



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



CONDICIONAMENTO OSMÓTICO E GA₃ NA GERMINAÇÃO
DE SEMENTES DE ARATICUM DE TERRA FRIA
(*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer)

JULIANA IASSIA GIMENEZ

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, *Campus* de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas (Botânica), AC:
Fisiologia e Bioquímica Vegetal.

BOTUCATU-SP

2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“Júlio de Mesquita Filho”

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

CONDICIONAMENTO OSMÓTICO E GA₃ NA GERMINAÇÃO
DE SEMENTES DE ARATICUM DE TERRA FRIA

(*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer)

JULIANA IASSIA GIMENEZ

PROF^a DR^a GISELA FERREIRA

ORIENTADORA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, *Campus* de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica), AC: Fisiologia e Bioquímica Vegetal.

BOTUCATU-SP

2012

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Gimenez, Juliana Iassia.

Condicionamento osmótico e GA₃ na germinação de sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer) / Juliana Iassia Gimenez.
- Botucatu: [s.n.], 2012

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

Orientador: Gisela Ferreira

Capes: 20303009

1. Anonácea. 2. Sementes – Potencial osmótico. 3. Germinação.

Palavras-chave: Annonaceae; Açúcares solúveis; Teor de água; Reguladores vegetais; Osmocondicionamento.

“... desconfie do destino e acredite em você. Gaste mais horas realizando que sonhando, fazendo que planejando, vivendo que esperando, porque embora quem quase morre esteja vivo, quem quase vive já morreu.”

Sarah Westphal

*Dedico aos meus pais, Maria de Lourdes e José,
por amparar, confiar e cativar.*

Agradecimentos

À Deus, pela vida, pela família e pelos amigos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de Bolsa de Mestrado (133981/2010-0).

À Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI) de São Bento do Sapucaí-SP, pelo fornecimento dos frutos.

À Profa Dra Gisela Ferreira, pela amizade, orientação e confiança no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Norberto da Silva, pela amizade, incentivo e apoio desde o começo.

Aos docentes do Departamento de Botânica, especialmente à Profa Dra Carmen Silvia Fernandes Boaro, pelo amparo no período do Pós-doutorado da minha orientadora.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, especialmente à Maria Helena e ao José Eduardo, por toda a ajuda prestada.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica) e aos funcionários da Seção de Pós-graduação, pelo auxílio no decorrer do curso.

Aos meus pais, Maria de Lourdes Iassia Gimenez e José Gimenez Paterno, pelos valores de caráter transmitidos, confiança e apoio em todos os momentos e por entenderem a minha ausência. Aos meus irmãos, Valdir e Wando e, à minha “irmã” Silvia, pelo apoio, amizade e carinho de sempre. Amo vocês!

À Jaqueline Malagutti Corsato, mais que uma amiga, minha cúmplice. Por toda a ajuda na execução deste trabalho, das madrugadas em laboratório até a conclusão da dissertação. Te adoro Cascavel!

Ao João Paulo Naldi, pela amizade sincera, paciência e imensa colaboração.

Ao Daniel Baron, pela amizade e a pronta disponibilidade em realizar as muitas análises estatísticas.

Ao Sérgio Akira Adachi, pelo carinho e amizade, sem contar a calma e a paciência.

Aos colegas de Pós-graduação, Angélica, Bruno, Carmen, Catarina, Clivia, Danilo, Débora Kestring, Fábio, Fernanda, Inara, Jennifer, Juliana Cichinato, Juliana de Fazio, Letícia, Ligia, Luis Paulo, Maria Carolina, Natália, Paula de Sibio, Plácido, Raquel, Talita, Thaís, Valter e Yve, pela amizade e momentos inesquecíveis.

Aos preciosos amigos de Botucatu, Elder, Érica, Janaina Hadlich, Paula Nepomuceno, Rafael Christovam, Rita Camila, Rubiana e Viviani e muitos outros com quem sempre pude contar.

E finalmente, aos amigos, Ana Cláudia, Amanda, Eliete, Flávia, Giovana, Milena e Tiago, que mesmo distante, estão sempre presentes em minha vida.

Sumário

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Família Annonaceae.....	5
2.1.1. A espécie <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H.Rainer.....	6
2.2. Germinação	7
2.2.1. Relações hídricas.....	7
2.2.2. Substâncias de reserva.....	10
2.2.3. Reguladores vegetais.....	12
2.2.4. Condicionamento osmótico.....	13
3. CAPÍTULO I – Condicionamento osmótico e GA ₃ na germinação de sementes de <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H.Rainer (Araticum de terra fria).....	20
Resumo	21
Abstract.....	22
Introdução	23
Material e métodos.....	26
Resultados	28
Discussão	31
Referências.....	37
Tabelas e Figuras	44
4. CAPÍTULO II – Variação de açúcares solúveis em sementes de <i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento osmótico e GA ₃	51
Resumo	52
Abstract.....	53
Introdução	54
Material e métodos.....	56
Resultados	57
Discussão	61
Referências.....	66
Tabelas e Figuras	72
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	82
4. CONCLUSÕES	83
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

GIMENEZ, J.I. **CONDICIONAMENTO OSMÓTICO E GA₃ NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ARATICUM DE TERRA FRIA (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer)**. 2012. 91p. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) – INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS, UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, BOTUCATU.

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência do condicionamento osmótico e do GA₃ na germinação de sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer) e a mobilização de açúcares solúveis promovida por estes tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 x 5 (potenciais osmóticos x concentrações do regulador x teores de água) + testemunha, totalizando 126 tratamentos, com 4 repetições de 20 sementes por parcela. As sementes com o teor inicial de 10% de água foram condicionadas nos potenciais 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa (Polietileno Glicol 6000) associados com as concentrações de 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃ até a obtenção dos teores de 15, 20, 25, 30 e 35% de água, sob temperatura constante de 25°C ± 2°C. As variáveis analisadas foram porcentagem de germinação, velocidade e tempo médio de germinação, sincronização da germinação, teores de açúcares solúveis totais e perfil dos açúcares por HPLC. Para a análise de açúcares solúveis foram selecionadas as sementes condicionadas nos potenciais osmóticos 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa até obtenção dos diferentes teores de água sem o emprego de GA₃ e as sementes hidrocondicionadas (0 MPa) com o emprego das concentrações de 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃, até a obtenção dos diferentes teores de água. Verificou-se que o condicionamento das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer nos diferentes potenciais osmóticos associado às concentrações de GA₃, até as sementes atingirem os diferentes teores de água, promove alterações na germinação e nos teores de açúcares solúveis. O hidrocondicionamento sem o emprego de GA₃, até a obtenção do teor de 20% de água, promove elevada porcentagem de germinação e alta concentração de açúcares solúveis (sacarose e glicose).

