca durante a maturação de sementes é considerado, por muitos autores, como o ponto de maturidade fisiológica (BORGES *et al.*, 2005; MARCOS FILHO, 2005; MARTINS; SILVA, 1997), conforme observado em sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl. (GEMAQUE *et al.*, 2002).

A capacidade germinativa se desenvolveu ao longo da maturação, iniciando-se no estágio 2 e atingindo máximos valores no estágio 5 (Figura 4a). Deste último para o estágio 6 verifica-se a instalação da impermeabilidade do tegumento à água pois, sem processos artificiais de quebra de dormência, a germinação foi quase nula. Tal fato foi confirmado pela escarificação mecânica destas sementes que, então, apresentaram 100% de germinação. Comportamento semelhante foi observado em estudos realizados com sementes de *Bixa orellana* L. (AMARAL *et al.*, 2000). Nestas, a capacidade germinativa ocorreu a partir do estágio denominado pelos autores como 3, alcançando taxas máximas no estágio 5 e com reduções na porcentagem de germinação deste estágio até o 7, ou seja, próximo ao período de dispersão natural das sementes. Para estas sementes também foi verificada impermeabilidade do tegumento à água.

A porcentagem de desenvolvimento surgiu apenas no estágio 5 (Figura 4b), coincidindo com os máximos valores de germinação (Figura 4a). Tal fato demonstra que, embora a capacidade germinativa seja atingida, para algumas sementes, nos primeiros estádios de maturação, estas ainda não completaram a maturação e não contribuirão para a propagação da espécie. Tal fato foi observado para outras espécies, como por exemplo, em sementes de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) (CORVELLO *et al.*, 1999). O tempo médio de germinação (Figura 4c), por sua vez, aumentou com o decorrer da maturação da semente, atingindo o ponto máximo no estágio 5, comportamento que não é observado em (*Tibouchina granulosa*

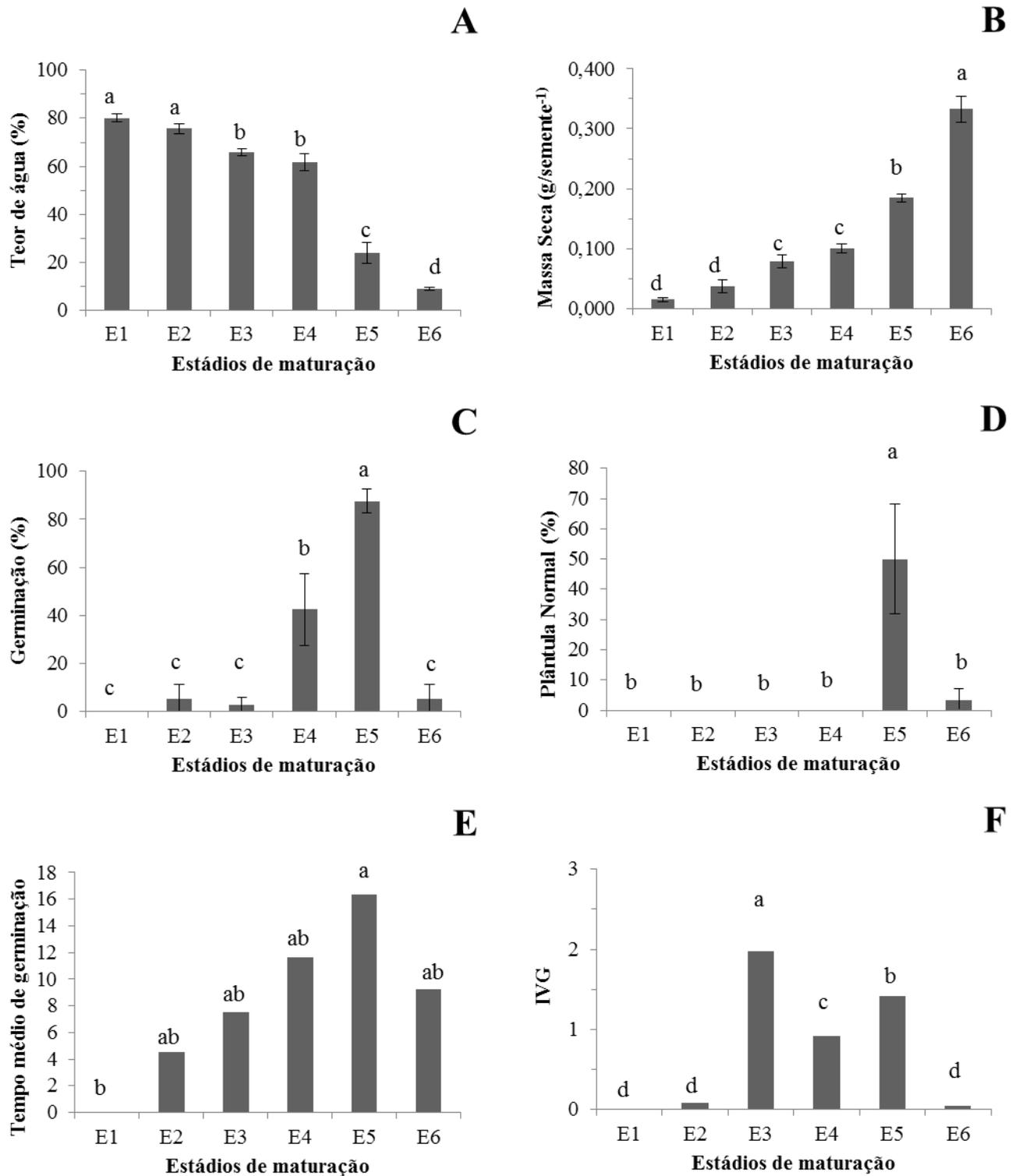


Figura 4. Alterações fisiológicas nos estádios de maturação de *Erythrina speciosa* Andrews., onde E significa estágio e o número ao seu lado corresponde ao estágio de maturação. (A) Valores de teor de água expresso em porcentagem sobre base úmida. (B) Massa seca expressa em mg/semente. (C) Germinação expresso em porcentagem. (D) Produção de plântulas normais com valores expresso em porcentagem. (E) Tempo médio de germinação. (F) Índice de velocidade de germinação (IVG). As letras em cada gráfico mostram diferenças significativa entre os tratamentos.

Cogn.), para a qual o tempo médio de germinação diminuiu (LOPES *et al.*, 2005), mesmo com a instalação da dormência ao final do processo de maturação. Sementes de *Peltophorum*

*dubium* (Sprengel.) Taubert ainda apresentam oscilação no tempo médio de germinação durante os estádios de maturação para sementes sem tratamento (AQUINO *et al.*, 2006). Esse aumento no tempo médio de germinação pode demonstrar que o processo de dormência se instala lentamente durante a maturação da semente, como também pode ser observado no número médio de sementes germinadas por estádio (Figura 5). Observa-se que no estádio 1 e 6 (Figura 5 a, f) não há germinação. No estádio 1 as sementes estão imaturas e ainda não desenvolveram a capacidade germinativa e no estádio 6 as sementes já tem a dormência instalada. Rolston (1978) indica a deposição de lignina, cutina, suberina ou compostos fenólicos nas paredes celulares dos macroesclereides, tornando assim essas células impermeáveis à água.

Vários autores consideram a combinação de alguns fatores para identificar o ponto maturidade fisiológica, como o máximo de acúmulo de massa seca, redução no teor de água (ocorrido no estádio 6), máxima porcentagem de germinação (MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Nos casos em que a dormência se instala ao final da maturação, por uma programação genética da espécie há uma dificuldade em identificar o momento no qual ocorrem as taxas máximas de germinação (NAKAGAWA *et al.*, 2005), dificultando assim em determinar o ponto de maturidade fisiológica. Dificuldades como essa foram encontradas em estudos com sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (Canafístula) (NAKAGAWA *et al.*, 2010) e *Tibouchina granulosa* Cogn. (Quaresmeira) (LOPES *et al.*, 2005).

As sementes de *E. speciosa* apresentam a descrição clássica de quatro camadas (Figura 6) compostas por cutícula cerosa, epiderme (macroesclereides), formada por apenas uma camada de células paliçadas e alongadas perpendicularmente à superfície com a presença da linha lúcida. A hipoderme é formada por uma única camada de células em formato de ampulheta chamadas de osteoesclereides separados por amplos espaços intercelulares, e uma camada de células do parênquima muitas vezes são parcialmente ou completamente condensados (CAVAZZA, 1950; CORNER, 1951; KELLY *et al.*, 1992; MILLER *et al.*, 1999; SOUZA; MARCOS FILHO, 2001).

As alterações físicas e fisiológicas descritas foram acompanhadas de análises da anatomia do tegumento e hilo. Nota-se que ocorreram alterações na composição química desses tecidos, sendo observada através do corante safrablau, que reage com a celulose corando de azul e com a lignina corando de rosa (BUKATSCH, 1972), utilizados nessas análises. Nos dois primeiros estádios de maturação é possível observar as camadas de células da epiderme (macroesclereides) e hipoderme (osteoesclereides), tanto no tegumento (Figura

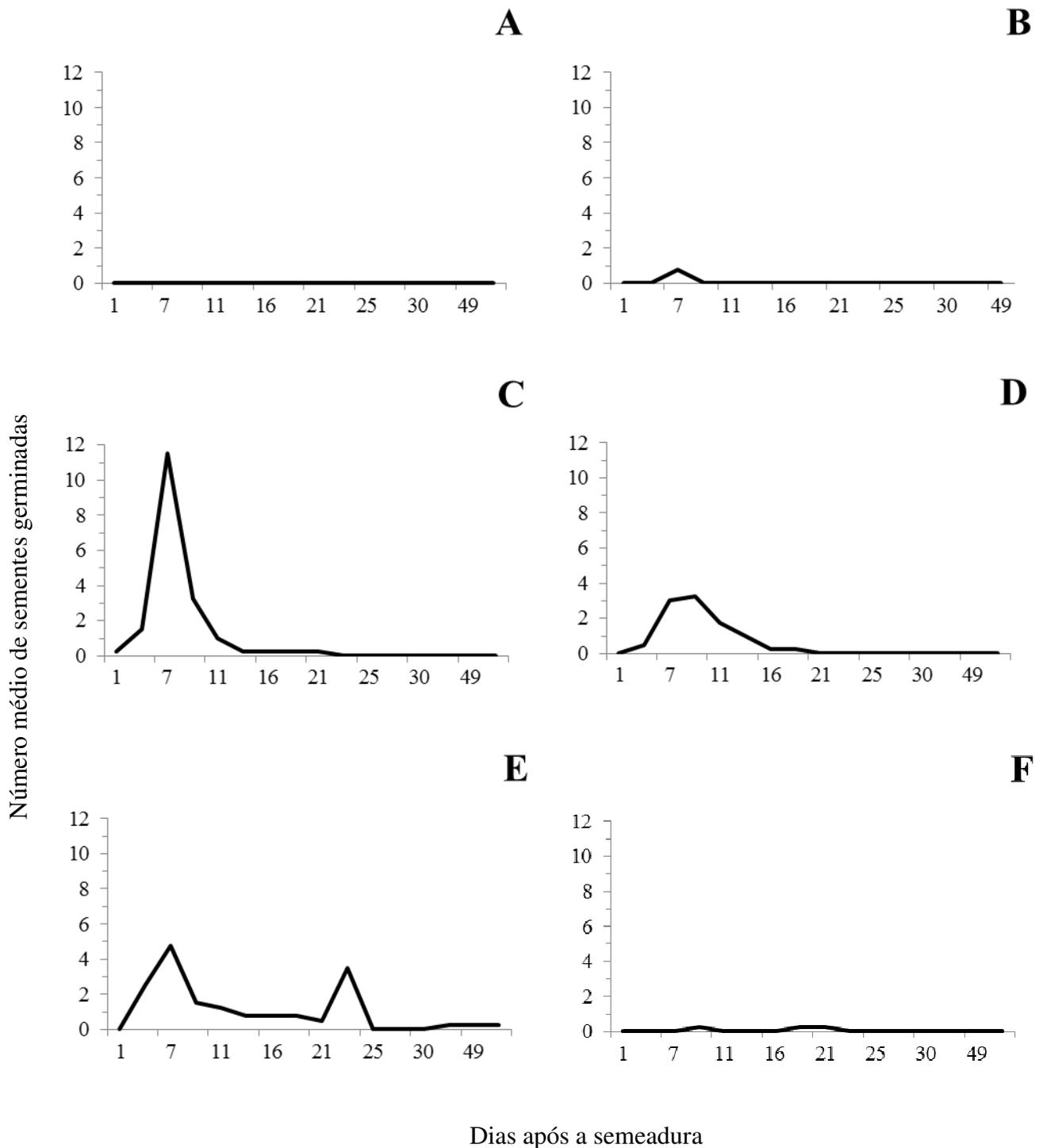


Figura 5. Distribuição temporal de frequência média da germinação dos estádios de maturação de sementes de *Erythrina speciosa*. Estádio 1 (A), estágio 2 (B) estágio 3 (C) estágio 4 (D) estágio 5 (E) e estágio 6 (F) Nota-se em no estágio 1 e 6 não há germinação. No estágio 1 é devido a imaturidade e no estágio 2 é pela instalação da dormência.

7a, b) como no hilo (Figura 7g, h) sem a presença de lignina, salvo pela barra de traqueídes. Como demonstrado anteriormente (Figura 3), no estágio 1 as sementes são menores que no estágio 2, mostrando que as divisões celulares ainda estão ocorrendo, o teor de água é elevado

e o conteúdo de matéria seca é menor. Nas análises anatômicas podemos corroborar essa informação, pois as células apresentam apenas parede primária, compostas por celulose (BUCHANAN *et al.*, 2000) e, portanto, coradas apenas de azul. Resultado semelhante foi encontrado em sementes de *Ipomoea lacunosa* L., ao final do processo de maturação as células do macrosclereide tem seu lumem reduzido até a morte dessas células (JAYASURIYA *et al.*, 2007)

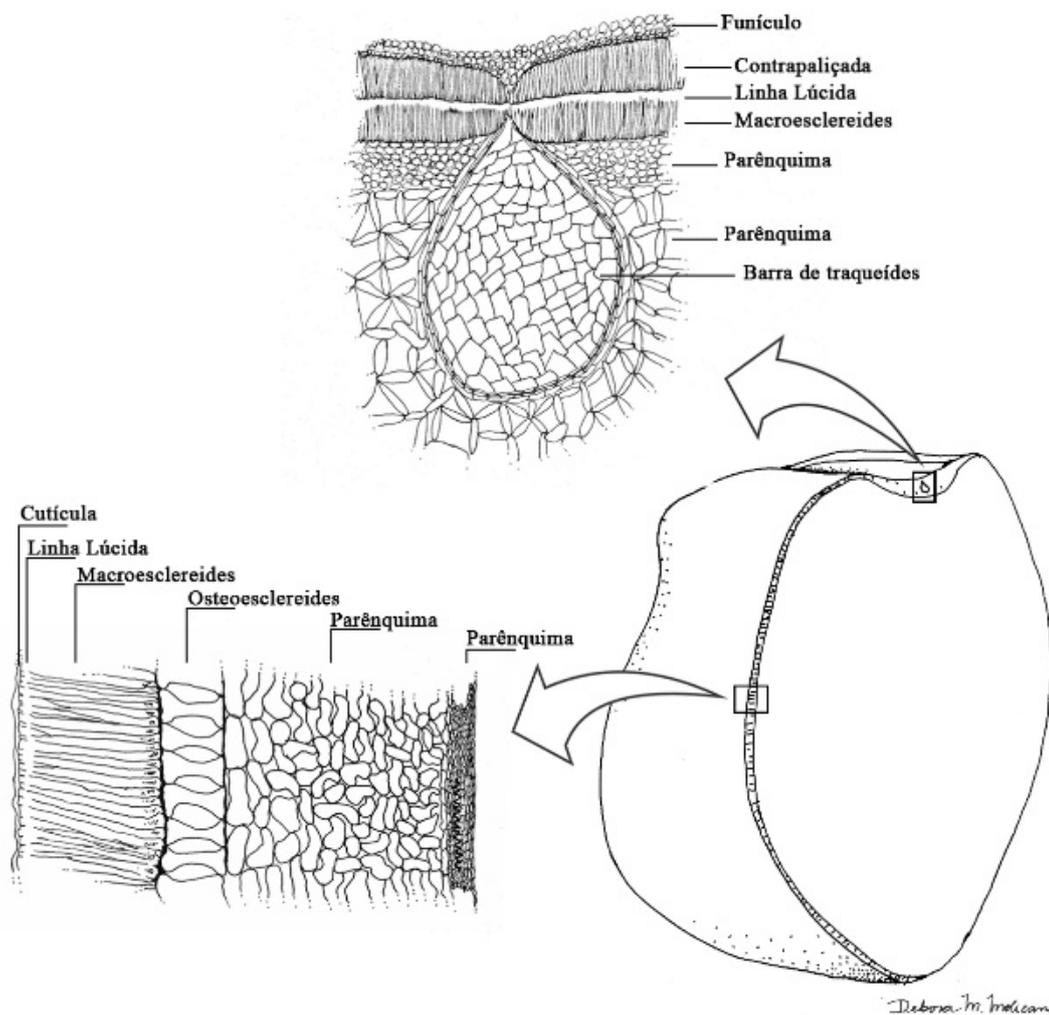


Figura 6. Visão do corte transversal da semente de *Erythrina speciosa* e em detalhe as camadas que formam o tegumento e hilo.

Nos estádios 3, 4 e 5 do tegumento (Figura 7c, d, e) e hilo (Figura 7i, j, k) é possível observar o início da deposição de lignina nas paredes celulares. Essa deposição está ligada com a formação da parede secundária, que só se inicia com o término da formação da parede primária, contribuindo, assim, para o aumento de matéria seca (BUCHANAN *et al.*, 2000). As células nesses estádios reduzem de tamanho e os espaços intercelulares entre os

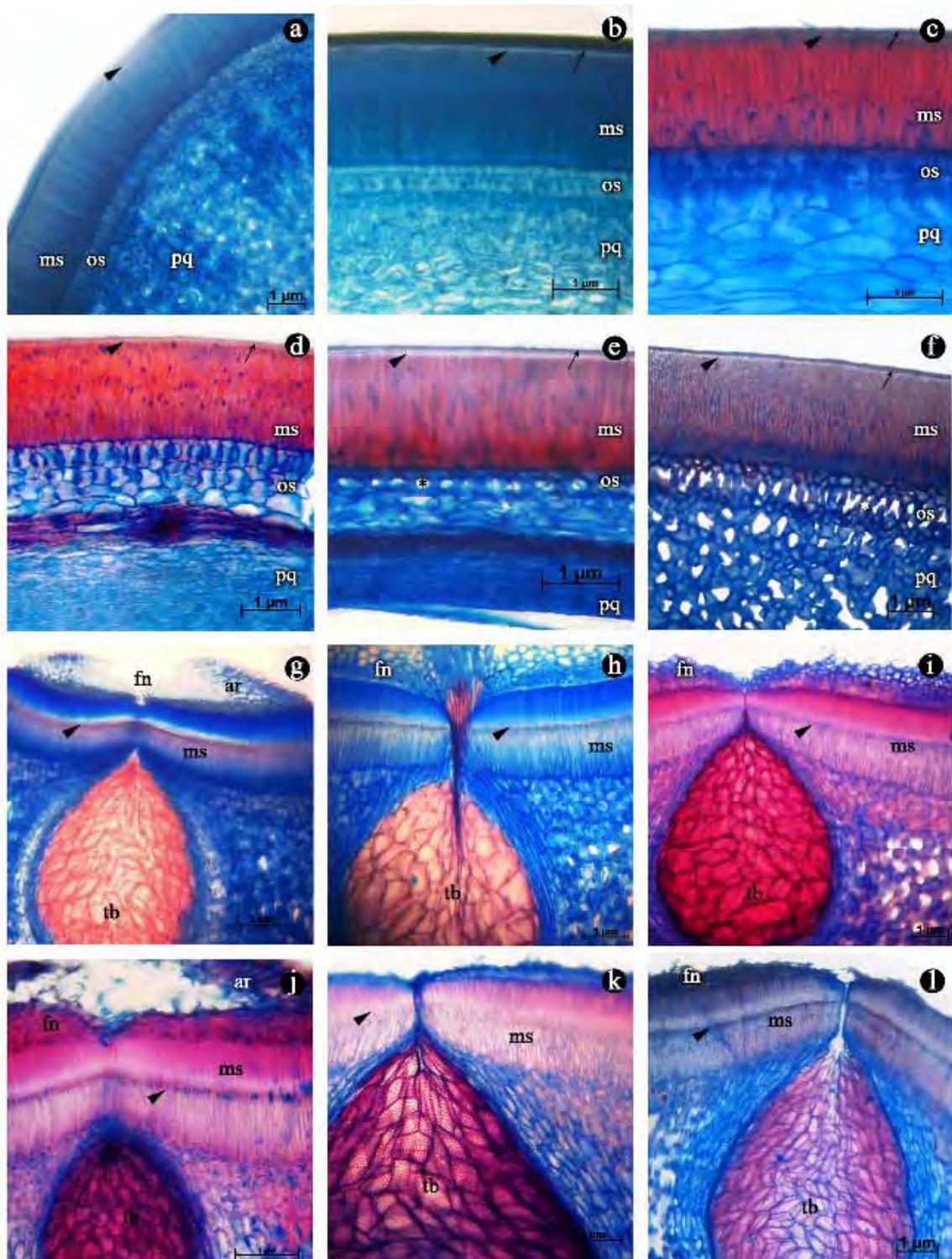


Figura 7. Alterações anatômicas nos estádios de maturação de *Erythrina speciosa* Andrews em cortes transversais. Tegumento: (a) estágio 1, (b) estágio 2, (c) estágio 3, (d) estágio 4, (e) estágio 5 e (f) estágio 6. Região hilar (g) estágio 1, (h) estágio 2, (i) estágio 3, (j) estágio 4, (k) estágio 5 e (l) estágio 6. (*ar* = arilo, *fn* = funículo, *ms* = macroesclereide, *os* = osteoesclereide, *pq* = parênquima, *tb* = barra de traqueídes, → = cutícula, ► = linha lúcida e \* = espaço intercelular).

osteoesclereides se tornam visíveis, seguindo a mesma proporção dos valores apresentados em relação ao teor de água. No estágio 6 os espaços intercelulares na região dos

osteoesclereides e do parênquima ficam ainda mais evidentes, evidenciando assim com a redução drástica nos valores de teor de água apresentado nos estudos fisiológicos fato que também pode ser observado em sementes de *Ipomoea lacunosa* L. (JAYASURIYA *et al.*, 2007).

A presença da linha lúcida é discreta, ocorre logo abaixo da cutícula, (PAMMEL, 1899) e pode ser observada em todos os estádios de maturação (Figura 7), seja no tegumento ou no hilo. A mesma posição da linha lúcida é encontrada em sementes da variedade dormente “Hard-Seeded” de *Glycine max* (L.) Merr (HARRIS, 1987). As observações em relação ao aumento no tempo médio de germinação ao longo da maturação e redução no IVG corroboram o fato de que os tecidos das sementes já estavam em preparação para o momento de aquisição de dormência, ocorrido no último estádio.

A barra de traqueídes é composta por células semelhantes aos traqueídes, com paredes lignificadas e quase sempre orientadas perpendicularmente ao eixo maior do hilo (LERSTEN, 1982), sendo diferenciada e rodeada por parênquima frouxo com células de composição fenólicas na região subhilar (OLIVEIRA; PAIVA, 2005). É considerada uma bomba higroscópica abaixo da epiderme impermeável da testa (HYDE, 1954), sendo responsável pela desidratação rápida da semente, conforme mostrado na Figura 5.

Diferente do descrito em vários estudos, a dormência em sementes de *E. speciosa* instala-se lenta e progressivamente. Anatomicamente é possível observar que a divisão celular cessou no estádio 3 de maturação, pois a parede secundária começou a ser formada; nos estádios 4 e 5, a água, abundante nos primeiros estádios, deu lugar à matéria seca. Do estádio 5 ao 6 ocorreu rápida secagem, tornando a camada de células de macroesclereides enrijecida e a linha lúcida, que aos poucos se torna impermeável, dificulta cada vez mais a entrada de água, até o momento da aquisição da dormência, sendo necessário então a utilização de métodos para sua superação. Comportamento como esse foi encontrado em sementes de *Ipomea lacunosa*, durante o processo de maturação as sementes tornam-se cada vez mais dormentes (JAYASURIYA *et al.*, 2007).

Esse entrave na germinação das sementes de *E. speciosa* permite que as sementes sejam armazenadas por longos períodos em geladeira ou até mesmo em temperatura ambiente (MELLO *et al.*, 2010). A região do hilo, responsável por receber água e matéria orgânica provenientes da planta-mãe e distribuir para toda a semente, nos estádios finais de maturação também se torna impermeável, contando com uma dupla camada de macroesclereides. Nessa mesma região, sementes de *E. speciosa* também apresentam a barra de traqueídes que trabalha

como uma bomba na retirada de água da semente. Durante esses estudos a lente não foi observada.

#### 4. Conclusões

- A impermeabilidade do tegumento à água, em sementes de *E. speciosa*, se instala lenta e progressivamente ao longo da maturação;
- no estágio de pré-dispersão, essas sementes apresentam completa impermeabilidade à água, com enrijecimento da camada de macroesclereides;
- essa impermeabilidade aparentemente está relacionada com a presença da linha lúcida abaixo da cutícula e entre as duas camadas de células paliçadas presentes no hilo.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsas de Mestrado, concedida a D.M. Molizane, e a Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela bolsa de Produtividade em Pesquisa, concedida a C.J. Barbedo e pelo apoio financeiro ao projeto (Processo 477640/2009-5, Edital Universal).

#### 5. Referências bibliográficas

- ALGAN, G.; BÜYÜKKARTAL, H. N. B. Ultrastructure of Seed Coat Development in the Natural Tetraploid *Trifolium pratense* L. **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 184, p. 205–213, 2000.
- ALVES, E. U.; BRUNO, R. D. L. A.; OLIVEIRA, A. P. D.; ALVES, ADRIANA URSULINO; ALVES, ANARLETE URSULINO. Ácido sulfúrico na superação da dormência de unidades de dispersão de Juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.). **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 187–195, 2006.
- ALVES, E. U.; SADER, R.; BRUNO, R. D. L. A.; ALVES, ADRIANA URSULINO. Maturação fisiológica de sementes de sabiá. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 01–08, 2005.
- ALVES, M. D. C. S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E. M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. - Caesalpinoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 139–144, 2000.
- AMARAL, L. I. V. D.; PEREIRA, M. D. F. D. A.; CORTELAZZO, Â. L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 7, n. 2, p. 151–157, 1995.
- AMARAL, L. I. V. DO; PEREIRA, M. D. F. D. A.; CORTELAZZO, Â. L. Germinação de sementes em desenvolvimento de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 3, p. 273–285, 2000.
- ANAND, A.; BHARDWAJ, J.; NAGARAJAN, S. Comparative evaluation of seed coat dormancy breaking treatments in *Stylosanthes seabrana*. **Grass and Forage Science**, v. 66, n. 2, p. 272–276, 2011.

- AQUINO, N. F.; BORTOLINI, M.; CAMPAGNOLO, M. A. *et al.* Dormência de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel.) Taubert colhida em diferentes estádios de desenvolvimento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 5, n. 2, p. 31–37, 2006.
- BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. D. L. C. Condicionamento osmótico e armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 354–360, 1997.
- BARBOSA, A. P.; SAMPAIO, P. D. . T. B.; CAMPOS, M. A. A. *et al.* Tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw., Bombacaceae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 107 – 110, 2004.
- BARBOSA, J. G.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. C. F. DOS S.; VIEIRA, A. N. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 71–77, 2005.
- BASKIN, CAROL C. Breaking physical dormancy in seeds – focussing on the lens. **New Phytologist**, v. 158, p. 227–238, 2003.
- BASKIN, CAROL C.; BASKIN, JERRY M. A Geographical Perspective on Germination Ecology : Temperate and Arctic Zones. **Seeds - Ecology, Biogeography, and evolution of dormancy and germination**. p.668, 1998. San Diego: Academic Press.
- BASKIN, JERRY M; BASKIN, CAROL C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, p. 1–16, 2004.
- BASKIN, JERRY M.; BASKIN, CAROL C.; LI, X. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. **Plant Species Biology**, v. 15, n. 2, p. 139–152, 2000.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, n. July, p. 1055–1066, 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2ª edição ed. London: Plenum Press, 1994.
- BLACK, M.; BRADFORD, K. J.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. **Seed Biology - Advances and Applications**. Illustrated ed. Wallingford: CABI Publishing, 1999.
- BORGES, I. F.; NETO, J. D. G.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. DE C. L.; BARBEDO, C. J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam . (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. November, p. 851–861, 2005.
- BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. L. C.; RODRIGUES, R. R.; MARCOS FILHO, J. Dormancy as exaptation to protect mimetic seeds against deterioration before dispersal. **Annals of botany**, v. 105, n. 6, p. 991–8, 2010.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento, 2009.
- BRUNEAU, A. Phylogenetic and Biogeographical Patterns in *Erythrina* (Leguminosae : Phaseoleae) as Inferred from Morphological and Chloroplast DNA Characters. **American Society of Plant Taxonomists**, v. 21, n. 4, p. 587–605, 1996.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000.

- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 55, 1972.
- CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: A. G. Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CARVALHO, N. M. DE; NAKAGAWA, J. **Semente: Ciência, Tecnologia e produção**. 5ª edição ed. Jaboticabal: Funep, 2012.
- CASTRO, R. D. D. Embebição e reativação do metabolismo. In: A. Gui Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CASTRO, R. D. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: A. G. Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado2**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CAVAZZA, A. Recherches sur l'imperméabilité des graines dures chez les légumineuses Giardinelli. **Bulletin de la Société Botanique Suisse**, v. 60, p. 596–610, 1950.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, p. 1–16, 1991.
- CORNER, E. J. H. The leguminous seed. **Phytomorphology**, v. 1, p. 117–150, 1951.
- CORVELLO, W. B. V.; VILLELA, F. A.; NEDEL, J. L.; PESKE, S. T. Maturação fisiológica de semente de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 23–27, 1999.
- DAWS, M. I.; LYDALL, E.; CHMIELARZ, P. *et al.* Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. **New Phytologist**, v. 162, n. 1, p. 157–166, 2004.
- FARIA, T. D. J.; CAFÊU, M. C.; AKIYOSHI, G. *et al.* Alcalóides de flores e folhas de *Erythrina speciosa* Andrews. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 525–527, 2007.
- FIGUEROA, R.; HERMS, D. A.; CARDINA, J.; DOOHAN, D. Maternal environment effects on Common Groundsel (*Senecio vulgaris*) seed dormancy. **Weed Science**, v. 58, n. 2, p. 160–166, 2010.
- GAMA-ARACHCHIGE, N. S.; BASKIN, J M; GENEVE, R L; BASKIN, C C. Acquisition of physical dormancy and ontogeny of the micropyle--water-gap complex in developing seeds of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). **Annals of botany**, v. 108, n. 1, p. 51–64, 2011.
- GEMAQUE, R. C. R.; DAVIDE, A. C.; MARCIO, J. M. R. F. Indicadores de maturidade fisiológica de sementes de Ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* ( Mart .) Standl .). **Cerne**, v. 8, n. 2, p. 084–091, 2002.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 10ª ed. Piracicaba: Nobel, Piracicaba, 1982.
- GROTH, D.; NELI, E. R.; ANDRADE, B. D. E. Caracterização morfológica de unidades de dispersão de cinco espécies ornamentais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 11–17, 2003.
- HACKER, J. B. Genetic variation in seed dormancy in *Digitaria milanjiana* in relation to rainfall at the collection site. **Journal of Applied Ecology**, v. 21, n. 3, p. 947–959, 1984.

HARRIS, W. M. Comparative ultrastructure of developing seed coats of “Hard-Seeded” and “Soft-Seeded” varieties of soybean, *Glycine max* (L.) Merr. **Botanical Gazette**, v. 148, n. 3, p. 324–331, 1987.

HAY, F. R.; SMITH, R. D. Seed Maturity. In: R.D. Smith; J. B. Dickie; S. H. Linington; Hugh W. Pritchard; R. J. Probert (Eds.); **Seed Conservation: Turning Science Into Practice**. p.1022, 2002. Kew Publishing.

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

HILHORST, H. W. M. Definitions and hypotheses of seed dormancy. In: K. J. Bradford; H. Nonogaki (Eds.); **Seed Development, Dormancy and Germination**. p.367, 2007. Oxford: Blackwell Publishing.

HU, X. W.; WANG, Y. R.; WU, Y. P.; BASKIN, CAROL C. Role of the lens in controlling water uptake in seeds of two Fabaceae (Papilionoideae) species treated with sulphuric acid and hot water. **Seed Science Research**, v. 19, n. 02, p. 73, 2009.

HYDE, E. O. C. The function of the hilum in some Papilionaceae in relation to the ripening of the seed and the permeability of the testa. **Annals of Botany**, v. 18, p. 241–256, 1954.

ISTA. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, 1985.

JAYASURIYA, K. M. . G. G.; BASKIN, JERRY M.; GENEVE, ROBERT L.; BASKIN, CAROL C. Seed development in *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae), with particular reference to anatomy of the water gap. **Annals of botany**, v. 100, n. 3, p. 459–70, 2007.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw- Hill Book, 1940.

JOLY, A. B. **Botânica: chaves de identificação das famílias de plantas vasculares que ocorrem no Brasil**. São Paulo: Edusp, 1970.