Palavras-chave: Annonaceae, Açúcares solúveis, Teor de água, Reguladores vegetais, Osmocondicionamento.

GIMENEZ, J.I. OSMOPRIMING AND GA₃ IN THE GERMINATION ARATICUM DE TERRA FRIA (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer) SEEDS. 2012. 91p. DISSERTATION (MASTER'S DEGREE) – INSTITUTE OF BIOSCIENCES, UNESP – SÃO PAULO STATE UNIVERSITY, BOTUCATU.

ABSTRACT – The present study aimed to verify the influence of osmopriming and GA₃ in the germination of araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) Rainer H.) seeds and soluble sugars mobilization promoted by these treatments. The experimental design was completely randomized in factorial 5 x 5 x 5 (osmotic potential x concentrations of GA₃ x water content) + control, totaling 126 treatments with 4 replicates of 20 seeds. Seeds with 10% of initial water content were submitted to priming at 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa (Polyethylene glycol 6000), associated with concentrations 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ of GA₃ until they achieved 15, 20, 25, 30 e 35% of water content, at constant temperature of 25°C ± 2°C. The variables analyzed were germination percentage, speed and average time of germination, synchronization of germination, total soluble sugar content and profile of sugars by HPLC. For soluble sugars analysis we selected seeds conditioned in water potential 0, -0,3, -0,6, -0,9 and -1,2 MPa until obtain different water content without the use of GA₃ and hydroprimed seeds (0 MPa) with the use of concentrations 0, 250, 500, 750 and 1000 mg L⁻¹ of GA₃, until they obtained different water contents. We found that priming of *Annona emarginata* seeds at different osmotic potential associated with GA₃ concentrations, until different water content were obtained, promote alterations in the germination and soluble sugars content. The hydropriming without GA₃, until obtain 20% of water content, promotes high percentage of germination and high concentration of soluble sugars (sucrose and glucose).

Keywords: Annonaceae, Soluble sugar, Water content, Plant Growth Regulators, Osmopriming.

1. INTRODUÇÃO

O crescente interesse pela produção de frutas da família Annonaceae, principalmente a pinha ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), a atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.) (DONADIO, 1997), leva à necessidade do conhecimento de aspectos fisiológicos da germinação, visando fornecer subsídios para a produção de mudas de qualidade para a instalação de novos pomares. Desta forma, considerando que a forma de propagação mais indicada para as anonáceas comerciais é a enxertia (GEORGE; NISSEN, 1987; GAMA; MANICA, 1994), sugere-se o uso da espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainier como portaenxerto para as espécies da família Annonaceae (TOKUNAGA, 2000; SCALOPPI JUNIOR, 2007).

Conhecida popularmente como Araticum de terra fria, o emprego desta espécie como portaenxerto fundamenta-se na tolerância às podridões de raízes e colo (*Phytophthora nicotianae* var. parasítica e *Pythium* sp.) e às coleobrocas (*Cratosomus bombina*), além do seu alto desempenho em solos secos e úmidos (BONAVENTURE, 1999). Quando empregada como portaenxerto para atemóia e cherimóia, a espécie *Annona emarginata* proporciona maiores índices de sobrevivência, comprimento de ramos e número de folhas (ALMEIDA, 2009).

Neste contexto, visto que os portaenxertos são obtidos via seminífera, problemas com a formação de mudas são decorrentes da dormência presente nas sementes das espécies da família Annonaceae, o que resulta em germinação lenta e desuniforme (VIEIRA; IRBER, 1996). Para a espécie *Annona emarginata*, Costa et al. (2011) avaliando a influência de diferentes temperaturas no processo germinativo, obtiveram apenas 27% de germinação na temperatura que consideraram mais adequada (20/30°C).

Desta forma, os relatos sobre a dormência sustentam trabalhos com o emprego de reguladores vegetais, tais como em *Annona cherimola* Mill. (JUBES et al., 1975; SMET et al., 1999), *Annona muricata* L. (PINTO, 1976), *Annona squamosa* L. (FERREIRA et al., 2002; STENZEL et al., 2003), *Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L. (BRAGA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010), *Annona diversifolia* Saff. e *Annona purpurea* Moc. e Sessé ex Dunal (FERREIRA, 2011).

Em *Annona emarginata*, Corsato (2010) obteve a superação da dormência das sementes com a aplicação de 250 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina e relata, que a baixa porcentagem de germinação desta espécie pode ser consequência do balanço

hormonal entre promotores e inibidores da germinação, visto que o uso de reguladores promotores da germinação promoveu a superação da dormência.

O condicionamento osmótico, que consiste na imersão de sementes em soluções osmóticas por determinados períodos e temperaturas, tem promovido a superação da dormência e o aumento da porcentagem de germinação de várias espécies (ELKOCA et al., 2007; CHEN et al., 2010; YADAV et al., 2011). As respostas ao condicionamento osmótico são explicadas por alterações na síntese e ativação de enzimas, tais como as de mobilização de reservas, de enfraquecimento do endosperma e de eliminação de radicais livres. Além disso, processos como a sincronização do ciclo celular, aumento na produção de energia e expressão de genes promotores da germinação também são relatados com o condicionamento osmótico das sementes (VARIER et al., 2010).

Desta forma, considerando as alterações no metabolismo das sementes, promovidas pelos reguladores vegetais e pelo condicionamento osmótico, realizou-se a quantificação de açúcares solúveis, a qual pode servir como ferramenta para o entendimento de aspectos fisiológicos da germinação de sementes de *Annona emarginata*.

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo verificar a influência do condicionamento osmótico e do ácido giberélico na germinação de sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer) e a mobilização de açúcares solúveis promovida por estes tratamentos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Família Annonaceae

A família Annonaceae Juss. (1789) junto com as famílias Magnoliaceae Juss. (1789), Myristicaceae R.Br. (1810), Degeneriaceae I.W.Bailey e A.C.Sm. (1942), Eupomatiaceae Orb. (1845) e Himantandraceae Diels (1917) compõe a ordem Magnoliales Juss. ex Bercht. e J.Presl (1820), pertencente ao clado das Magnoliídeas, grupo basal das Angiospermas (APG III, 2009). Esta família tem distribuição predominantemente tropical, incluindo aproximadamente 130 gêneros e 2200 espécies. No território brasileiro, estão registrados 33 gêneros e cerca de 250 espécies, com ocorrência em praticamente todas as formações naturais (SOUZA; LORENZI, 2008).