JORDAN, J. L.; JORDAN, L. S.; JORDAN, C. M. Some Effects of Sulphuric Acid Scarification on *Polygonum pensylvanicum* L Achenes. **Annals of Botany**, v. 51, p. 855–858, 1983.

KAUFMANN, M. R.; HALL, A. E. Plant water balance - it's relationship tp atmospheric. **Agricultural Meteorology**, v. 14, p. 85–98, 1974.

KELLY, K. M.; STADEN, J.; BELL, W. E. Seed coat structure and dormancy. **Plant Growth Regulation**, v. 11, n. 3, p. 201–209, 1992.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B. DE; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. DE. **Química da madeira**. 3<sup>a</sup> ed. Curitiba: Universidade Federal Do Paraná - Setor De Ciências Agrárias Departamento De Engenharia E Tecnologia Florestal, 2005.

KOSZO, C. R. R.; RINALDI, M. C. S.; BARBEDO, C. J. Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr., *Eugenia brasiliensis* Lam. e *Cucumis sativus* L. em meio ácido. **Hoehnea**, v. 34, n. 3, p. 271–282, 2007.

KRETZSCHMAR, F.; HELL, A.F.; CENTENO, D.C.; BARBEDO, C.J.; BRAGA, M.R. Maturation of seeds of *Erythrina speciosa*. *Tree Physiology*, 2012. A ser submetido.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OAE, 1983.

LENIHAN, P.; OROZCO, A.; O'NEILL, E. *et al.* Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 2, p. 395–403, 2010.

LERSTEN, N. R. Tracheid Bar and Vestured Pits in Legume Seeds (Leguminosae: Papilionoideae). **American Journal of Botany**, v. 69, n. 1, p. 98, 1982.

LERSTEN, N. R.; GUNN, C. R.; BRUBAKER, C. L. Comparative Morphology of the Lens on Legume (Fabaceae) Seeds, with Subfamilies Caesalpinioideae and Mimosoideae. **Agricultural Research Service - Technical Bulletin**, v. 1971, p. 1–49, 1992.

LI, X.; BASKIN, JERRY M.; BASKIN, CAROL C. Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two north american *Rhus* species (Anacardiaceae). **American Journal of Botany**, v. 86, n. 11, p. 1505–1511, 1999.

LODI, I. E. **Álcool combustível (Série Indústria em Perspectiva)**. Brasília: IEL/NC, 2008.

LOLLATO, G.; SCARMINIO, I. S.; MOREIRA, E. G. Behavioral effects of aqueous and dichloromethane extracts of *Erythrina speciosa* Andrews, Fabaceae, leaves in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 939–944, 2010.

LOPES, J. C.; DIAS, P. C.; PEREIRA, M. D. Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 811–816, 2005.

LUSH, W. M.; EVANS, L. T. The seed coats of cowpeas and other grain legumes: structure in relation to function. **Field Crop Research**, v. 3, p. 267–286, 1980.

MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C. A.; GIJZEN, M. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. **Annals of botany**, v. 94, n. 2, p. 213–28, 2004.

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

MANZONI, S.; VICO, G.; PORPORATO, A.; KATUL, G. Biological constraints on water transport in the soil–plant–atmosphere system. **Advances in Water Resources**, 2012.

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

MARTINS, S. V.; SILVA, D. D. DA. Maturação e época de colheita de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr.All.ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 96–99, 1997.

MEDINA, C. L.; SANCHES, M. C.; TUCCI, M. L. S. *et al.* *Erythrina speciosa* (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. **Annals of botany**, v. 104, n. 4, p. 671–80, 2009.

MELLO, J. I. DE O.; BARBEDO, C. J.; SALATINO, A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. DE C. L. Reserve Carbohydrates and Lipids from the Seeds of Four Tropical Tree Species with Different Sensitivity to Desiccation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 889–899, 2010.

MELLO, J. I. DE O.; BRABEDO, C. J.; BARBEDO, C. J. Temperatura, luz e substrato para germinação de sementes de Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, p. 645–655, 2007.

- MILLER, S. S.; BOWMAN, L. A.; GIJZEN, M.; MIKI, B. L. A. Early Development of the Seed Coat of Soybean (*Glycine max*). **Annals of botany**, v. 84, p. 297–304, 1999.
- MORRISON, D. A.; MCCLAY, K.; PORTER, C.; RISH, S. The Role of the Lens in Controlling Heat-induced Breakdown of Testa-imposed Dormancy in Native Australian Legumes. **Annals of Botany**, v. 82, p. 35–40, 1998.
- NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, CLAUDIO; ZUCARELI, C. Maturação, formas de secagem e qualidade fisiológica de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 45–53, 2005.
- NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, CLÁUDIO; MARTINS, C. C.; OLIVEIRA, R. R. D. Intensidade de dormência durante a maturação de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 165–170, 2007.
- NAKAGAWA, J.; MORI, E. S.; PINTO, C. D. S. *et al.* Maturação e secagem de sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (Canafístula). **Revista Árvore**, v. 34, n. 1, p. 49–56, 2010.
- NIMER, R.; MOREIRA, N.; NILTON, D. E. C.; PERECIN, D. Influência de alguns fatores da planta sobre o grau de dormência em sementes de Mucuna preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 05, n. 2, p. 111–119, 1983.
- OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química nova**, v. 33, n. 7, p. 1549–1558, 2010.
- OHTO, M.; STONE, S. L.; HARADA, J. J. Genetic control of seed development and seed mass. In: M. Black; Hugh W. Pritchard (Eds.); **Seed development, dormancy and germination**. p.412, 2002. CABI Publishing.
- OLIVEIRA, D. M. T.; PAIVA, E. A. S. Anatomy and ontogeny of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae: Faboideae) seed. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 65, n. 3, p. 483–94, 2005.
- OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas : espécies de Phaseoleae , Sophoreae , Swartzieae e Tephrosieae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 1, p. 85–97, 2001.
- PAIVA, ELDER ANTÔNIO SOUSA. Ultrastructure and post-floral secretion of the pericarpial nectaries of *Erythrina speciosa* (Fabaceae). **Annals of botany**, v. 104, n. 5, p. 937–44, 2009.
- PAMMEL, L. H. **Anatomical characters of. The seeds of leguminosae, chiefly genera of gray's manual.**, 1899. St. Louis: St. Louis.
- PARSONS, A. F.; PALFRAMAN, M. J. **Erythrina and Related Alkaloids**. Elsevier Inc., 2010.
- PEREZ, S. C. J. G. D. A. Envoltórios. In: A. Gui Ferreira,; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- PESSINI, G. L. .; HOLETZ, F. B. .; SANCHES, N. R. . *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. supl., p. 21–24, 2003.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; AGUIAR, I. B. D. Maturação e Dispersão de Sementes. In: I. B. D. Aguiar (Ed.); **Sementes Florestais Tropicais**. p.350, 1993. Brasília: Abrates.

POPIGINIS, F. **Fisiologia da Semente**. Brasília: Sília, 1985.

RAMSAY, G. Inheritance and linkage of a gene for testa-imposed seed dormancy in faba bean (*Vicia faba* L.). **Plant Breeding**, v. 289, p. 287–290, 1997.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; SUSAN E. EICHHORN. **Biologia Vegetal**. 5ª edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

RODRIGUES, A. P. D'Á. C.; OLIVEIRA, A. K. M. DE; LAURA, V. A.; CHERMOUTH, K. DA S.; FREITAS, M. H. DE. Tratamentos para superação da dormência de sementes de *Adenanthera pavoniva* L. **Revista Árvore**, v. 33, n. 4, p. 617–623, 2009.

ROLSTON, M. P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 44, n. 3, p. 365–396, 1978.

SALDIVAR, X.; WANG, Y.-J.; CHEN, P.; HOU, A. Changes in chemical composition during soybean seed development. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1369–1375, 2011. Elsevier Ltd.

SAMARAH, N. H.; ALLATAIFEH, N.; TURK, M. A.; TAWAHA, A. M. Seed germination and dormancy of fresh and air-dried seeds of common vetch (*Vicia sativa* L.) harvested at different stages of maturity. **System**, p. 11–19, 2004.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Edição Especial, p. 70–84, 2000.

SANTOS, R. F. DOS; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287–294, 1998.

SANTOS, T. O. DOS; MORAIS, T. G. D. O.; MATOS, V. P. Escarificação mecânica em sementes de Chichá (*Sterculia foetida* L.). **Revista Árvore**, v. 28, n. 1, p. 1–6, 2004.

SERRATO-VALENTI, G.; VRIES, M. DE; CORNARA, L. The hilar region on *Leucaena leucocephala* Lam. (De wit) seed: Structure, Histochemistry and the role of the lens ins germination. **Annals of Botany**, v. 75, p. 569–574, 1995.

SILVA, P. E. M.; SANTIAGO, E. F.; DALOSO, D. DE M.; SILVA, E. M. DA; SILVA, J. O. Quebra de dormência em sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Volumen**, v. 29, n. 2, p. 39–45, 2011.

SOUZA, F. H. D. DE; MARCOS FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 365–375, 2001.

SOUZA, S. M. DE; LIMA, P. C. F. Maturação de sementes de Angico (*Anadenanthera macorcarpa* (Benth) Brenan). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 7, n. 2, p. 93–100, 1985.

SOUZA, T. V. D.; VOLTOLINI, C. H.; SANTOS, M.; TEREZINHA, M.; PAULILO, S. Water absorption and dormancy breaking requirements of physically dormant seeds of *Schizolobium parahyba* (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Seed Science Research**, v. 22, n. 3, p. 169–176, 2012.

SZIRMAI, Á. **Anxiety and Related Disorders**. Rijeka: InTech, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998.

TAIZ, LINCON; ZEIGER, EDUARDO. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

VENIER, P.; FUNES, G.; CARRIZO GARCÍA, C. Physical dormancy and histological features of seeds of five *Acacia* species (Fabaceae) from xerophytic forests in central Argentina. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 1, p. 39–46, 2012. Elsevier GmbH.

VITALI-VEIGA, M. J.; MACHADO, V. L. L. Visitantes florais de *Erythrina speciosa* Andr. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, n. 2, p. 369–383, 2000.

ZHANG, J.; ZHANG, X. Can early wilting of old leaves account for much of the ABA accumulation in flooded pea plants? **Journal of Experimental Botany**, v. 45, p. 1335–1342, 1994.

## 6. Capítulo 2

### **DANOS CAUSADOS AO TEGUMENTO DURANTE A ESCARIFICAÇÃO ÁCIDA EM SEMENTES DE *Erythrina speciosa* Andrews**

Debora Manzano Molizane\*, Pricila Greyse dos Santos Júlio\*, Claudio José Barbedo\*\*

\*Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Rubião Júnior.

\*Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Rubião Júnior.  
Instituto de Botânica, Av. Miguel Stéfano 3687, São Paulo, SP.

**RESUMO** - A dormência é um dos fenômenos menos compreendidos da biologia das sementes. O tegumento impermeável à água e a gases é o principal modulador na interação entre os tecidos internos da semente e o meio ambiente e é classificado como dormência exógena-física. As sementes com esse tipo de entrave não iniciam o processo de germinação sem algum tipo de facilitador para a entrada de água. Nesta pesquisa, sementes de *Erythrina speciosa* Andrews, coletadas em dois anos consecutivos, foram analisadas física, fisiológica, anatômica e ultraestruturalmente após imersão em ácido sulfúrico concentrado por períodos que variaram de 30 segundos a 60 minutos. Os resultados demonstraram comportamentos diferentes entre os lotes dos dois anos de coleta. No lote de 2010, valores próximos a 100% foram obtidos após 15 minutos de imersão das sementes, enquanto que no de 2011 foram necessários 40 minutos. Diferenças também foram verificadas nessa sensibilidade ao ácido entre sementes dentro do mesmo lote. As análises ultraestruturais e anatômicas permitiram identificar diferenças na cutícula entre sementes dos dois anos de coleta. A lente também apresentou alteções após escarificação entre os dois lotes, contribuindo para as diferenças na impermeabilidade do tegumento nos dois anos de coleta. Concluiu-se que há diferentes graus de dormência nas sementes provenientes do mesmo local, mas em anos diferentes e até mesmo dentro do mesmo lote.

**Palavras-chave:** *Erythrina speciosa*, dormência física, ácido sulfúrico, tegumento, hilo, lente.

**ABSTRACT** - The numbness is one of the least understood phenomenon of biology seeds. The coats are impermeable to water and gases is the main modulating the interaction between the internal tissues of the seed and the environment and is classified as a dormancy-physical. Seeds with this type of obstacle not start the germination process without some kind of facilitator for the water inlet. In this study, seeds of *Erythrina speciosa* Andrews, collected in two consecutive years were analyzed physical, physiological, anatomical and ultrastructure after immersion in concentrated sulfuric acid for periods ranging from 30 seconds to 60 minutes. The results showed different behavior between batches of both years. In batch of 2010, values close to 100% were obtained after 15 minutes of immersion of seeds, while in 2011 took 40 minutes. Differences were also sensitive to acid verificaddas that between seeds within the same batch. And ultrastructural analyzes have identified anatomical differences in the cuticle between the two years of seed collection. The lens also showed alteções after scarification between the two lots, contributing to the differences in the impermeability of the integument in both years. It is concluded that different degrees of dormancy in seeds from the same location but in different years and even within the same batch.

**Palavras-chave:** *Erythrina speciosa*, sulphuric acid, dormancy, phusical dormancy seed coat, hilum, lens.

## 1. Introdução

A dormência é um dos fenômenos menos compreendidos da biologia das sementes. O tegumento impermeável à água e gases é o principal modulador na interação entre os tecidos internos da semente e o meio ambiente e é classificado como dormência exógena-física (HILHORST, 2007), sendo muito comum em espécies da família Fabaceae (PEREZ, 2004). Duas características marcantes na identificação nesse caso de dormência são a camada paliçada simples ou dupla de macroesclereides e a linha lúcida (PAMMEL, 1899; ROLSTON, 1978).

As sementes com esse tipo de entrave não iniciam o processo de germinação sem algum tipo de facilitador para a entrada de água, então nesse caso utiliza-se duas formas para superação da dormência, a escarificação mecânica, com o atrito das sementes em superfície abrasiva e a escarificação química, geralmente com utilização de ácido sulfúrico (CARDOSO, 2004).

Vários fatores ambientais podem influenciar o grau de dormência, os mais estudados são a duração do dia, temperatura, pluviosidade e qualidade da luz (FIGUEROA *et al.*, 2010). Observou-se que sementes que não sofreram deficiência hídrica tendem a serem menos dormentes do que as sementes que não passaram por essa deficiência (CARDOSO, 2004; HILHORST, 2007). Esta relação entre o clima e a dormência tem sido relatada em uma vasta gama de espécies ortodoxas (DAWS *et al.*, 2004).

Pouco se sabe a respeito dos efeitos deletérios da ação desse ácido no tegumento da semente, mas duas hipóteses foram levantadas por JORDAN *et al.*, (1983), a primeira está relacionada à digestão discreta das camadas do tegumento, e a segunda promovendo furos na parede do tegumento, permitindo a passagem de água ou de oxigênio.

*Erythrina speciosa* Andrews é uma espécie característica e bastante comum da Mata Atlântica, popularmente conhecida como eritrina-candelabro, maçaranduba, mulungu, saranduba ou suinã. Pertence à família Fabaceae tribo Papilionidae. É uma espécie arbórea caducifólia, com 3-5 metros de altura muito característica da Mata Atlântica, em solos úmidos e áreas ensolaradas. Sua floração ocorre nos meses mais frios do ano. Suas sementes apresentam tegumento impermeável à absorção de água (JOLY, 1970; KOSZO *et al.*, 2007).

O objetivo deste estudo é verificar o processo de deterioração do tegumento impermeável à água em sementes de *E. speciosa* submetidas à escarificação ácida analisadas através de avaliações físicas, fisiológicas, histológicas e ultraestruturais.

## 2. Material e métodos

### *Obtenção do material vegetal*

Os frutos maduros de *Erythrina speciosa* Andrews foram coletados de 30 matrizes do Parque Cultural Catavento, em área urbana do município de São Paulo, SP (23°32'44"S e 46°37'40"O), de agosto a outubro de 2011. A extração das sementes foi realizada por meio de quebra dos frutos e retirada manual das sementes. Após o beneficiamento as sementes foram acondicionadas em sacos de papel, em temperatura ambiente ( $20\pm 2^\circ\text{C}$ ), até a instalação dos experimentos.

### *Estudos físicos e fisiológicos para quebra de dormência*

O teor de água e o conteúdo de massa seca foram avaliados pelo método gravimétrico, em estufa a  $103^\circ\text{C}$  por 17 horas (ISTA, 1985), sendo os resultados apresentados, respectivamente, em porcentagem (base úmida) e em mg/semente (BRASIL, 2009).