No Brasil apenas as espécies do gênero *Annona* são cultivadas comercialmente. Destacam-se deste gênero as espécies *Annona squamosa* L. (fruta-do-conde), *Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L. (atemóia; híbrido interespecífico entre a fruta-do-conde e a cherimóia), as quais o cultivo visa a produção de frutos para consumo *in natura* e a espécie *Annona muricata* L. (graviola), explorada com a finalidade de produção de polpa industrializada (DONADIO, 1997; SCALOPPI JUNIOR, 2007).

As formas de propagação indicadas para as anonáceas comerciais são a enxertia e a estaquia, sendo a enxertia a técnica mais empregada (GEORGE; NISSEN, 1987; GAMA; MANICA, 1994). A enxertia é um método de propagação vegetativa, que consiste na união de um vegetal ou parte dele, sobre outra planta que lhe sirva de suporte e forneça água e nutrientes retirados do solo (SÃO JOSÉ, 1997).

Dentre as características da enxertia, a mais vantajosa é a possibilidade de somar aspectos favoráveis como vigor, tolerância a fatores bióticos e abióticos de uma dada espécie, de diferentes espécies e até mesmo de espécies de diferentes gêneros (HOFFMANN et al., 1996). Deste modo, em anonáceas, é importante escolher um portaenxerto que apresente ao menos, tolerância aos patógenos presentes no solo, como *Phytophthora* (CAMPBELL; PHILLIPS, 1994).

Neste contexto, os portaenxertos utilizados na técnica de enxertia são normalmente obtidos via seminífera, porém a família Annonaceae produz sementes de baixo índice germinativo, devido à presença de dormência (VIEIRA; IRBER, 1996). Segundo Baskin e Baskin (2004), a dormência é definida como a incapacidade de uma semente viável completar a germinação sob condições ambientais favoráveis.

Como causa da dormência em anonáceas, cita-se a impermeabilidade do tegumento observada nas espécies *Annona squamosa* (PAWSHE et al., 1997) e *Annona cherimola* (SMET et al., 1999). Entretanto, Ferreira et al. (1997), Ferreira et al. (2006) e Costa et al. (2011) verificaram que sementes de *Annona squamosa*, *Annona cherimola* x *A.squamosa* e *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, respectivamente, não apresentam impermeabilidade, embora a entrada de água nas sementes seja lenta e desuniforme.

Para as espécies *Annona diversifolia* Saff. e *Annona purpurea* Moc. e Sessé ex Dunal, Ferreira (2011) relata que estas espécies apresentam permeabilidade à água, sendo a dormência consequência do balanço hormonal entre promotores e inibidores da germinação. Por outro lado, para a espécie *Annona crassiflora* Mart., Rizzini (1973) relata que a baixa porcentagem de germinação é consequência da presença de embrião imaturo (dormência morfológica), porém Silva et al. (2007) afirmam que a dormência é do tipo fisiológica, ou seja, causada pelo balanço hormonal (promotores x inibidores da germinação).

2.1.1. A espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer

Como alternativa de portaenxerto para as espécies comerciais da família Annonaceae, Tokunaga (2000) e Scaloppi Junior (2007) sugerem o emprego da espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer. Esta espécie, conhecida popularmente como araticum de terra fria, é sinonímia de *Rollinia* sp. (RAINER, 2007), nativa do território brasileiro sendo encontrada desde o estado do Rio Grande do Sul até o estado de Minas Gerais, com ocorrência natural em altitudes de 950 metros (TOKUNAGA, 2000).

A espécie *Annona emarginata* possui folhas lanceoladas e lisas com bastante brilho na parte superior. As flores são em forma de hélice, perfumadas, de coloração creme, com florescimento concentrado no mês de outubro. Os frutos são cordiformes e lisos, com grande variação no tamanho, apresentando em média 4 cm de diâmetro, 3 cm de altura e 50 gramas, contendo aproximadamente 40 sementes (TOKUNAGA, 2000).

O interesse nesta espécie para uso como portaenxerto, reside na tolerância às podridões de raízes e colo (*Phytophthora nicotianae* var. parasítica e *Pythium* sp.), coleobrocas (*Cratosomus bombina*) e fungos presentes no solo, comportando-se bem em solos secos e úmidos, além de apresentar boa compatibilidade na enxertia com a copa de *Annona cherimola* x *A.squamosa* e *Annona cherimola* Mill. (BONAVENTURE, 1999). Quando utilizado como portaenxerto para a espécie *Annona cherimola* x *A.squamosa*, resulta nos maiores índices de sobrevivência, comprimento de ramos e número de folhas (ALMEIDA, 2009).

Apesar das vantagens no emprego da espécie *Annona emarginata* como portaenxerto, existem problemas com a formação de mudas, pois esta espécie apresenta baixa porcentagem e desuniformidade de germinação (COSTA et al., 2011). Corsato (2010) obteve superação da dormência empregando reguladores vegetais e relata que a dormência é decorrente do balanço hormonal nas sementes.

2.2. Germinação

A germinação compreende todos os eventos que se iniciam com a reativação do metabolismo, o qual é reduzido nas fases finais do desenvolvimento e maturação das sementes. Este processo de reativação do metabolismo é inicialmente determinado pela aquisição de água e, leva ao alongamento do eixo embrionário, ocasionando a protrusão da radícula, através das estruturas que circundam o embrião. Deste modo, a germinação é constituída por uma séria programada de reações de hidrólise e de síntese de novos tecidos, o que torna a água indispensável para o processo germinativo (BEWLEY; BLACK, 1994). Neste contexto, o estudo das relações hídricas desempenham um papel importante na compreensão de processos como o desenvolvimento e a germinação de sementes (VILLELA, 1998).

2.2.1. Relações hídricas

Com base no exposto acima, infere-se que as sementes apresentam relações hídricas específicas e considerando que os processos ocorrem sob condições constantes de temperatura e posição, os potenciais de temperatura e gravitacional tornam-se nulos. Deste modo, o potencial hídrico da semente é expresso pela soma de três componentes (VILLELA; MARCOS FILHO, 1998; CASTRO et al., 2004):

$$\Psi = \Psi_{\pi} + \Psi_m + \Psi_p$$

onde:

Ψ_{π} : potencial osmótico

Ψ_m : potencial matricial

Ψ_p : potencial de pressão

O potencial osmótico (Ψ_{π}) é determinado em função da concentração de solutos. A energia da água na presença de solutos é inferior à água pura, pois quando solutos são

adicionados, a água usa energia para dissolvê-los, diminuindo assim seu potencial químico. O potencial matricial (Ψ_m) expressa o número de sítios de ligação da água, tais como amido e algumas proteínas, que atuam como matrizes com superfícies de afinidade pela água. O potencial de pressão (Ψ_p), também denominado potencial de turgor, é definido pela pressão que a parede celular exerce sobre o conteúdo celular, quando a célula está túrgida (BEWLEY; BLACK, 1994; VILLELA; MARCOS FILHO, 1998; CASTRO et al., 2004).

A atividade fisiológica da semente está diretamente relacionada ao seu teor de água, visto que a captação de quantidade considerável de água é imprescindível para o reinício das atividades metabólicas da semente após a maturidade (MARCOS FILHO, 2005). Deste modo, são observados cinco tipos de água nas sementes, com ocorrência de diferentes reações metabólicas em cada um deles.

O tipo 1 é a água considerada estrutural, presente em sementes com teores de água inferiores a 7,5% ($\Psi < -150$ MPa), nas quais a atividade metabólica é restrita. O tipo 2 está presente em sementes com teor de água entre 7,5% (-150 MPa) e 20% (-11 MPa), observando-se reações catabólicas sob a ação de enzimas. A água do tipo 3 é observada em sementes com teor de água entre 20% (-11 MPa) e 33% (-4 MPa), nas quais há o início do metabolismo, a respiração é intensificada, porém os sistemas de reparo ainda não estão ativados. A água do tipo 4 é observada em sementes com teores de água entre 33% (-4 MPa) e 41% (-1,5 MPa), nas quais ocorrem processos necessários à germinação, como a síntese protéica, além dos mecanismos de reparo de DNA. Finalmente a água do tipo 5, presente em sementes com teores de água superiores a 41% ($\Psi > -1,5$ MPa), sendo observadas alterações nos padrões de síntese de ácidos nucléicos e proteínas (VILLELA; MARCOS FILHO, 1998).

Ainda considerando as relações hídricas da semente, observa-se de modo geral, que o processo de aquisição de água segue um padrão trifásico (BEWLEY; BLACK, 1994). A fase I, ou fase de embebição, é dirigida pelo gradiente de potencial hídrico entre a semente e seu ambiente, considerando que a água movimenta-se sempre do maior para o menor potencial hídrico. Esta fase é controlada principalmente pelo potencial matricial (Ψ_m), de ocorrência em qualquer material, vivo ou morto, que contenha sítios de ligação ou de afinidade pela água (CASTRO et al., 2004).

A fase I constitui a fase mais crítica do processo germinativo, pois a rápida entrada de água na semente pode ocasionar injúrias à membrana, como por exemplo irregularidades (dobras, proeminências e obstruções) (HOEKSTRA et al., 1999), causadas pelo realinhamento incompleto ou incorreto das proteínas na camada dupla de lipídeos durante a reidratação (MARCOS FILHO, 2005).

Nesta fase, observa-se o início da degradação das substâncias de reserva, sendo estas desdobradas em substâncias de menor tamanho, facilitando o transporte (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A atividade respiratória aumenta rapidamente com a embebição, a partir de conteúdo de água em torno de 20%. O acúmulo de ATP segue a atividade respiratória aeróbica, sendo requerido para processos que exigem energia, associados ao crescimento do embrião. Além disso, a síntese de proteínas é iniciada, utilizando RNAs mensageiros recém-sintetizados (CASTRO et al., 2004).

Em sementes de *Annona emarginata*, Costa et al. (2011) observaram que a fase I de aquisição de água teve duração entre 60 e 72 horas, dependendo da temperatura, no qual as sementes atingiram teores de água entre 27,85% e 28,35%. Vale lembrar que a velocidade de aquisição e a quantidade de água adquirida variam com a natureza e a composição do tegumento (COLL et al., 2001). Neste contexto, variações na duração da fase I foram observadas entre espécies do gênero *Annona*. Sementes de *Annona cherimola* x *A. squamosa* apresentaram mudança entre as fases I e II após 27 horas de embebição em água (FERREIRA et al., 2006), ao passo que espécies como *Annona squamosa* e *Annona crassiflora* apresentaram mudança entre as fases I e II com menor tempo de embebição, 5 e 7 horas, respectivamente (FERREIRA et al., 1997; MELO, 2005).

Na fase II o conteúdo de água na semente alcança um nível platô, mantendo-se relativamente constante ou aumentando pouco e lentamente (CASTRO et al., 2004). As substâncias desdobradas na fase I são transportadas do tecido de reserva para o tecido meristemático (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Nesta fase são ativados processos metabólicos necessários para o crescimento do embrião e conclusão da germinação. Em algumas espécies, o crescimento inicial do embrião envolve apenas a expansão das células existentes, enquanto em outras espécies também ocorrem divisões celulares (CASTRO et al., 2004).

Na fase III as substâncias transportadas na fase II são reorganizadas em substâncias complexas para formar o protoplasma e as paredes celulares, promovendo o crescimento do eixo embrionário (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Esta fase é marcada por um aumento no conteúdo de água da semente, que acontece devido à absorção associada com o início do crescimento do embrião (CASTRO et al., 2004). Portanto, atingindo a fase III tem fim o processo germinativo, com a emissão da raiz primária e o início do desenvolvimento da plântula (HADAS, 1976), no qual verifica-se a importância da água para a reativação do metabolismo, sendo este mantido pelo fornecimento de energia originada da degradação de reservas.