Os testes para superação da dormência foram realizados com imersão das sementes em ácido sulfúrico concentrado por 30 segundos, 1, 3, 5, 10, 15, 40 e 60 minutos. Os testes contam ainda com a testemunha que não recebeu nenhum tratamento e a escarificação mecânica em lixa para madeira número 60 para verificar a viabilidade do lote.

Testes de germinação foram instalados em rolos de papel, previamente umedecidos e sem excesso visível de água (BRASIL, 2009), acondicionados em sala de germinação regulada para  $25^\circ\text{C}$  com umidade relativa de 70%. As avaliações de germinação foram realizadas a cada 2 dias durante 30 dias, sendo registradas as sementes que emitiram raiz primária (para o cálculo da porcentagem de germinação) e as que apresentarem capacidade de produção de plântulas normais (para o cálculo da porcentagem de sementes com capacidade de produzir plântulas normais, doravante denominada porcentagem de desenvolvimento). Foi calculado, também, o tempo médio de germinação e o índice de velocidade de germinação (IVG), utilizando-se fórmula empregada por Maguire (1962).

### *Análises histológicas*

Cada um dos tratamentos com ácido sulfúrico acima citado conta ainda com análises anatômicas com a fixação do material formaldeído, álcool etílico a 70% e ácido acético (FAA70) (JOHANSEN, 1940) e armazenados em etanol 70%. Os cortes das sementes foram realizados em micrótomo de deslize marca Reichert. O material já cortado de cada amostra foi hidratado, passando por álcool 60, 30 e 10% e então foram lavados em água destilada por três vezes. Após a descoloração, realizada com hipoclorito 20% por 20 minutos, as amostras

foram lavadas em água destilada, neutralizadas em água acética 1% por 3 minutos e lavadas em água destilada novamente. As amostras foram coloridas com corante safrablau por 3 minutos e lavadas em água destilada até a retirada do excesso do corante. Lâminas foram montadas em gelatina glicerinada lutadas com esmalte incolor.

O material foi analisados em microscópio Zeiss Axioskop e fotografados com câmera Canon A480.

#### *Análises ultraestruturais*

Para o estudo da ação do ácido sulfúrico no tegumento da semente, amostras foram fixadas em FAA 70 e armazenadas em álcool 70% e passadas por ponto crítico no equipamento Ponto Crítico Balzers Union. O tegumento das sementes depois foram então aderidas ao porta amostra por meio de uma fita adesiva condutiva, e metalizadas com ouro ionizado, no metalizador Bal-tec SCD 050. Após a metalização, as amostras serão levadas para o microscópio eletrônico de varredura SEM 515 da Philips para observação.

#### *Obtenção da curva de hidratação das sementes*

A curva de hidratação foi realizada com 20 sementes em cada tratamento, e cada uma é uma repetição, Após a escarificação química de 15 e 40 minutos de imersão em ácido sulfúrico, as sementes foram colocadas para embeber a 25 °C, em folha dupla de papel germitest previamente umedecido com água pura 2,5 vezes o peso do papel seco (BRASIL, 2009), juntamente com a testemunha que não recebeu nenhum tipo de escarificação. Cada repetição foi pesada nos seguintes períodos, 24, 48 e 72 horas. Para obter o teor de água inicial, 4 repetições com 5 sementes cada foram avaliadas pelo método gravimétrico, em estufa a 103 °C por 17 horas (ISTA, 1985), sendo os resultados apresentados em base úmida ((BRASIL, 2009).

#### *Delineamento experimental e análises estatísticas*

O delineamento experimental para todos os experimentos foi inteiramente casualizado, com 4 repetições. Os valores foram submetidos à análise de variância (teste F), ao nível de 5% de probabilidade. Para a obtenção da curva de embebição das sementes, aos valores obtidos procurou-se ajustar regressões polinomiais até terceiro grau. Nos demais experimentos, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, também ao nível de 5% (GOMES, 1982).

### 3. Resultados e discussão

Nos dois anos estudados a antese de *E. speciosa* ocorreu de julho a agosto e a coleta ocorreu em outubro, sem diferenças no período necessário para a maturação. Contudo, diferenças nas porcentagens de germinação foram significativas para as sementes não escarificadas (Figura 8a). Assim, no ano de 2010, a testemunha germinou 40% e, em 2011, apenas 5%. No tratamento com escarificação mecânica, os dois lotes apresentaram altas porcentagens de germinação, em torno de 95% em 2010 e 100% em 2011, mostrando que as sementes estavam vigorosas durante as análises de germinação. Portanto, as diferenças na germinação da testemunha nos dois anos analisados estão relacionadas com a dormência.

O estudo da superação da dormência nas sementes de *E. speciosa* (Figura 8a) mostrou que a porcentagem de germinação aumentou de acordo com o aumento no período de imersão das sementes em ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ). Nas sementes coletadas em 2010, valores próximos a 100% foram obtidos no tratamento de imersão por 15 minutos; já em 2011, esse mesmo valor foi obtido no tratamento de 40 minutos. Aumento semelhante na porcentagem de germinação relacionada com maior período de imersão também foi observado em sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. (SILVA, *et al.*, 2011).

Durante as avaliações das plântulas normais (Figura 8b) foi observado que alguns indivíduos foram atacados por fungos, provocando o seu tombamento. Nos testes com escarificação mecânica, a produção de plântulas normais também foi afetada pelo aparecimento desses fungos: em 2010 a produção de plântulas normais foi de 7,5% e em 2011 foi de 73,3%. Isso mostra que o lote de 2010 foi mais sensível à ação do fungo, seja no tratamento com ácido sulfúrico ou na escarificação mecânica. Nos tratamentos de 40 e 60 minutos de imersão, as porcentagens de plântulas normais aumentaram, o que sugere que o ácido auxiliou no controle desse patógeno.

Os valores de tempo médio de germinação (Figura 8c), também demonstraram os comportamentos diferenciados entre as sementes dos dois anos de coleta. Nota-se que na testemunha, no ano de 2010, o tempo médio para a protrusão da raiz primária foi maior do que em 2011. Mesmo com um grau de dormência menor, as sementes demoraram mais para embeber e dar início à germinação.

Diferenças dentro do mesmo lote em relação à dormência puderam ser observadas pela curva de embebição (Figura 9). Em ambos os lotes as sementes sem tratamento não absorveram água durante as primeiras 72 horas em que foram realizados os testes (Figura 9 a, b). As sementes do lote de 2010, no tratamento de imersão em ácido por 15 minutos (Figura 9b), apresentaram mais sementes que embeberam que o mesmo tratamento no lote de 2011

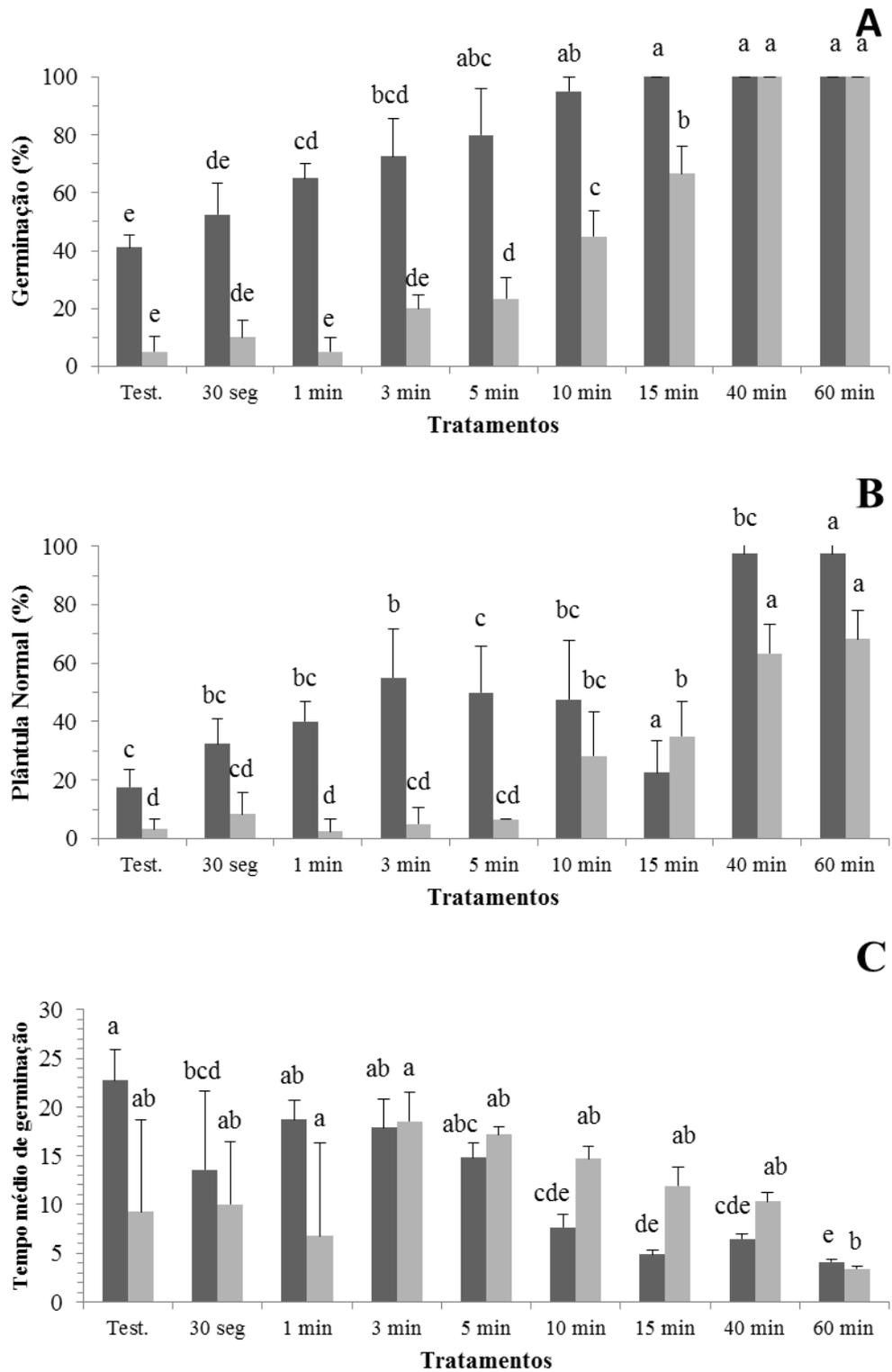


Figura 8. Respostas fisiológicas nos tratamentos de superação de dormência em sementes de *Erythrina speciosa* Andrews. As barras de cor cinza escuro referem-se ao lote de 2010 e as barras de cor cinza claro ao lote de 2011. As médias de cada tratamento foram comparadas entre si dentro de cada lote pelo teste de Tukey a 5%, onde letras diferentes tem diferença significativa. (A) Valores de porcentagem de germinação (B) Plântulas normais, (C) Tempo médio de germinação.

(Figura 9e). No tratamento de 40 minutos (Figura 9c, f) de imersão observou-se comportamento semelhante à absorção de água no lote de 2010, o que não ocorreu com o lote

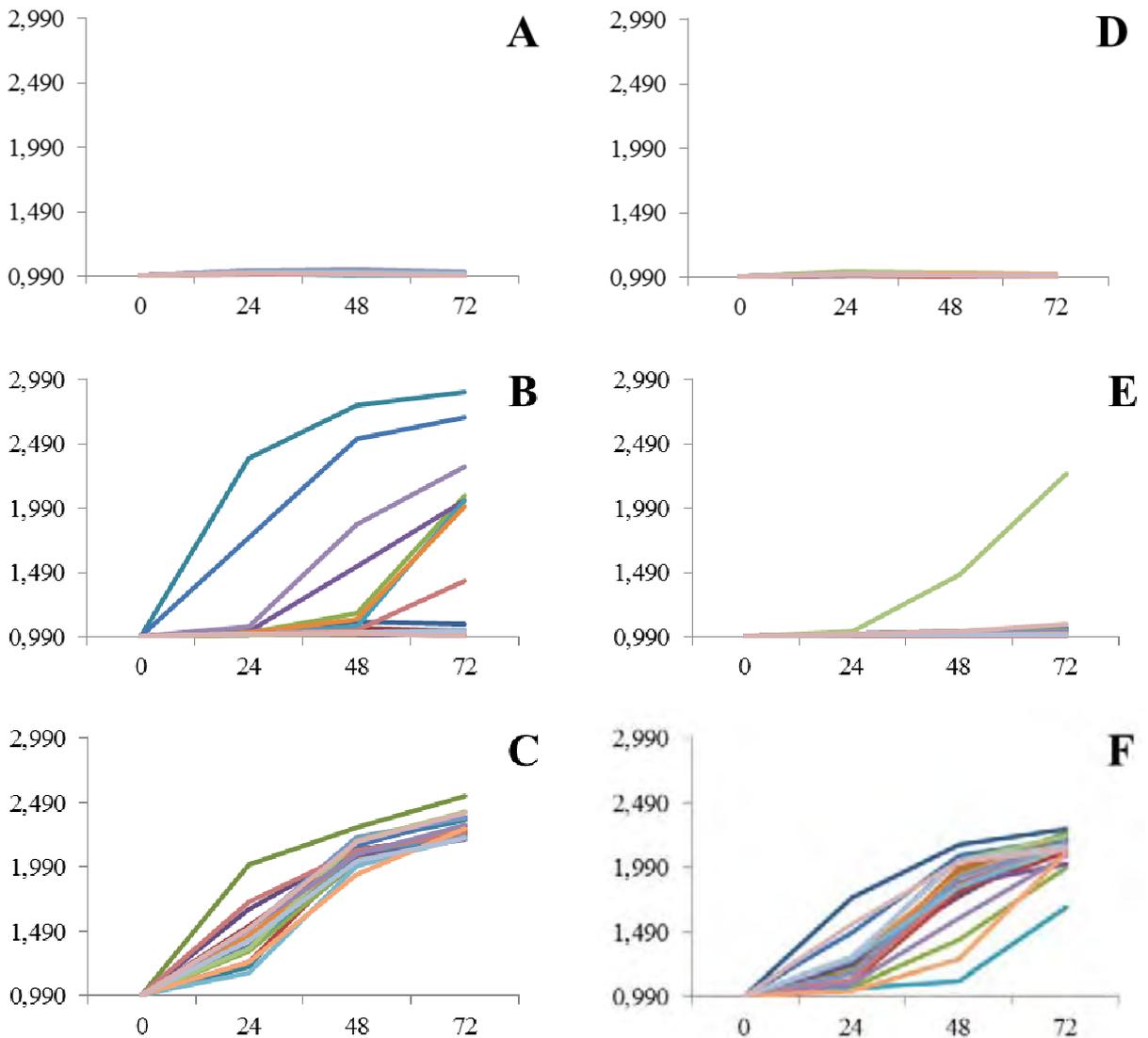


Figura 9. Ganho de peso em sementes de *Erythrina speciosa* Andrews durante a embebição nos dois anos coletados. (A) Testemunha, (B) imersão em ácido sulfúrico concentrado por 15 minutos e (C) imersão em ácido sulfúrico concentrado por 40 minutos no lote de 2010. (D) Testemunha, (E) imersão em ácido sulfúrico concentrado por 15 minutos e (F) imersão em ácido sulfúrico concentrado por 40 minutos no lote de 2011. Cada linha indica uma semente.

de 2011, apesar de todas as sementes terem superado a dormência. Esses dados mostram diferença no grau de dormência dentro do mesmo lote, como já observado em outros trabalhos, e pode estar relacionado com a posição da semente no fruto, a posição do fruto em relação à planta-mãe, entre outros fatores (NIMER *et al.*, 1983; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Nota-se, contudo, que independentemente do tratamento, as sementes que absorveram água entraram na fase II após 48 horas do início do teste.

O teor de água nas sementes coletadas em 2010 foi de 11,8% e a massa seca foi de 0,27g/semente; já em 2011, o teor de água foi de 9,0% e a massa seca foi de 0,33g/semente.