2.2.2. Substâncias de reserva

A germinação se inicia utilizando as reservas presentes na estrutura do próprio embrião e é mantida, à medida que o processo germinativo avança, com a degradação dos componentes do tecido de reserva da semente e direcionamento destes às regiões de crescimento (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). E neste contexto, o conhecimento da composição das sementes é importante pois tanto o vigor como o potencial de armazenamento são influenciados pelo teor dos compostos presentes. Assim, dentre os componentes químicos presentes em uma semente destacam-se três grupos: lipídios, proteínas e carboidratos (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Os lipídios se constituem no principal material de reserva de diversas espécies cultivadas, tais como *Euphorbia heterophylla* L. (SUDA; GIORGINI, 2000) e *Annona emarginata* (CORSATO, 2010), sendo armazenados na forma de triglicerídeos. Por meio da gliconeogênese os lipídios são hidrolisados resultando em glicerol e ácidos graxos livres. O glicerol é utilizado na síntese de glicose, ao passo que os ácidos graxos livres são degradados gerando acetil, que também será utilizado na síntese de glicose ou na respiração. De modo geral, a glicose é utilizada na síntese de sacarose, a qual é transportada para o eixo embrionário (BUCKERIDGE et al., 2004).

As proteínas podem apresentar diferentes funções e, por este motivo são classificadas em metabolicamente ativas e metabolicamente inativas. As proteínas metabolicamente inativas são utilizadas para a formação de novos tecidos nos pontos de crescimento do embrião (MARCOS FILHO, 2005) sendo classificadas em quatro grupos, conforme sua solubilidade, compreendendo as albuminas, globulinas, glutelinas e prolaminas (BUCKERIDGE et al., 2004; SUDA; GIORGINI, 2000). As proteínas metabolicamente ativas são representadas pelas enzimas e as nucleoproteínas (MARCOS FILHO, 2005).

A hidrólise das proteínas é realizada pelas proteases (BUCKERIDGE et al., 2004) e durante a germinação, a quebra de proteínas forma um reservatório de pequenos peptídeos e aminoácidos. Estas substâncias são translocadas para as regiões de crescimento embrionário (LIMA et al., 2008) e utilizadas para a formação de tecidos ou participação em reações da cadeia respiratória (MARCOS FILHO, 2005).

Os carboidratos são divididos em três grandes grupos: monossacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. Este último grupo é constituído pela celulose e hemicelulose, que são constituintes da parede celular e, pelo amido que é formado principalmente por sacarose, sendo armazenado na forma de amilose e amilopectinas. No grupo dos monossacarídeos estão as pentoses (ribose e desoxirribose) e as hexoses tais como

a glicose, frutose, levulose e galactose. Já os oligossacarídeos, formados pela conexão de dois a dez monossacarídeos, são representados pela sacarose, lactose, maltose, rafinose e estaquiiose (MARCOS FILHO, 2005).

Considerando a diversificação na composição química das sementes, verifica-se que as sementes de *Annona emarginata* possuem grande variação na composição dos açúcares solúveis. Sementes recém-extraídas (31% água) apresentam a glicose como açúcar predominante (65%), enquanto frutose (20%), *myo*-inositol (8%), sacarose (3,92%) e rafinose (0,06%) estão presentes em menores concentrações (CORSATO, 2010). Estes açúcares são utilizados como fonte primária de energia na retomada do crescimento embrionário, inicialmente determinado pela aquisição de água, seguida pela mobilização de reservas para a formação de novas estruturas celulares ao longo do processo de germinação (LABORIAU, 1970).

Com a aquisição de água, sementes quiescentes secas retomam rapidamente sua atividade metabólica (BEWLEY, 1997) e junto à reidratação dos tecidos da semente observa-se normalmente, o reparo de componentes celulares como membranas e ácidos nucléicos, naturalmente danificados com a desidratação durante a maturação/secagem (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2005). O reparo de componentes celulares por sua vez envolve o gasto de energia e, para isso, sacarose e oligossacarídeos da série rafinósica são degradados (BUCKERIDGE et al., 2004). Este processo de quebra de reservas é realizado por enzimas hidrolíticas, as quais podem ser ativadas ou sintetizadas *de novo*, junto com a reativação do metabolismo das sementes (BEWLEY, 1997; MARCOS FILHO, 2005). Neste contexto, a invertase é a enzima responsável pela hidrólise da sacarose produzindo frutose e glicose livres, enquanto a α -galactosidase é responsável pela hidrólise das unidades de galactose dos oligossacarídeos da série rafinósica (BUCKERIDGE et al., 2004).

Já o processo de degradação do amido envolve várias enzimas, destacando-se a α -amilase, β -amilase, amido fosforilase e α -glucosidase. Entretanto, somente a α -amilase é capaz de hidrolisar diretamente os grânulos de amido, transformando-os em moléculas de oligossacarídeos solúveis. Estes oligossacarídeos são hidrolisados pela β -amilase, liberando a maltose, que sofre a ação da α -glucosidase ou da maltase, sendo degradada a glicose (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Portanto, verifica-se que ao longo do processo germinativo, as substâncias de reserva da semente são quebradas em substâncias solúveis, fornecendo energia e matéria para que o processo de germinação ocorra.

2.2.3. Reguladores vegetais

Dentre os fatores que controlam o processo de germinação, estão os níveis endógenos de hormônios, que promovem alterações no estado fisiológico e bioquímico culminando na retomada do desenvolvimento embrionário. Estas alterações são complexas e convergem para a ativação e síntese *de novo* de enzimas hidrolíticas, as quais quebram as moléculas de reservas, utilizadas para o crescimento do eixo embrionário (FINCHER, 1989; MARCOS FILHO, 2005). Neste contexto, o processo de mobilização de reservas em sementes é controlado pelos hormônios vegetais.

Os sinais do ambiente são traduzidos em sinais internos na semente em nível molecular, que podem induzir a ativação ou a inativação de compostos e/ou reações metabólicas diversas (BEWLEY, 1997; BRADFORD et al., 2000). Deste modo, a correlação entre a mobilização de reservas e os hormônios vegetais, pode auxiliar na compreensão do processo germinativo de sementes de anonáceas.

Os relatos sobre a dormência presente em sementes de espécies pertencentes à família Annonaceae sustentam trabalhos com o emprego de reguladores vegetais. Neste contexto, trabalhos foram realizados com a aplicação de ácido giberélico (GA_3) em sementes de *Annona diversifolia* (CAMPBELL; POPENOE, 1968), *Annona muricata* (PINTO, 1976), *Annona squamosa* (PAWSHE et al., 1997; FERREIRA et al., 2002; STENZEL et al., 2003), *Annona reticulata* (VALENZUELA; OSÓRIO, 1998) e *Annona cherimola* (JUBES et al., 1975; SMET et al., 1999).

Braga et al. (2010) trabalhando com sementes de *Annona cherimola* x *A.squamosa*, obtiveram as maiores porcentagens de germinação aplicando 520 mg L^{-1} de GA_3 ou 329 mg L^{-1} de GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-aminopurina (89,44% e 95,45%, respectivamente), ao passo que o uso de bioestimulante constituído por Giberelina+Citocinina+Auxina, não promoveu incremento no processo germinativo.

Além destes trabalhos, Silva et al. (2007) obtiveram incremento na taxa germinativa de sementes de *Annona crassiflora* utilizando os reguladores GA_{4+7} na concentração de 500 mg L^{-1} . Em sementes de *Annona emarginata*, Costa et al. (2011) observaram baixa porcentagem de germinação (27%) mesmo na temperatura considerada mais adequada (20/30°C). Os autores ainda verificaram que o emprego dos reguladores vegetais GA_{4+7} + N-(fenilmetil)-1H-6-aminopurina proporcionou 37% de germinação, que ocorreu de forma desuniforme e não sincronizada. Por outro lado, Corsato (2010) obteve 70,5% de germinação empregando 250 mg L^{-1} do mesmo regulador vegetal. Não foram encontrados trabalhos que relatem a aplicação de GA_3 nas sementes de *Annona emarginata*.

Na germinação, a giberelina promove a produção e/ou reativação de várias enzimas hidrolíticas envolvidas na solubilização das reservas do endosperma (TAIZ; ZEIGER, 2010). Estas enzimas digerem as reservas armazenadas no endosperma, formando açúcares, aminoácidos e ácido nucléicos, que são absorvidos e transportados para as regiões de crescimento do embrião, estimulando o alongamento celular e fazendo com que a raiz rompa o tegumento da semente, acelerando a germinação e com maior uniformidade (HOPKINS, 1999).

A giberelina atua, principalmente, induzindo a expressão do gene da α -amilase. Neste contexto, foi demonstrado que o ácido giberélico aumenta o nível de RNAm a ser traduzido em α -amilase (TAIZ; ZEIGER, 2010; TAKAHASHI et al., 1991) e outras hidrolases (FINCHER, 1989) nas camadas de aleurona de sementes de gramíneas.

Este hormônio também está envolvido na síntese de enzimas que atuam na degradação de polissacarídeos de reserva de parede celular (endo- β -mananases, expansinas), causando o enfraquecimento dos tegumentos, evento relacionado principalmente à protrusão da radícula (BEWLEY; BLACK, 1994). Trabalhando com a espécie *Annona crassiflora*, Silva et al. (2007) observaram que a aplicação exógena de GA₄₊₇ levou a ativação da enzima endo- β -mananase, responsável pela hidrólise de paredes celulares constituídas por galactomananos, o que por sua vez promoveu aumento na porcentagem de germinação.

Durante a germinação, os efeitos das giberelinas são antagonizados por determinados compostos químicos, como o ácido abscísico (ABA). O ABA é um hormônio vegetal que regula muitos processos fisiológicos nas plantas, tais como o desenvolvimento de sementes (tolerância à dessecação, deposição de produtos de reserva, dormência), abertura e fechamento estomático, além de respostas adaptativas das plantas às condições de estresse (ZEEVAART; CREELMAN, 1988). Neste contexto, o ABA está diretamente relacionado à promoção e manutenção da dormência em sementes (ALI-RACHEDI et al., 2004; KERMODE, 2005; HUARTE; BENECH-ARNOLD, 2010).

2.2.4. Condicionamento osmótico

Considerando a ocorrência de diferentes reações metabólicas relacionadas ao teor de água da semente, trabalhos são desenvolvidos envolvendo a adição de água até as sementes atingirem determinado estado metabólico, os quais são referidos como condicionamento fisiológico de sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Diferentes formas de condicionamento são utilizadas atualmente, tais como o hidrocondicionamento que envolve a imersão em água, o halocondicionamento que consiste

na imersão em soluções salinas, o matricionamento que é a adição das sementes em uma mistura de água e material sólido tais como vermiculita ou areia, o bio-condicionamento que consiste no revestimento das sementes com bactérias e imersão em água quente e o condicionamento pelo “método do tambor” onde as sementes são hidratadas em uma câmara de rotação – “tambor” (VENKATASUBRAMANIAN; UMARANI, 2007).

Dentre os tratamentos pré-germinativos mais promissores cita-se o condicionamento osmótico (CARVALHO et al., 2000; NUNES et al., 2000; BITTENCOURT et al., 2004; MENEZES, et al., 2006). Esta técnica, proposta por Heydecker e Gibbins (1978), consiste na imersão das sementes em uma solução osmótica por determinados períodos e temperaturas, na qual a entrada de água ocorre em menor velocidade e de maneira controlada (VARIER et al., 2010).

O controle da aquisição de água pelas sementes também pode ser utilizado com o objetivo de não permitir a emergência da raiz primária, evitando danos ao embrião, até que a semente seja submetida a condições favoráveis de germinação (WANLI et al., 2001). Além disso, no caso do condicionamento osmótico, sementes com diferentes velocidades de germinação podem ser levadas ao mesmo estágio de desenvolvimento (TAYLOR et al., 1998), permitindo que as sementes de menor vigor (emergência mais lenta) nivelem-se qualitativamente com as de maior vigor durante a embebição controlada, resultando em germinação uniforme, mesmo em condições desfavoráveis (GUIMARÃES et al., 1993).

De acordo com Bradford (1986) para se obter resultados superiores com o condicionamento osmótico, é necessário o estabelecimento de um protocolo que conste de condições ideais para cada espécie, tais como a secagem após o condicionamento, agente e potencial osmótico e período de duração do tratamento. A espécie e o vigor das sementes também são fatores que afetam o sucesso da técnica de condicionamento.

Independente da técnica de condicionamento empregada, a secagem é um fator importante a ser definido. Deste modo, as sementes condicionadas podem ser ou não secas ao seu teor de água inicial e, quando secas, podem ser armazenadas por períodos variáveis, dependendo da espécie (HEYDECKER et al., 1975).