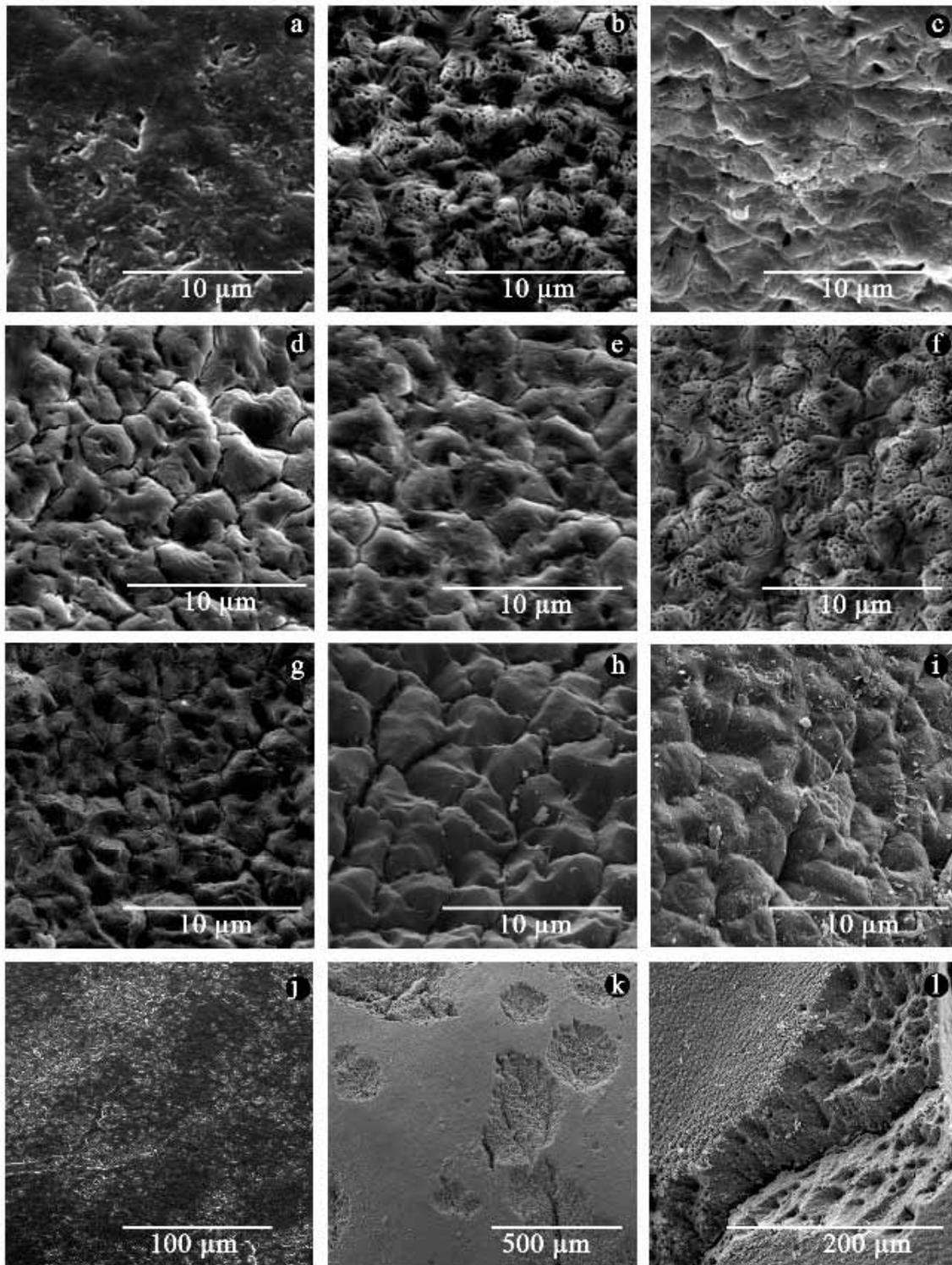


Figura 10. Análises ultraestruturais do tegumento de sementes de *Erythrina speciosa* Andrews coletadas em 2010, em tratamentos de imersão em ácido sulfúrico. Detalhe do tegumento: (a) testemunha, (b) 30 segundos, (c) 1 minuto, (d) 3 minutos, (e) 5 minutos, (f) 10 minutos, (g) 15 minutos, (h) 40 minutos, (i) 60 minutos. Visão geral: (j) testemunha, (k) 40 minutos, (l) 60 minutos.

Diferenças em relação ao conteúdo de água e massa seca também puderam ser observadas em *Caesalpinia echinata* Lam durante estudo de maturação realizado em dois anos consecutivos (BORGES *et al.*, 2005).

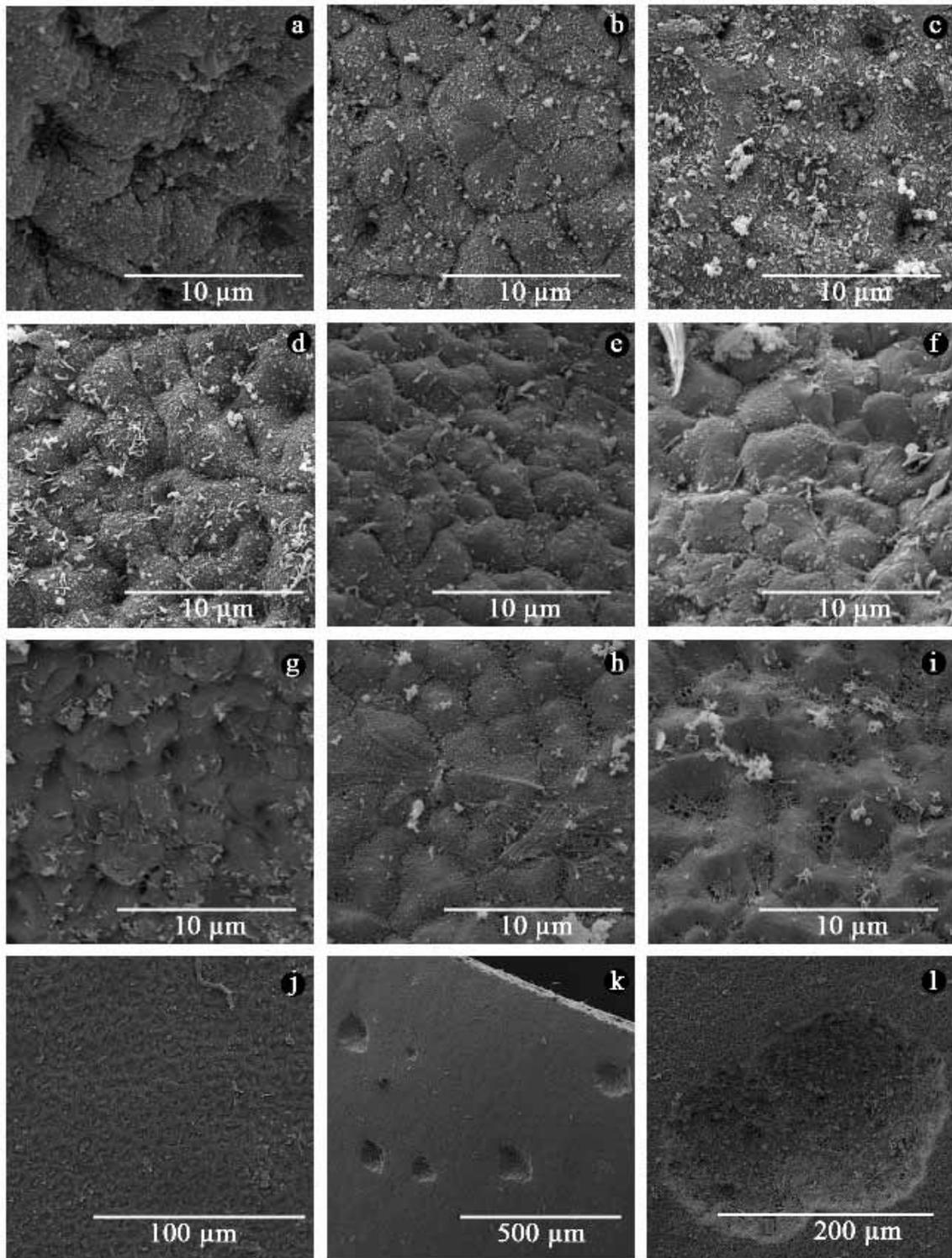


Figura 11. Análises ultraestruturais do tegumento de sementes de *Erythrina speciosa* Andrews coletadas em 2011 em tratamentos de imersão em ácido sulfúrico. Detalhe do tegumento: (a) testemunha, (b) 30 segundos, (c) 1 minuto, (d) 3 minutos, (e) 5 minutos, (f) 10 minutos, (g) 15 minutos, (h) 40 minutos, (i) 60 minutos. Visão geral: (j) testemunha, (k) 40 minutos, (l) 60 minutos.

O ácido sulfúrico pode danificar embriões em algumas sementes, penetrando através de rachaduras no tegumento durante o tratamento (JORDAN *et al.*, 1983). Porém em estudos bioquímicos com *E. speciosa* demonstraram que não há penetração do ácido em regiões

internas das sementes (KOSZO *et al.*, 2007). Em estudos com sementes de *Stylosanthes seabrana* B. L. Maass and Mannetje, que possuem impermeabilidade do tegumento a água, percebeu-se que a amostra sem nenhum tipo de tratamento apresenta rugosidades e bolhas. Após o tratamento com ácido sulfúrico concentrado por 5 minutos as rugosidades não estão presente a há pouca percepção das bolhas, não apresentando nenhum tipo de rachadura ou furos (ANAND *et al.*, 2011). O mesmo aconteceu com *Rhus glabra* Ait., com a corrosão de braquiesclereides após a imersão em ácido sulfúrico concentrado por 1 hora (LI *et al.*, 1999).

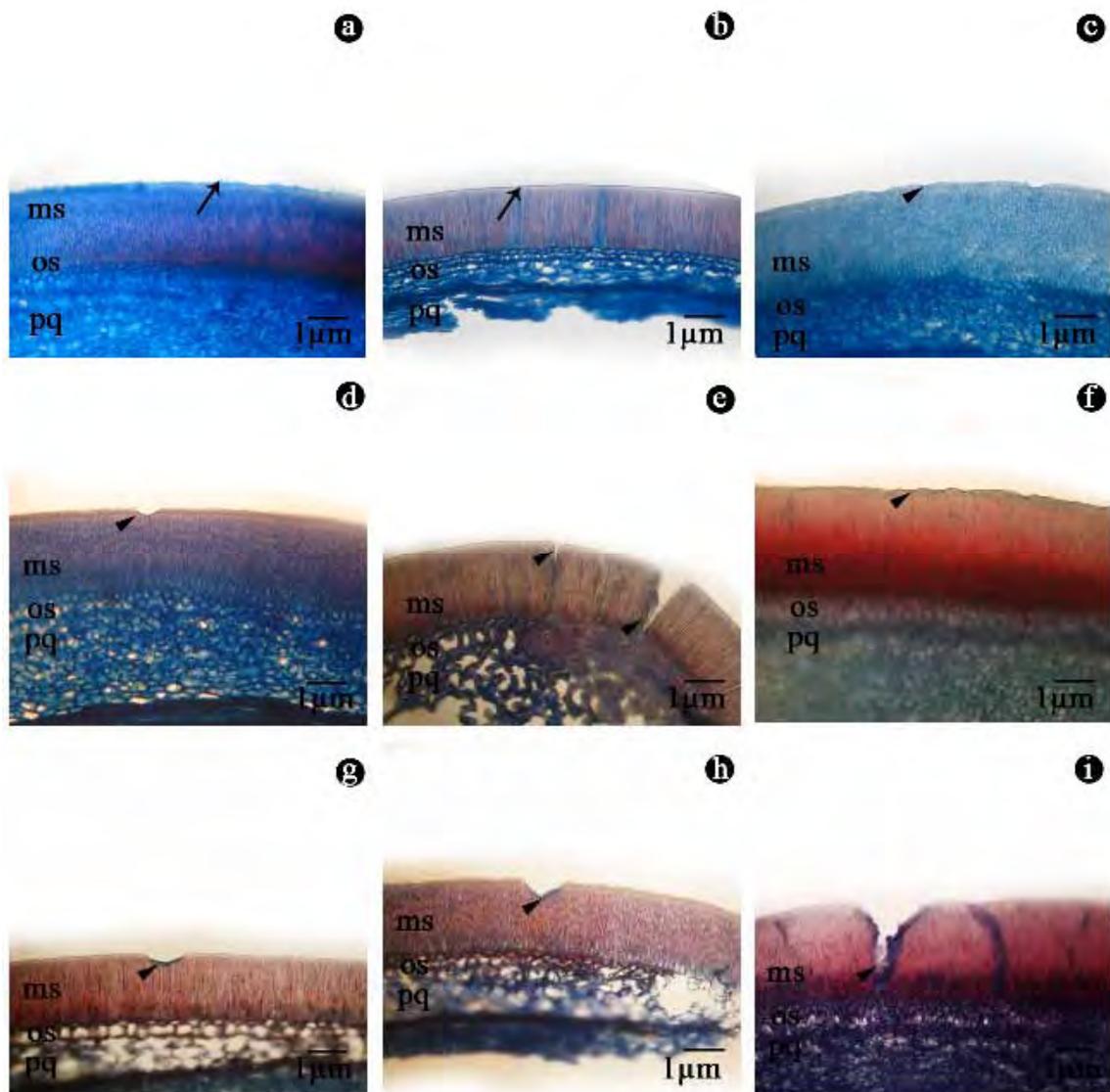


Figura 12. Análises anatômicas do tegumento de sementes de *Erythrina speciosa* Andrews coletadas em 2010 em tratamentos de imersão em ácido sulfúrico em cortes transversais. Detalhe do tegumento: (a) testemunha, (b) 30 segundos, (c) 1 minuto, (d) 3 minutos, (e) 5 minutos, (f) 10 minutos, (g) 15 minutos, (h) 40 minutos. (i) 60 minutos.

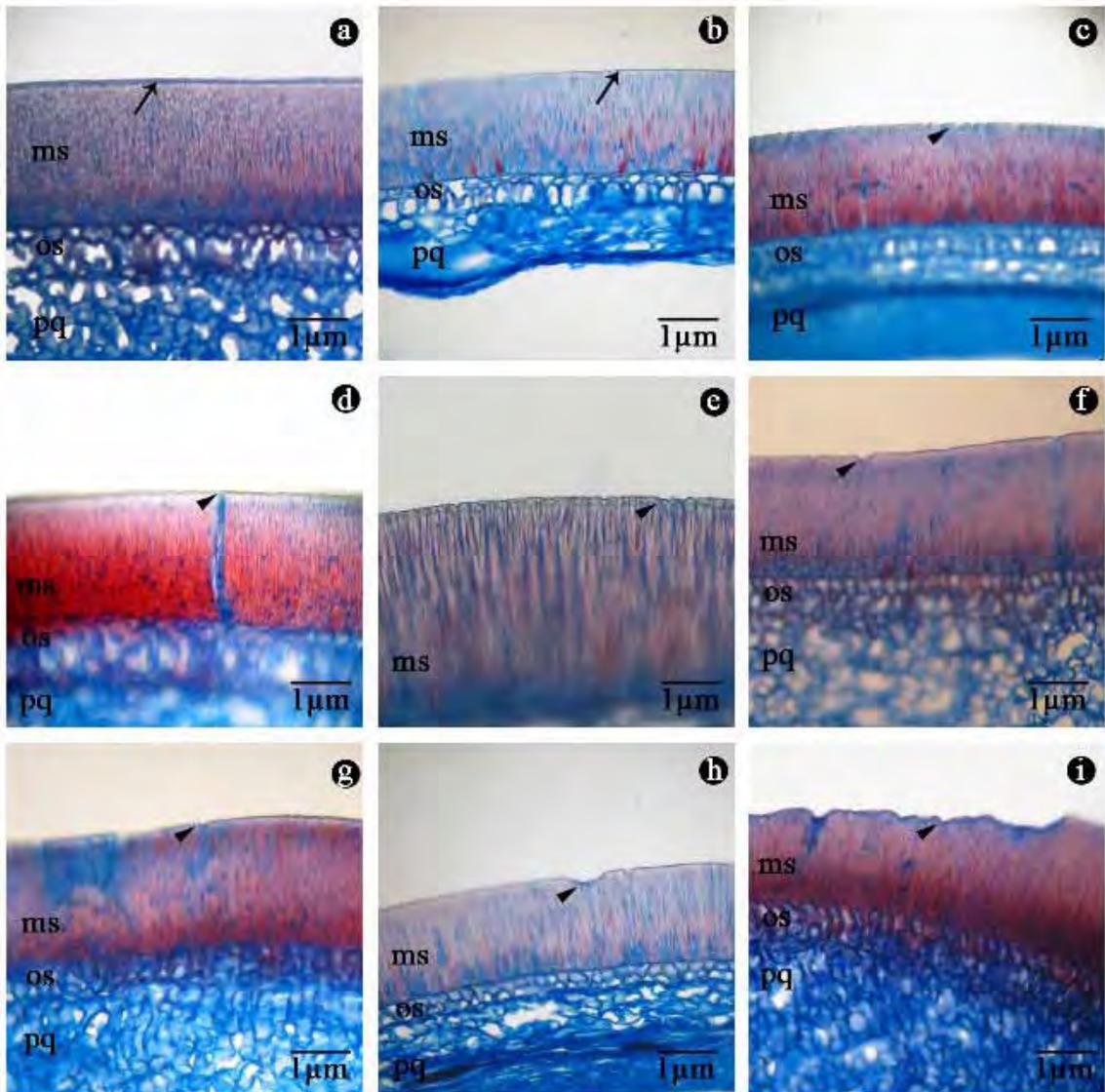


Figura 13. Análises anatômicas do tegumento de sementes de *Erythrina speciosa* Andrews coletadas em 2011 em tratamentos de imersão em ácido sulfúrico em cortes transversais. Detalhe do tegumento: (a) testemunha, (b) 30 segundos, (c) 1 minuto, (d) 3 minutos, (e) 5 minutos, (f) 10 minutos, (g) 15 minutos, (h) 40 minutos, (i) 60 minutos. (ms = macroscleireide, os = osteosclereide, pq = parênquima, → = cutícula, ► = digestão pelo ácido sulfúrico).

Em estudos ultraestruturais (Figuras 10 e 11) e anatômicos (Figuras 12 e 13) nos tratamentos da testemunha, nos dois lotes, pode se observar a cutícula facilmente, e no lote de 2011 está fortemente aderida a camada de macroscleireides, o que não foi observado no lote de 2010. Essas alterações estão evidentemente ligadas diferença no grau de dormência citados acima observados nos testes de germinação nos estudos de superação de dormência.

Nos dois lotes coletados, os primeiros períodos de imersão (30 segundos e 1 minuto) apresentaram apenas a digestão da cutícula (camada mais externa) (Figuras 10, 11, 12 e 13a,b). Nos períodos subsequentes (3 minutos, 5 minutos, 10 minutos e 15 minutos) houve

digestão até mesmo de parte da linha lúcida (linha translúcida que não reagem com corante, composta pela sobreposição de cutina ou suberina mais celulose (PAMMEL, 1899) e penetração do ácido através das lamelas médias (Figuras 10, 11, 12 e 13c, d, e, f) que não estavam fortemente ligadas, indicando assim um processo de digestão da lignina, desfazendo a estrutura cristalina da celulose (LODI, 2008), transformando-a em açúcares (OGEDA; PETRI, 2010) e dando iniciando as rachaduras e perfurações. A partir de 40 e 60 minutos de imersão é possível observar uma grande digestão dos macroesclereides (Figuras 10, 11, 12 e 13h, i), e no momento em que essas fendas atingem a camada subpaliçada (osteosclereides) o tegumento não é mais impermeável (ALGAN; BÜYÜKKARTAL, 2000).

No lote de 2010, nota-se que a penetração do ácido ocorreu em pontos de menor resistência, já no lote de 2011, a corrosão ocorreu em áreas mais extensas, mas em menor profundidade, corroborando assim para a diferença no grau de dormência entre os dois anos de coleta ligadas a diferenças na deposição de lignina, cutina suberina ou até mesmo calose (KELLY *et al.*, 1992).

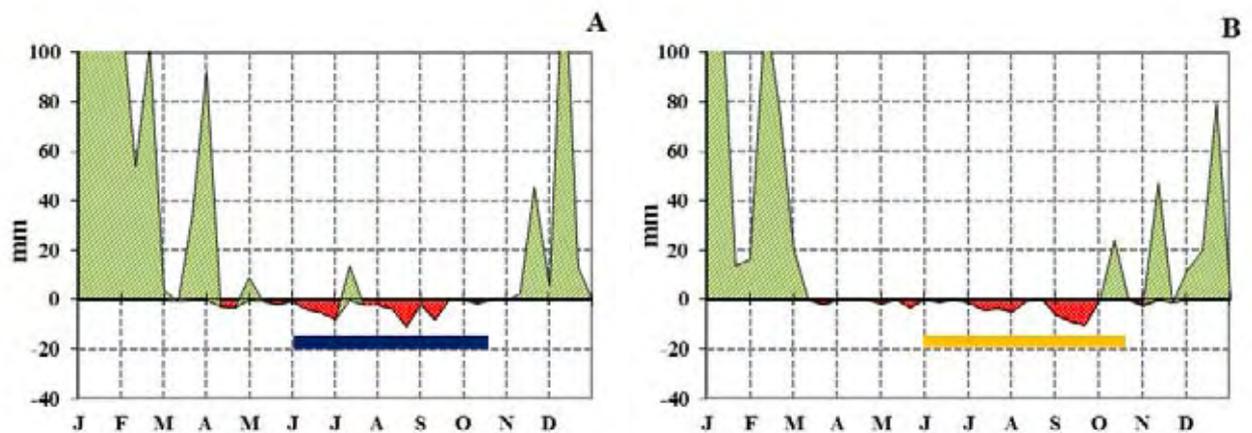


Figura 14. Extrato do balanço hídrico decenal da região de São Paulo – SP – Brasil. Área de cor vermelha significa déficit hídrico, área de cor verde sem déficit hídrico. (A) 2010 (B) 2011. Quadro em azul escuro e laranja indicam o período de maturação das sementes.

Essas diferenças anatômicas e fisiológicas podem estar relacionadas com fatores ambientais ocorridos durante a maturação das sementes. Curiosamente, notam-se diferenças em relação à quantidade de água presente no solo durante as fases finais da maturação. Em 2010, durante a fase de dispersão das sementes ocorreu um déficit hídrico que não ocorreu em 2011 (Figura 14). Estudos realizados com *Digitaria milaniana* (Rendle) Stapf, mostram que a deficiência hídrica tornou as sementes mais ormentes (HACKER, 1984), fato que não pode ser observado em *E. speciosa*, com a comparação da germinação da testemunha nos dois anos

em que a coleta foi realizada (Figura 8a) talvez pelo fato da espécie ser abundante em áreas alagadas.

Em estudo com plantas jovens de *E. speciosa*, foi observado que a inundação do solo afetam drasticamente as trocas gasosas. Nos tratamentos com excesso de água, os estômatos se fecharam na tentativa de reduzir a condutância hidráulica e assim permitir que a raiz necessite de menos O<sub>2</sub> e assim evitando que falte energia para manter todo o sistema. O fechamento dos estômatos também impede a assimilação de CO<sub>2</sub> e como em uma reação em cadeia, com menos CO<sub>2</sub> haverá menos substrato para a rubisco e portanto haverá redução na fotossíntese e menos fotoassimilados são sintetizados. A partir disso, sinais químicos, em particular o ácido abscísico (ABA), que podem ser sintetizados nas pontas de raiz submetidos à hipóxia são então transportado das folhas mais velhas ou em ponto de murcha jovens folhas túrgidas e sementes (KAUFMANN; HALL, 1974; CHAVES, 1991; ZHANG; ZHANG, 1994; SANTOS; CARLESSO, 1998; TAIZ; ZEIGER, 2006; MEDINA *et al.*, 2009; MANZONI *et al.*, 2012). Apesar do estudo ser com plantas jovens temos uma hipótese que deve ser investigada em plantas adultas.

Com base nessas informações, pode-se supor que excesso de água no solo durante o final da maturação no lote de 2011 afetou a dormência. A translocação de solutos para das folhas mais velhas ou em ponto de murcha aumento a deposição de substâncias específicas, como glicose, lignina, suberina e cutina, tornando assim tornam a parede celular, principalmente dos macroesclereides, da semente com maior resistência em relação a corrosão promovida pelo ácido sulfúrico, dificultando assim a germinação e necessitando de períodos maiores de imersão.

Já no lote de 2010, durante a mesma fase de maturação, supõe-se que a ausência de chuva não promoveu um estresse na planta e seu metabolismo trabalhou normalmente, e por isso promovendo sementes com menor grau de dormência. A corrosão promovida pelo ácido sulfúrico encontrou menor resistência, indicando assim um menor grau de dormência e necessitando de menores períodos de imersão para atingir a mesma porcentagem de geminação que o lote de 2011.

#### 4. Conclusões

- o grau de impermeabilidade à água, em sementes de *Erythrina speciosa*, está relacionado com as condições ambientais sob as quais a semente se desenvolve;

- o grau dessa impermeabilidade apresenta variações, também, entre sementes oriundas da mesma coleta;
- a sensibilidade do tegumento dessas sementes à quebra da impermeabilidade à água, com a aplicação de escarificação ácida, também é dependente das condições nas quais a semente foi formada.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsas de Mestrado, concedida a D.M. Molizane, e a Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico (CNPq) pela bolsa de Produtividade em Pesquisa, concedida a C.J. Barbedo e pelo apoio financeiro ao projeto (Processo 477640/2009-5, Edital Universal). Ao Edmir Vicente Lamarca pelo auxílio na coleta dos dados meteorológicos.

## 5. Referências bibliográficas

ALGAN, G.; BÜYÜKKARTAL, H. N. B. Ultrastructure of Seed Coat Development in the Natural Tetraploid *Trifolium pratense* L. **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 184, p. 205–213, 2000.

ALVES, E. U.; BRUNO, R. D. L. A.; OLIVEIRA, A. P. D.; ALVES, ADRIANA URSULINO; ALVES, ANARLETE URSULINO. Ácido sulfúrico na superação da dormência de unidades de dispersão de Juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.). **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 187–195, 2006.

ALVES, E. U.; SADER, R.; BRUNO, R. D. L. A.; ALVES, ADRIANA URSULINO. Maturação fisiológica de sementes de sabiá. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 01–08, 2005.

ALVES, M. D. C. S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E. M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. - Caesalpinoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 139–144, 2000.

AMARAL, L. I. V. D.; PEREIRA, M. D. F. D. A.; CORTELAZZO, Â. L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 7, n. 2, p. 151–157, 1995.

AMARAL, L. I. V. DO; PEREIRA, M. D. F. D. A.; CORTELAZZO, Â. L. Germinação de sementes em desenvolvimento de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 3, p. 273–285, 2000.

ANAND, A.; BHARDWAJ, J.; NAGARAJAN, S. Comparative evaluation of seed coat dormancy breaking treatments in *Stylosanthes seabraana*. **Grass and Forage Science**, v. 66, n. 2, p. 272–276, 2011.

AQUINO, N. F.; BORTOLINI, M.; CAMPAGNOLO, M. A. *et al.* Dormência de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel.) Taubert colhida em diferentes estádios de desenvolvimento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 5, n. 2, p. 31–37, 2006.

- BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A. D. D. L. C. Condicionamento osmótico e armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 354–360, 1997.
- BARBOSA, A. P.; SAMPAIO, P. D. . T. B.; CAMPOS, M. A. A. *et al.* Tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw., Bombacaceae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 107 – 110, 2004.
- BARBOSA, J. G.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. C. F. DOS S.; VIEIRA, A. N. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 71–77, 2005.
- BASKIN, CAROL C. Breaking physical dormancy in seeds – focussing on the lens. **New Phytologist**, v. 158, p. 227–238, 2003.
- BASKIN, CAROL C.; BASKIN, JERRY M. A Geographical Perspective on Germination Ecology : Temperate and Arctic Zones. **Seeds - Ecology, Biogeography, and evolution of dormancy and germination**. p.668, 1998. San Diego: Academic Press.
- BASKIN, JERRY M; BASKIN, CAROL C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, p. 1–16, 2004.
- BASKIN, JERRY M.; BASKIN, CAROL C.; LI, X. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. **Plant Species Biology**, v. 15, n. 2, p. 139–152, 2000.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, n. July, p. 1055–1066, 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2ª edição ed. London: Plenum Press, 1994.
- BLACK, M.; BRADFORD, K. J.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. **Seed Biology - Advances and Applications**. Illustrated ed. Wallingford: CABI Publishing, 1999.
- BORGES, I. F.; NETO, J. D. G.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. DE C. L.; BARBEDO, C. J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam . (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. November, p. 851–861, 2005.
- BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. L. C.; RODRIGUES, R. R.; MARCOS FILHO, J. Dormancy as exaptation to protect mimetic seeds against deterioration before dispersal. **Annals of botany**, v. 105, n. 6, p. 991–8, 2010.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento, 2009.
- BRUNEAU, A. Phylogenetic and Biogeographical Patterns in *Erythrina* (Leguminosae : Phaseoleae) as Inferred from Morphological and Chloroplast DNA Characters. **American Society of Plant Taxonomists**, v. 21, n. 4, p. 587–605, 1996.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 55, 1972.

- CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: A. G. Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CARVALHO, N. M. DE; NAKAGAWA, J. **Semente: Ciência, Tecnologia e produção**. 5ª edição ed. Jaboticabal: Funep, 2012.
- CASTRO, R. D. D. Embebição e reativação do metabolismo. In: A. Gui Ferreira,; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CASTRO, R. D. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: A. G. Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado2**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CAVAZZA, A. Recherches sur l'imperméabilité des graines dures chez les légumineuses Giardinelli. **Bulletin de la Société Botanique Suisse**, v. 60, p. 596–610, 1950.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, p. 1–16, 1991.
- CORNER, E. J. H. The leguminous seed. **Phytomorphology**, v. 1, p. 117–150, 1951.
- CORVELLO, W. B. V.; VILLELA, F. A.; NEDEL, J. L.; PESKE, S. T. Maturação fisiológica de semente de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 23–27, 1999.
- DAWS, M. I.; LYDALL, E.; CHMIELARZ, P. *et al.* Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. **New Phytologist**, v. 162, n. 1, p. 157–166, 2004.
- FARIA, T. D. J.; CAFÊU, M. C.; AKIYOSHI, G. *et al.* Alcalóides de flores e folhas de *Erythrina speciosa* Andrews. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 525–527, 2007.
- FIGUEROA, R.; HERMS, D. A.; CARDINA, J.; DOOHAN, D. Maternal environment effects on Common Groundsel (*Senecio vulgaris*) seed dormancy. **Weed Science**, v. 58, n. 2, p. 160–166, 2010.
- GAMA-ARACHCHIGE, N. S.; BASKIN, J M; GENEVE, R L; BASKIN, C C. Acquisition of physical dormancy and ontogeny of the micropyle--water-gap complex in developing seeds of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). **Annals of botany**, v. 108, n. 1, p. 51–64, 2011.
- GEMAQUE, R. C. R.; DAVIDE, A. C.; MARCIO, J. M. R. F. Indicadores de maturidade fisiológica de sementes de Ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* ( Mart .) Standl .). **Cerne**, v. 8, n. 2, p. 084–091, 2002.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 10ª ed. Piracicaba: Nobel, Piracicaba, 1982.
- GROTH, D.; NELI, E. R.; ANDRADE, B. D. E. Caracterização morfológica de unidades de dispersão de cinco espécies ornamentais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 11–17, 2003.
- HACKER, J. B. Genetic variation in seed dormancy in *Digitaria milanjiana* in relation to rainfall at the collection site. **Journal of Applied Ecology**, v. 21, n. 3, p. 947–959, 1984.
- HARRIS, W. M. Comparative ultrastructure of developing seed coats of “Hard-Seeded” and “Soft-Seeded” varieties of soybean, *Glycine max* ( L.) Merr. **Botanical Gazzete**, v. 148, n. 3, p. 324–331, 1987.

HAY, F. R.; SMITH, R. D. Seed Maturity. In: R.D. Smith; J. B. Dickie; S. H. Linington; Hugh W. Pritchard; R. J. Probert (Eds.); **Seed Conservation: Turning Science Into Practice**. p.1022, 2002. Kew Publishing.

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

HILHORST, H. W. M. Definitions and hypotheses of seed dormancy. In: K. J. Bradford; H. Nonogaki (Eds.); **Seed Development, Dormancy and Germination**. p.367, 2007. Oxford: Blackwell Publishing.

HU, X. W.; WANG, Y. R.; WU, Y. P.; BASKIN, CAROL C. Role of the lens in controlling water uptake in seeds of two Fabaceae (Papilionoideae) species treated with sulphuric acid and hot water. **Seed Science Research**, v. 19, n. 02, p. 73, 2009.

HYDE, E. O. C. The function of the hilum in some Papilionaceae in relation to the ripening of the seed and the permeability of the testa. **Annals of Botany**, v. 18, p. 241–256, 1954.

ISTA. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, 1985.

JAYASURIYA, K. M. . G. G.; BASKIN, JERRY M.; GENEVE, ROBERT L.; BASKIN, CAROL C. Seed development in *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae), with particular reference to anatomy of the water gap. **Annals of botany**, v. 100, n. 3, p. 459–70, 2007.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw- Hill Book, 1940.

JOLY, A. B. **Botânica: chaves de identificação das famílias de plantas vasculares que ocorrem no Brasil**. São Paulo: Edusp, 1970.

JORDAN, J. L.; JORDAN, L. S.; JORDAN, C. M. Some Effects of Sulphuric Acid Scarification on *Polygonum pensylvanicum* L Achenes. **Annals of Botany**, v. 51, p. 855–858, 1983.

KAUFMANN, M. R.; HALL, A. E. Plant water balance - it's relationship tp atmospheric. **Agricultural Meteorology**, v. 14, p. 85–98, 1974.

KELLY, K. M.; STADEN, J.; BELL, W. E. Seed coat structure and dormancy. **Plant Growth Regulation**, v. 11, n. 3, p. 201–209, 1992.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B. DE; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. DE. **Química da madeira**. 3ª ed. Curitiba: Universidade Federal Do Paraná - Setor De Ciências Agrárias Departamento De Engenharia E Tecnologia Florestal, 2005.

KOSZO, C. R. R.; RINALDI, M. C. S.; BARBEDO, C. J. Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr., *Eugenia brasiliensis* Lam. e *Cucumis sativus* L. em meio ácido. **Hoehnea**, v. 34, n. 3, p. 271–282, 2007.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OAE, 1983.