Em trabalho realizado com sementes de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.), Barbedo et al. (1997) obtiveram germinação superior a 35% em sementes secas após o osmocondicionamento (-0,4 MPa) e armazenadas por oito meses em ambiente não controlado, enquanto a testemunha não germinou. Entretanto, em sementes de mamão (*Carica papaya* L.), Lopes e Souza (2008) observaram que a secagem das sementes após o condicionamento osmótico ocasiona redução na taxa de germinação, independente dos potenciais osmóticos

empregados. Esta redução pode ser devido a semente ter alcançado um nível avançado no processo de germinação, na qual a secagem ocasionou a morte do embrião (TAYLOR et al., 1998).

Diversas substâncias são empregadas como agentes osmóticos no condicionamento das sementes. Dentre as substâncias mais utilizadas, estão os sais inorgânicos cloreto de sódio (NaCl), nitrato de potássio (KNO₃), sulfato de magnésio (MgSO₄), cloreto de magnésio (MgCl₂), ortofosfato de potássio (KH₂PO₄), sulfato de manganês (MnSO₄), os açúcares manitol e sorbitol e outras substâncias como polietilenoglicol e glicerol (HEYDECKER; COOLBEAR, 1977).

De modo geral, para cada espécie é definido um agente osmótico que promove as maiores respostas à técnica de condicionamento. Em sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) Tiryaki e Buyukcingil (2009) observaram que o condicionamento osmótico em PEG apresentou maior porcentagem de germinação quando comparado a outras substâncias de condicionamento (NaCl, KNO₃, glicerol e ácido bórico). Por outro lado, quando testados o PEG, NaCl e manitol como meio de condicionamento de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), as maiores taxas germinativas foram obtidas utilizando manitol na concentração de 4% (KAUR et al., 2002).

Neste contexto, verifica-se que o soluto mais empregado é o polietilenoglicol (PEG), um polímero de elevado peso molecular, inerte, não tóxico e que não penetra nas células. É encontrado com pesos moleculares de 4.000 a 12.000 daltons, sendo os de 6.000 e 8.000 os mais utilizados. As sementes podem ser imersas diretamente na solução (com necessidade de sistema de aeração artificial) ou distribuídas entre camadas de papel-toalha ou de filtro umedecidos com quantidade pré-estabelecida da solução (MARCOS FILHO, 2005).

Smith e Coob (1992) relatam que a lenta hidratação da semente durante o condicionamento osmótico proporciona maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas celulares, dando possibilidade aos tecidos, de se desenvolverem de maneira ordenada, reduzindo os riscos de danos ao eixo embrionário. Burgass e Powell (1984) sugerem que parte do aumento na germinação observada em sementes osmocondicionadas, advém da reparação da deterioração sofrida pela semente durante a maturação, sendo este um dos fatores que mais contribui para os benefícios alcançados pelo condicionamento osmótico (POWELL, 1998). Além disso, o condicionamento osmótico leva ao acúmulo de solutos (açúcares, ácidos orgânicos e íons), provenientes do início do metabolismo da semente, resultando em maior turgor na reidratação e promovendo a emergência da raiz primária em menor espaço de tempo, além de maior porcentagem de germinação (BRADFORD, 1986).

Embora o condicionamento osmótico seja a técnica mais empregada (PARERA; CANTLIFFE, 1994), em algumas espécies o seu uso tem promovido resultados inferiores ao condicionamento das sementes somente em água. Assim, trabalhos têm mostrado que o hidrocondicionamento é uma técnica efetiva no tratamento das sementes (JELLER; PEREZ, 2003; VENKATASUBRAMANIAN; UMARANI, 2007; PINEDO; FERRAZ, 2008; MARCOS FILHO; KIKUTI, 2008; ANESE et al., 2011).

Farooq et al. (2006) observaram que o hidrocondicionamento de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) provomeu redução no tempo médio de germinação, além de aumento na taxa germinativa e no vigor de plântulas, resultados estes também obtidos em sementes hidrocondicionadas de milho (*Zea mays* L.) (MORADI; YOUNESI, 2009). O hidrocondicionamento de sementes de lentilha (*Lens culinaris* Medik) promoveu aumento no vigor e no estabelecimento de plântulas em campo, demonstrando ser um método simples, que não requer equipamentos especiais devido ao uso somente de água como meio de condicionamento, constituindo um dos métodos mais baratos (GHASSEMI-GOLEZANI et al., 2008).

Osmo e hidrocondicionamento são técnicas baseadas na hidratação incompleta da semente, a qual permite certas atividades metabólicas e mecanismos de reparo (TOSELI; CASENAVE, 2003). Deste modo, considerando que cada período de condicionamento resulta em um nível de hidratação na semente, diferentes reações metabólicas são ativadas, visto que a atividade fisiológica da semente está diretamente relacionada ao seu teor de água (MARCOS FILHO, 2005). Neste contexto, pesquisas são desenvolvidas avaliando a duração do condicionamento, porém sem informações do grau de umidade que apresentaram maiores respostas à técnica (TOSELI; CASENAVE, 2003).

Elkoca et al. (2007) investigando o efeito de diferentes períodos (12, 24 e 48 horas) de condicionamento osmótico de sementes de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), observaram que o hidrocondicionamento por 12 horas resultou em maior sincronização e velocidade de germinação, ao passo que, o condicionamento nos diferentes potenciais osmóticos por 48 horas promoveu decréscimo drástico na porcentagem de germinação e outros índices analisados. Sguarezzi et al. (2001) observaram maior porcentagem germinação quando as sementes de café (*Coffea arabica* L.) foram condicionadas (0; -0,5; -1,0 e -1,5 MPa) pelo período de 4 dias, enquanto o condicionamento por 12 dias acarretou decréscimo na porcentagem de germinação. Ambos autores atribuem a redução na taxa de germinação à possível deficiência de oxigênio nas soluções ao longo do tempo, o qual pode ter alterado de alguma forma a qualidade fisiológica das sementes.

Várias pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de elucidar as alterações de caráter fisiológico e bioquímico, que ocorrem nas sementes submetidas ao condicionamento. Alterações na atividade de várias enzimas associadas com o processo de germinação, são observadas em resposta ao condicionamento (ELLA et al., 2011). O osmocondicionamento e o hidrocondicionamento estão envolvidos na síntese e ativação inicial de enzimas de quebra e mobilização de reservas (VARIER et al., 2010). Estes tratamentos ativam enzimas de mobilização de reservas, tais como α e β -amilases (carboidratos) e Isocitrato liase (lipídeos) (FU et al., 1988; SUNG; CHANG, 1993) e enzimas de enfraquecimento de endosperma, tais como a endo- β -mananase (paredes constituídas de galactomananos) (ANESE et al., 2011).