LENIHAN, P.; OROZCO, A.; O'NEILL, E. *et al.* Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 2, p. 395–403, 2010.

LERSTEN, N. R. Tracheid Bar and Vestured Pits in Legume Seeds (Leguminosae: Papilionoideae). **American Journal of Botany**, v. 69, n. 1, p. 98, 1982.

- LERSTEN, N. R.; GUNN, C. R.; BRUBAKER, C. L. Comparative Morphology of the Lens on Legume ( Fabaceae ) Seeds , with Subfamilies Caesalpinioideae and Mimosoideae. **Agricultural Research Service - Technical Bulletin**, v. 1971, p. 1–49, 1992.
- LI, X.; BASKIN, JERRY M.; BASKIN, CAROL C. Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two north american *Rhus* species (Anacardiaceae). **American Journal of Botany**, v. 86, n. 11, p. 1505–1511, 1999.
- LODI, I. E. **Álcool combustível (Série Indústria em Perspectiva)**. Brasília: IEL/NC, 2008.
- LOLLATO, G.; SCARMINIO, I. S.; MOREIRA, E. G. Behavioral effects of aqueous and dichloromethane extracts of *Erythrina speciosa* Andrews, Fabaceae, leaves in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 939–944, 2010.
- LOPES, J. C.; DIAS, P. C.; PEREIRA, M. D. Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 811–816, 2005.
- LUSH, W. M.; EVANS, L. T. The seed coats of cowpeas and other grain legumes: structure in relation to function. **Field Crop Research**, v. 3, p. 267–286, 1980.
- MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C. A; GIJZEN, M. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. **Annals of botany**, v. 94, n. 2, p. 213–28, 2004.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176–177, 1962.
- MANZONI, S.; VICO, G.; PORPORATO, A.; KATUL, G. Biological constraints on water transport in the soil–plant–atmosphere system. **Advances in Water Resources**, 2012.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005.
- MARTINS, S. V.; SILVA, D. D. DA. Maturação e época de colheita de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr.All.ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 96–99, 1997.
- MEDINA, C. L.; SANCHES, M. C.; TUCCI, M. L. S. *et al.* *Erythrina speciosa* (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. **Annals of botany**, v. 104, n. 4, p. 671–80, 2009.
- MELLO, J. I. DE O.; BARBEDO, C. J.; SALATINO, A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. DE C. L. Reserve Carbohydrates and Lipids from the Seeds of Four Tropical Tree Species with Different Sensitivity to Desiccation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 889–899, 2010.
- MELLO, J. I. DE O.; BRABEDO, C. J.; BARBEDO, C. J. Temperatura, luz e substrato para germinação de sementes de Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, p. 645–655, 2007.
- MILLER, S. S.; BOWMAN, L. A.; GIJZEN, M.; MIKI, B. L. A. Early Development of the Seed Coat of Soybean (*Glycine max* ). **Annals of botany**, v. 84, p. 297–304, 1999.

MORRISON, D. A.; MCCLAY, K.; PORTER, C.; RISH, S. The Role of the Lens in Controlling Heat-induced Breakdown of Testa-imposed Dormancy in Native Australian Legumes. **Annals of Botany**, v. 82, p. 35–40, 1998.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, CLAUDIO; ZUCARELI, C. Maturação, formas de secagem e qualidade fisiológica de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 45–53, 2005.

NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, CLÁUDIO; MARTINS, C. C.; OLIVEIRA, R. R. D. Intensidade de dormência durante a maturação de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 165–170, 2007.

NAKAGAWA, J.; MORI, E. S.; PINTO, C. D. S. *et al.* Maturação e secagem de sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (Canafístula). **Revista Árvore**, v. 34, n. 1, p. 49–56, 2010.

NIMER, R.; MOREIRA, N.; NILTON, D. E. C.; PERECIN, D. Influência de alguns fatores da planta sobre o grau de dormência em sementes de Mucuna preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 05, n. 2, p. 111–119, 1983.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química nova**, v. 33, n. 7, p. 1549–1558, 2010.

OHTO, M.; STONE, S. L.; HARADA, J. J. Genetic control of seed development and seed mass. In: M. Black; Hugh W. Pritchard (Eds.); **Seed development, dormancy and germination**. p.412, 2002. CABI Publishing.

OLIVEIRA, D. M. . T.; PAIVA, E. A. S. Anatomy and ontogeny of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae: Faboideae) seed. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 65, n. 3, p. 483–94, 2005.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas : espécies de Phaseoleae , Sophoreae , Swartzieae e Tephrosieae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 1, p. 85–97, 2001.

PAIVA, ELDER ANTÔNIO SOUSA. Ultrastructure and post-floral secretion of the pericarpial nectaries of *Erythrina speciosa* (Fabaceae). **Annals of botany**, v. 104, n. 5, p. 937–44, 2009.

PAMMEL, L. H. **Anatomical characters of. The seeds of leguminosae, chiefly genera of gray's manual.**, 1899. St. Louis: St. Louis.

PARSONS, A. F.; PALFRAMAN, M. J. **Erythrina and Related Alkaloids**. Elsevier Inc., 2010.

PEREZ, S. C. J. G. D. A. Envoltórios. In: A. Gui Ferreira,; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.

PESSINI, G. L. .; HOLETZ, F. B. .; SANCHES, N. R. . *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. supl., p. 21–24, 2003.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; AGUIAR, I. B. D. Maturação e Dispersão de Sementes. In: I. B. D. Aguiar (Ed.); **Sementes Florestais Tropicais**. p.350, 1993. Brasília: Abrates.

POPIGINIS, F. **Fisiologia da Semente**. Brasília: Sília, 1985.

- RAMSAY, G. Inheritance and linkage of a gene for testa-imposed seed dormancy in faba bean (*Vicia faba* L.). **Plant Breeding**, v. 289, p. 287–290, 1997.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; SUSAN E. EICHHORN. **Biologia Vegetal**. 5ª edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- RODRIGUES, A. P. D'Á. C.; OLIVEIRA, A. K. M. DE; LAURA, V. A.; CHERMOUTH, K. DA S.; FREITAS, M. H. DE. Tratamentos para superação da dormência de sementes de *Adenanthera pavoniva* L. **Revista Árvore**, v. 33, n. 4, p. 617–623, 2009.
- ROLSTON, M. P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 44, n. 3, p. 365–396, 1978.
- SALDIVAR, X.; WANG, Y.-J.; CHEN, P.; HOU, A. Changes in chemical composition during soybean seed development. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1369–1375, 2011. Elsevier Ltd.
- SAMARAH, N. H.; ALLATAIFEH, N.; TURK, M. A.; TAWAHA, A. M. Seed germination and dormancy of fresh and air-dried seeds of common vetch (*Vicia sativa* L.) harvested at different stages of maturity. **System**, p. 11–19, 2004.
- SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Edição Especial, p. 70–84, 2000.
- SANTOS, R. F. DOS; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287–294, 1998.
- SANTOS, T. O. DOS; MORAIS, T. G. D. O.; MATOS, V. P. Escarificação mecânica em sementes de Chichá (*Sterculia foetida* L.). **Revista Árvore**, v. 28, n. 1, p. 1–6, 2004.
- SERRATO-VALENTI, G.; VRIES, M. DE; CORNARA, L. The hilar region on *Leucaena leucocephala* Lam. (De wit) seed: Structure, Histochemistry and the role of the lens ins germination. **Annals of Botany**, v. 75, p. 569–574, 1995.
- SILVA, P. E. M.; SANTIAGO, E. F.; DALOSO, D. DE M.; SILVA, E. M. DA; SILVA, J. O. Quebra de dormência em sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Volumen**, v. 29, n. 2, p. 39–45, 2011.
- SOUZA, F. H. D. DE; MARCOS FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 365–375, 2001.
- SOUZA, S. M. DE; LIMA, P. C. F. Maturação de sementes de Angico (*Anadenanthera macorcarpa* (Benth) Brenan). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 7, n. 2, p. 93–100, 1985.
- SOUZA, T. V. D.; VOLTOLINI, C. H.; SANTOS, M.; TEREZINHA, M.; PAULILO, S. Water absorption and dormancy breaking requirements of physically dormant seeds of *Schizolobium parahyba* (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Seed Science Research**, v. 22, n. 3, p. 169–176, 2012.
- SZIRMAI, Á. **Anxiety and Related Disorders**. Rijeka: InTech, 2011.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Sunderland: Sinauer Associates, 1998.
- TAIZ, LINCON; ZEIGER, EDUARDO. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

VENIER, P.; FUNES, G.; CARRIZO GARCÍA, C. Physical dormancy and histological features of seeds of five *Acacia* species (Fabaceae) from xerophytic forests in central Argentina. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 1, p. 39–46, 2012. Elsevier GmbH.

VITALI-VEIGA, M. J.; MACHADO, V. L. L. Visitantes florais de *Erythrina speciosa* Andr. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, n. 2, p. 369–383, 2000.

ZHANG, J.; ZHANG, X. Can early wilting of old leaves account for much of the ABA accumulation in flooded pea plants? **Journal of Experimental Botany**, v. 45, p. 1335–1342, 1994.

## 6. Considerações finais

O estabelecimento e a superação da dormência, em sementes, apresentam ainda lacunas do conhecimento, necessitando assim de estudos mais aprofundados para elucidar quais fatores ambientais podem influenciar o grau de dormência no tegumento de uma semente com restrição a entrada de água, ou ainda quais alterações bioquímicas ocorrem durante o desenvolvimento da semente e quais substâncias podem alterar a permeabilidade das camadas mais externas da semente.

A literatura apresenta, principalmente, uma grande diversidade de tratamentos para superação de dormência em sementes de várias espécies, principalmente as arbóreas tropicais nativas do Brasil. Contudo, poucos trabalhos descrevem com maior profundidade os eventos mais importantes como a instalação e os fatores que influenciam no grau de dormência, como as flutuações na temperatura, chuvas e déficit hídrico do solo durante o desenvolvimento da semente.

Talvez por esse motivo verifica-se, também, grande diversidade de resultados, muitas vezes utilizando-se os mesmos tratamentos nas sementes da mesma espécie, provenientes do mesmo local, mas em anos de coleta diferentes com resultados fisiológicos diferentes. É por isso que o método utilizado na superação da dormência em um lote de sementes pode não ser recomendado para outro.

Com o presente trabalho nota-se que fatores ambientais podem influenciar o grau de dormência em uma semente durante seu desenvolvimento, alterando também os resultados quando aplicados métodos para superação.

Durante os estudos de maturação, verificou-se que sementes de *Erythrina speciosa* seguem o padrão clássico das sementes ortodoxas, adquirindo a capacidade germinativa ao final do período de divisões celulares. Concomitante à aquisição da germinação ocorre a instalação lenta da dormência por impermeabilidade do tegumento em relação a água. Nota-se que os estádios 1 e 6 apresentam baixa porcentagem de germinação, mas a explicação para esse fato é diferente em cada estágio. No primeiro estágio as sementes ainda estão completamente imaturas, e a capacidade germinativa aumenta lentamente até o estágio 3. A partir do estágio 4, as sementes são capazes de germinar, mas aos poucos a dormência se instala, reduzindo assim as porcentagens de germinação, como pode ser observado no tempo médio de germinação e na frequência média de germinação diária. Após a semente estar madura métodos para superação da dormência serão necessários a fim de permitir a entrada da água e dar início ao processo de germinação.

Anatomicamente observa-se alterações que condizem com o desenvolvimento da semente nos primeiros estádios de maturação como a divisão celular e formação das paredes celulares secundárias. Ainda pode ser observada a redução no teor de água durante a maturação, com o aumento dos espaços intercelulares e redução do lúmen celular nas camadas de osteosclereides e parênquima. Essa redução no teor de água em algumas espécies dá início a instalação da dormência e permite que a semente madura tenha seu metabolismo reduzido, aumentando sua longevidade e capacidade de armazenamento.

Nas sementes da família Fabaceae, a barra de traqueídes, presente abaixo do hilo, é apontada como responsável pela dessecação no final do processo de maturação, mas o modo de atuação dessa estrutura ainda não está totalmente elucidada.

As sementes maduras de *E. speciosa* apresentam estruturas em seu tegumento que impedem a entrada de água, necessitando assim de métodos para rompimento dessas estruturas. Um dos métodos mais utilizados é a imersão das sementes dormentes em ácido sulfúrico, que promove a lise da lignina em moléculas menores de glicose, e com isso rompendo a barreira impermeável presente no tegumento.

Alterações ambientais, ocorridas em anos distintos, que podem ter influenciado o grau de dormência das sementes *E. speciosa* são observados nos danos causados pelo ácido sulfúrico e nas porcentagens de germinação nos dois lotes coletados. Em 2010, as sementes não apresentam um tegumento resistente, portanto a barreira de impermeabilidade é facilmente rompida em 15 minutos de imersão. Já no lote de 2011, para alcançar a mesma porcentagem de germinação (100%) foram necessários 40 minutos de imersão, mostrando assim que esse lote possuía sementes com maior resistência a ação do ácido, dificultando o início da germinação.

Com base nesses resultados apresentados conclui-se que as alterações ambientais ocorridas durante da maturação podem influenciar o grau de dormência de um lote, através de uma teoria apresentada com um estudo em plantas jovens da espécie, que o aumento da água no solo promove a diminuição de oxigênio disponível, então sinais são enviados para fechamento dos estômatos causando a diminuição da fotossíntese. A menor disponibilidade de fotoassimilados provoca um estresse na planta, que então passa a desviar a energia acumulada nas folhas mais velhas para as mais jovens para aumentar a fotossíntese e sementes em formação, garantindo a sobrevivência da espécie. Essa translocação de fotoassimilados pode causar o aumento na resistência do tegumento, que pode ser observado em análises ultraestruturais e anatomicas com a imersão das sementes em ácido sulfúrico. Como foi o caso nos lotes coletados em 2010 e 2011, que apresentaram diferenças na forma como o ácido

corroeu as camadas mais externas do tegumento. Em 2010, a menor resistência promoveu furos e em 2011 a maior resistência promoveu um desgaste na superfície do tegumento. Coincidentemente em 2010 nas fases finais de maturação ocorreu déficit hídrico, o que não aconteceu no mesmo período da maturação em 2011.

## 7. Referências bibliográficas

- ALGAN, G.; BÜYÜKKARTAL, H. N. B. Ultrastructure of Seed Coat Development in the Natural Tetraploid *Trifolium pratense* L. **Journal Agronomy & Crop Science**, v. 184, p. 205–213, 2000.
- ALVES, E. U.; BRUNO, R. D. L. A.; OLIVEIRA, A. P. D.; ALVES, ADRIANA URSULINO; ALVES, ANARLETE URSULINO. Ácido sulfúrico na superação da dormência de unidades de dispersão de Juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.). **Revista Árvore**, v. 30, n. 2, p. 187–195, 2006.
- ALVES, E. U.; SADER, R.; BRUNO, R. D. L. A.; ALVES, ADRIANA URSULINO. Maturação fisiológica de sementes de sabiá. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 01–08, 2005.
- ALVES, M. D. C. S.; MEDEIROS-FILHO, S.; ANDRADE-NETO, M.; TEÓFILO, E. M. Superação da dormência em sementes de *Bauhinia monandra* Britt. e *Bauhinia unguolata* L. - Caesalpinoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 2, p. 139–144, 2000.
- AMARAL, L. I. V. D.; PEREIRA, M. D. F. D. A.; CORTELAZZO, Â. L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 7, n. 2, p. 151–157, 1995.
- AMARAL, L. I. V. DO; PEREIRA, M. D. F. D. A.; CORTELAZZO, Â. L. Germinação de sementes em desenvolvimento de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. 3, p. 273–285, 2000.
- ANAND, A.; BHARDWAJ, J.; NAGARAJAN, S. Comparative evaluation of seed coat dormancy breaking treatments in *Stylosanthes seabrana*. **Grass and Forage Science**, v. 66, n. 2, p. 272–276, 2011.
- AQUINO, N. F.; BORTOLINI, M.; CAMPAGNOLO, M. A. *et al.* Dormência de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel.) Taubert colhida em diferentes estádios de desenvolvimento. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 5, n. 2, p. 31–37, 2006.
- BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J.; NOVEMBRE, A. D. D. L. C. Condicionamento osmótico e armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 354–360, 1997.
- BARBOSA, A. P.; SAMPAIO, P. D. . T. B.; CAMPOS, M. A. A. *et al.* Tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw., Bombacaceae). **Acta Amazonica**, v. 34, n. 1, p. 107 – 110, 2004.
- BARBOSA, J. G.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. C. F. DOS S.; VIEIRA, A. N. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 71–77, 2005.
- BASKIN, CAROL C. Breaking physical dormancy in seeds – focussing on the lens. **New Phytologist**, v. 158, p. 227–238, 2003.
- BASKIN, CAROL C.; BASKIN, JERRY M. A Geographical Perspective on Germination Ecology : Temperate and Arctic Zones. **Seeds - Ecology, Biogeography, and evolution of dormancy and germination**. p.668, 1998. San Diego: Academic Press.
- BASKIN, JERRY M; BASKIN, CAROL C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, p. 1–16, 2004.

- BASKIN, JERRY M.; BASKIN, CAROL C.; LI, X. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. **Plant Species Biology**, v. 15, n. 2, p. 139–152, 2000.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, n. July, p. 1055–1066, 1997.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seed physiology of development and germination**. 2ª edição ed. London: Plenum Press, 1994.
- BLACK, M.; BRADFORD, K. J.; VÁZQUEZ-RAMOS, J. **Seed Biology - Advances and Applications**. Illustrated ed. Wallingford: CABI Publishing, 1999.
- BORGES, I. F.; NETO, J. D. G.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. DE C. L.; BARBEDO, C. J. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. November, p. 851–861, 2005.
- BRANCALION, P. H. S.; NOVENBRE, A. D. L. C.; RODRIGUES, R. R.; MARCOS FILHO, J. Dormancy as exaptation to protect mimetic seeds against deterioration before dispersal. **Annals of botany**, v. 105, n. 6, p. 991–8, 2010.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento, 2009.
- BRUNEAU, A. Phylogenetic and Biogeographical Patterns in *Erythrina* (Leguminosae : Phaseoleae) as Inferred from Morphological and Chloroplast DNA Characters. **American Society of Plant Taxonomists**, v. 21, n. 4, p. 587–605, 1996.
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. American Society of Plant Physiologists, 2000.
- BUKATSCH, F. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau-Safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 55, 1972.
- CARDOSO, V. J. M. Dormência: estabelecimento do processo. In: A. G. Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CARVALHO, N. M. DE; NAKAGAWA, J. **Semente: Ciência, Tecnologia e produção**. 5ª edição ed. Jaboticabal: Funep, 2012.
- CASTRO, R. D. D. Embebição e reativação do metabolismo. In: A. Gui Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CASTRO, R. D. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: A. G. Ferreira; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado2**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.
- CAVAZZA, A. Recherches sur l'imperméabilité des graines dures chez les légumineuses Giardinelli. **Bulletin de la Société Botanique Suisse**, v. 60, p. 596–610, 1950.
- CHAVES, M. M. Effects of water deficits on carbon assimilation. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, p. 1–16, 1991.
- CORNER, E. J. H. The leguminous seed. **Phytomorphology**, v. 1, p. 117–150, 1951.

- CORVELLO, W. B. V.; VILLELA, F. A.; NEDEL, J. L.; PESKE, S. T. Maturação fisiológica de semente de cedro (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 2, p. 23–27, 1999.
- DAWS, M. I.; LYDALL, E.; CHMIELARZ, P. *et al.* Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. **New Phytologist**, v. 162, n. 1, p. 157–166, 2004.
- FARIA, T. D. J.; CAFÊU, M. C.; AKIYOSHI, G. *et al.* Alcalóides de flores e folhas de *Erythrina speciosa* Andrews. **Química nova**, v. 30, n. 3, p. 525–527, 2007.
- FIGUEROA, R.; HERMS, D. A.; CARDINA, J.; DOOHAN, D. Maternal environment effects on Common Groundsel (*Senecio vulgaris*) seed dormancy. **Weed Science**, v. 58, n. 2, p. 160–166, 2010.
- GAMA-ARACHCHIGE, N. S.; BASKIN, J M; GENEVE, R L; BASKIN, C C. Acquisition of physical dormancy and ontogeny of the micropyle--water-gap complex in developing seeds of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). **Annals of botany**, v. 108, n. 1, p. 51–64, 2011.
- GEMAQUE, R. C. R.; DAVIDE, A. C.; MARCIO, J. M. R. F. Indicadores de maturidade fisiológica de sementes de Ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* ( Mart .) Standl .). **Cerne**, v. 8, n. 2, p. 084–091, 2002.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. 10<sup>a</sup> ed. Piracicaba: Nobel, Piracicaba, 1982.
- GROTH, D.; NELI, E. R.; ANDRADE, B. D. E. Caracterização morfológica de unidades de dispersão de cinco espécies ornamentais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 11–17, 2003.
- HACKER, J. B. Genetic variation in seed dormancy in *Digitaria milanjiana* in relation to rainfall at the collection site. **Journal of Applied Ecology**, v. 21, n. 3, p. 947–959, 1984.
- HARRIS, W. M. Comparative ultrastructure of developing seed coats of “Hard-Seeded” and “Soft-Seeded ” varieties of soybean, *Glycine max* ( L.) Merr. **Botanical Gazzete**, v. 148, n. 3, p. 324–331, 1987.
- HAY, F. R.; SMITH, R. D. Seed Maturity. In: R.D. Smith; J. B. Dickie; S. H. Linington; Hugh W. Pritchard; R. J. Probert (Eds.); **Seed Conservation: Turning Science Into Practice**. p.1022, 2002. Kew Publishing.
- HILHORST, H. W. M. A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. **Seed Science Research**, v. 5, n. 2, p. 61–73, 1995.
- HILHORST, H. W. M. Definitions and hypotheses of seed dormancy. In: K. J. Bradford; H. Nonogaki (Eds.); **Seed Development, Dormancy and Germination**. p.367, 2007. Oxford: Blackwell Publishing.
- HU, X. W.; WANG, Y. R.; WU, Y. P.; BASKIN, CAROL C. Role of the lens in controlling water uptake in seeds of two Fabaceae (Papilionoideae) species treated with sulphuric acid and hot water. **Seed Science Research**, v. 19, n. 02, p. 73, 2009.
- HYDE, E. O. C. The function of the hilum in some Papilionaceae in relation to the ripening of the seed and the permeability of the testa. **Annals of Botany**, v. 18, p. 241–256, 1954.
- ISTA. International rules for seed testing. **Seed Science and Technology**, 1985.

JAYASURIYA, K. M. . G. G.; BASKIN, JERRY M.; GENEVE, ROBERT L.; BASKIN, CAROL C. Seed development in *Ipomoea lacunosa* (Convolvulaceae), with particular reference to anatomy of the water gap. **Annals of botany**, v. 100, n. 3, p. 459–70, 2007.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw- Hill Book, 1940.

JOLY, A. B. **Botânica: chaves de identificação das famílias de plantas vasculares que ocorrem no Brasil**. São Paulo: Edusp, 1970.

JORDAN, J. L.; JORDAN, L. S.; JORDAN, C. M. Some Effects of Sulphuric Acid Scarification on *Polygonum pensylvanicum* L Achenes. **Annals of Botany**, v. 51, p. 855–858, 1983.

KAUFMANN, M. R.; HALL, A. E. Plant water balance - it's relationship tp atmospheric. **Agricultural Meteorology**, v. 14, p. 85–98, 1974.

KELLY, K. M.; STADEN, J.; BELL, W. E. Seed coat structure and dormancy. **Plant Growth Regulation**, v. 11, n. 3, p. 201–209, 1992.

KLOCK, U.; MUÑIZ, G. I. B. DE; HERNANDEZ, J. A.; ANDRADE, A. S. DE. **Química da madeira**. 3ª ed. Curitiba: Universidade Federal Do Paraná - Setor De Ciências Agrárias Departamento De Engenharia E Tecnologia Florestal, 2005.

KOSZO, C. R. R.; RINALDI, M. C. S.; BARBEDO, C. J. Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr., *Eugenia brasiliensis* Lam. e *Cucumis sativus* L. em meio ácido. **Hoehnea**, v. 34, n. 3, p. 271–282, 2007.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OAE, 1983.

LENIHAN, P.; OROZCO, A.; O'NEILL, E. *et al.* Dilute acid hydrolysis of lignocellulosic biomass. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 2, p. 395–403, 2010.

LERSTEN, N. R. Tracheid Bar and Vestured Pits in Legume Seeds (Leguminosae: Papilionoideae). **American Journal of Botany**, v. 69, n. 1, p. 98, 1982.

LERSTEN, N. R.; GUNN, C. R.; BRUBAKER, C. L. Comparative Morpholog of the Lens on Legume ( Fabaoeae ) Seeds , with Subfamilies Caesalpinioideae and Mimosoideae. **Agricultural Research Service - Technical Bulletin**, v. 1971, p. 1–49, 1992.

LI, X.; BASKIN, JERRY M.; BASKIN, CAROL C. Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two north american *Rhus* species (Anacardiaceae). **American Journal of Botany**, v. 86, n. 11, p. 1505–1511, 1999.

LODI, I. E. **Álcool combustível (Série Indústria em Perspectiva)**. Brasília: IEL/NC, 2008.

LOLLATO, G.; SCARMINIO, I. S.; MOREIRA, E. G. Behavioral effects of aqueous and dichloromethane extracts of *Erythrina speciosa* Andrews, Fabaceae, leaves in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 939–944, 2010.

LOPES, J. C.; DIAS, P. C.; PEREIRA, M. D. Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 811–816, 2005.

LUSH, W. M.; EVANS, L. T. The seed coats of cowpeas and other grain legumes: structure in relation to function. **Field Crop Research**, v. 3, p. 267–286, 1980.

- MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C. A.; GIJZEN, M. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. **Annals of botany**, v. 94, n. 2, p. 213–28, 2004.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176–177, 1962.
- MANZONI, S.; VICO, G.; PORPORATO, A.; KATUL, G. Biological constraints on water transport in the soil–plant–atmosphere system. **Advances in Water Resources**, 2012.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005.
- MARTINS, S. V.; SILVA, D. D. DA. Maturação e época de colheita de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr.All.ex Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 1, p. 96–99, 1997.
- MEDINA, C. L.; SANCHES, M. C.; TUCCI, M. L. S. *et al.* *Erythrina speciosa* (Leguminosae-Papilionoideae) under soil water saturation: morphophysiological and growth responses. **Annals of botany**, v. 104, n. 4, p. 671–80, 2009.
- MELLO, J. I. DE O.; BARBEDO, C. J.; SALATINO, A.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. DE C. L. Reserve Carbohydrates and Lipids from the Seeds of Four Tropical Tree Species with Different Sensitivity to Desiccation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 4, p. 889–899, 2010.
- MELLO, J. I. DE O.; BRABEDO, C. J.; BARBEDO, C. J. Temperatura, luz e substrato para germinação de sementes de Pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Árvore**, v. 31, n. 4, p. 645–655, 2007.
- MILLER, S. S.; BOWMAN, L. A.; GIJZEN, M.; MIKI, B. L. A. Early Development of the Seed Coat of Soybean (*Glycine max*). **Annals of botany**, v. 84, p. 297–304, 1999.
- MORRISON, D. A.; MCCLAY, K.; PORTER, C.; RISH, S. The Role of the Lens in Controlling Heat-induced Breakdown of Testa-imposed Dormancy in Native Australian Legumes. **Annals of Botany**, v. 82, p. 35–40, 1998.
- NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, CLAUDIO; ZUCARELI, C. Maturação, formas de secagem e qualidade fisiológica de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 45–53, 2005.
- NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, CLÁUDIO; MARTINS, C. C.; OLIVEIRA, R. R. D. Intensidade de dormência durante a maturação de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 165–170, 2007.
- NAKAGAWA, J.; MORI, E. S.; PINTO, C. D. S. *et al.* Maturação e secagem de sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (Canafístula). **Revista Árvore**, v. 34, n. 1, p. 49–56, 2010.
- NIMER, R.; MOREIRA, N.; NILTON, D. E. C.; PERECIN, D. Influência de alguns fatores da planta sobre o grau de dormência em sementes de Mucuna preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 05, n. 2, p. 111–119, 1983.
- OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química nova**, v. 33, n. 7, p. 1549–1558, 2010.

OHTO, M.; STONE, S. L.; HARADA, J. J. Genetic control of seed development and seed mass. In: M. Black; Hugh W. Pritchard (Eds.); **Seed development, dormancy and germination**. p.412, 2002. CABI Publishing.

OLIVEIRA, D. M. . T.; PAIVA, E. A. S. Anatomy and ontogeny of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae: Faboideae) seed. **Brazilian journal of biology = Revista brasleira de biologia**, v. 65, n. 3, p. 483–94, 2005.

OLIVEIRA, D. M. T. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas : espécies de Phaseoleae , Sophoreae , Swartzieae e Tephrosieae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 1, p. 85–97, 2001.

PAIVA, ELDER ANTÔNIO SOUSA. Ultrastructure and post-floral secretion of the pericarpial nectaries of *Erythrina speciosa* (Fabaceae). **Annals of botany**, v. 104, n. 5, p. 937–44, 2009.

PAMMEL, L. H. **Anatomical characters of. The seeds of leguminosae, chiefly genera of gray's manual.**, 1899. St. Louis: St. Louis.

PARSONS, A. F.; PALFRAMAN, M. J. **Erythrina and Related Alkaloids**. Elsevier Inc., 2010.

PEREZ, S. C. J. G. D. A. Envoltórios. In: A. Gui Ferreira,; F. Borghetti (Eds.); **Germinação do básico ao aplicado**. p.323, 2004. Porto Alegre: Artmed.

PESSINI, G. L. .; HOLETZ, F. B. .; SANCHES, N. R. . *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. supl., p. 21–24, 2003.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; AGUIAR, I. B. D. Maturação e Dispersão de Sementes. In: I. B. D. Aguiar (Ed.); **Sementes Florestais Tropicais**. p.350, 1993. Brasília: Abrates.

POPIGINIS, F. **Fisiologia da Semente**. Brasília: Sília, 1985.

RAMSAY, G. Inheritance and linkage of a gene for testa-imposed seed dormancy in faba bean (*Vicia faba* L.). **Plant Breeding**, v. 289, p. 287–290, 1997.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; SUSAN E. EICHHORN. **Biologia Vegetal**. 5ª edição ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

RODRIGUES, A. P. D´A. C.; OLIVEIRA, A. K. M. DE; LAURA, V. A.; CHERMOUTH, K. DA S.; FREITAS, M. H. DE. Tratamentos para superação da dormência de sementes de *Adenanthera pavoniva* L. **Revista Árvore**, v. 33, n. 4, p. 617–623, 2009.

ROLSTON, M. P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 44, n. 3, p. 365–396, 1978.

SALDIVAR, X.; WANG, Y.-J.; CHEN, P.; HOU, A. Changes in chemical composition during soybean seed development. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1369–1375, 2011. Elsevier Ltd.

SAMARAH, N. H.; ALLATAIFEH, N.; TURK, M. A.; TAWAHA, A. M. Seed germination and dormancy of fresh and air-dried seeds of common vetch (*Vicia sativa* L.) harvested at different stages of maturity. **System**, p. 11–19, 2004.

SANTOS, I. R. I. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, n. Edição Especial, p. 70–84, 2000.

SANTOS, R. F. DOS; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológicos fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 2, n. 3, p. 287–294, 1998.

SANTOS, T. O. DOS; MORAIS, T. G. D. O.; MATOS, V. P. Escarificação mecânica em sementes de Chichá (*Sterculia foetida* L.). **Revista Árvore**, v. 28, n. 1, p. 1–6, 2004.

SERRATO-VALENTI, G.; VRIES, M. DE; CORNARA, L. The hilar region on *Leucaena leucocephala* Lam. (De wit) seed: Structure, Histochemistry and the role of the lens ins germination. **Annals of Botany**, v. 75, p. 569–574, 1995.

SILVA, P. E. M.; SANTIAGO, E. F.; DALOSO, D. DE M.; SILVA, E. M. DA; SILVA, J. O. Quebra de dormência em sementes de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Volumen**, v. 29, n. 2, p. 39–45, 2011.

SOUZA, F. H. D. DE; MARCOS FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 365–375, 2001.

SOUZA, S. M. DE; LIMA, P. C. F. Maturação de sementes de Angico (*Anadenanthera macorcarpa* (Benth) Brenan). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 7, n. 2, p. 93–100, 1985.

SOUZA, T. V. D.; VOLTOLINI, C. H.; SANTOS, M.; TEREZINHA, M.; PAULILO, S. Water absorption and dormancy breaking requirements of physically dormant seeds of *Schizolobium parahyba* (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Seed Science Research**, v. 22, n. 3, p. 169–176, 2012.

SZIRMAI, Á. **Anxiety and Related Disorders**. Rijeka: InTech, 2011.

TAIZ, LINCON; ZEIGER, EDUARDO. **Fisiologia Vegetal**. 3.ed. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

VENIER, P.; FUNES, G.; CARRIZO GARCÍA, C. Physical dormancy and histological features of seeds of five Acacia species (Fabaceae) from xerophytic forests in central Argentina. **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 207, n. 1, p. 39–46, 2012. Elsevier GmbH.

VITALI-VEIGA, M. J.; MACHADO, V. L. L. Visitantes florais de *Erythrina speciosa* Andr. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 17, n. 2, p. 369–383, 2000.

ZHANG, J.; ZHANG, X. Can early wilting of old leaves account for much of the ABA accumulation in flooded pea plants? **Journal of Experimental Botany**, v. 45, p. 1335–1342, 1994.