Análises proteômicas detectaram durante o hidrocondicionamento um aumento na quantidade de enzimas antioxidantes tais como a Catalase e a Superóxido Dismutase, as quais eliminam radicais livres (ZHANG et al., 2007). O condicionamento inicia um estresse oxidativo, o qual gera espécies reativas de oxigênio, sendo estas enzimas então sintetizadas em resposta ao estresse para minimizar os danos celulares (BAILLY et al., 2000; FARHOUDI et al., 2011).

O condicionamento de sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) promoveu maior estabelecimento e sobrevivência de plântulas sob condições de baixa oxigenação (ELLA et al., 2011). Estes resultados proporcionados pelo condicionamento são atribuídos à baixa peroxidação de lipídeos causada pela alta atividade das enzimas Catalase e Superóxido Dismutase.

Cabe lembrar, que a peroxidação de lipídeos causa alterações nas propriedades “físico-químicas” das membranas fosfolipídicas, levando à perda de conteúdos celulares, afetando a atividade respiratória de mitocôndrias e a capacidade de fixação de carbono. Além disso, os autores observaram alta atividade de α e β -amilases, que pode de alguma maneira, ter ocorrido devido ao avanço no processo germinativo e sugerem que o condicionamento pode acelerar a mobilização de carboidratos sob tais condições.

Processos como a sincronização das fases do ciclo celular, aumento na produção de ATP e expressão de genes são efeitos fisiológicos relatados em consequência do condicionamento (VARIER et al., 2010).

Neste contexto, cita-se também a superação da dormência de sementes de diferentes espécies. Suñé et al. (2002) obtiveram superação da dormência, com alta porcentagem de germinação, após o condicionamento de sementes de *Adesmia latifolia* (Spreng.).

Em variedades termosensíveis de alface (*Lactuca sativa* L.), a germinação é reduzida ou não ocorre em temperaturas altas, pois estas inibem a produção de etileno, que por sua vez

está envolvido na ativação da enzima endo- β -mananase. Deste modo, o condicionamento destas sementes no potencial -1,2 MPa superou o efeito inibitório de altas temperaturas, sem a necessidade de aplicação exógena de etileno (NASCIMENTO et al., 2000).

Hidro e osmocondicionamento também têm proporcionado aumento na taxa germinativa e uniformidade de sementes sob condições de estresse ambiental (TAYLOR et al., 1998). Jeller e Perez (2003) trabalhando com semente de cássia-do-nordeste (*Cassia excelsa* Schrad.), obtiveram maior porcentagem de germinação em condições de estresse hídrico e temperaturas sub e supra-ótima, após o condicionamento nos potenciais -0,2 a -0,8 MPa. Os efeitos do estresse hídrico e salino foram reduzidos durante a germinação de sementes de quatro genótipos de *Amaranthus* sp., osmocondicionadas no potencial -0,1 MPa (MOOSAVI et al., 2009).

O condicionamento osmótico e o hidrocondicionamento também têm sido realizados com a associação de reguladores vegetais, tais como Ácido Giberélico (MENDONÇA et al., 2005; MENEZES et al., 2006; LOPES; SOUZA, 2008), Metil Jasmonato (TIRYAKI et al., 2005), Ácido Acetil Salicílico (KORKMAZ, 2005) e Benzilaminopurina (TIRYAKI et al., 2004). Deste modo, há a possibilidade de somar os efeitos do condicionamento e dos reguladores, para a promoção da germinação.

Em sementes de melância (*Citrulus lanatus* (Thunb.) Matsum. e Nakai.), o condicionamento osmótico associado ao metil jasmonato aumentou a porcentagem de germinação e a emergência sob baixas temperaturas (KORKMAZ et al., 2004). A inclusão concomitante de dois hormônios ao meio de condicionamento de sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) foi testada por Tiryaki e Buyukcingil (2009). Entretanto, os autores observaram que o condicionamento em solução de 300 g L⁻¹ de PEG associado somente à benziladenina (citocinina sintética) é suficiente para promover o aumento na taxa germinativa sob baixas temperaturas.

Deste modo, verifica-se que as técnicas de condicionamento promovem alterações fisiológicas nas sementes, capazes de promover o aumento na porcentagem e velocidade de germinação, além da superação da dormência de algumas espécies.

Conforme estabelecido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), os resultados obtidos neste trabalho foram reunidos em capítulos, redigidos na forma de artigos segundo as normas da Revista *Seed Science Research*:

Capítulo I: Condicionamento osmótico e GA₃ na germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer (Araticum de terra fria)

Capítulo II: Variação de açúcares solúveis em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento osmótico e GA₃

3. CAPÍTULO I

Condicionamento osmótico e GA₃ na germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer (Araticum de terra fria) *

Juliana I. Gimenez^{1,2} e Gisela Ferreira¹

¹ Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista - UNESP.

² Autor para correspondência: julianaiassia@gmail.com

* Parte integrante da Dissertação do primeiro autor (CNPq 133981/2010-0)

Resumo - O objetivo deste trabalho foi verificar a influência do condicionamento osmótico com diferentes potenciais osmóticos e diferentes teores de água nas sementes, associado ao uso de GA₃ na germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer. As sementes com o teor de água inicial de 10% foram condicionadas nos potenciais 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa associados com as concentrações de 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃ até a obtenção dos teores de 15, 20, 25, 30 e 35% de água, sob temperatura constante de 25°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 x 5 (potenciais osmóticos x concentrações de GA₃ x teores de água) + testemunha, totalizando 126 tratamentos, com 4 repetições de 20 sementes por parcela. Ao término do período de condicionamento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, analisando-se a porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação e índice de sincronização. O condicionamento em cada um dos potenciais empregados promoveu redução da porcentagem de germinação à medida que aumentou o teor de água (30% e 35%) adquirido pelas sementes, mesmo com o uso do GA₃, sendo as maiores porcentagens de germinação obtidas com o condicionamento das sementes até a obtenção de 20% de água. O emprego do GA₃ foi efetivo para promover aumento na porcentagem de germinação, quando as sementes foram hidrocondicionadas até atingirem 15% de água. Desta forma, verifica-se que o condicionamento sob diferentes potenciais osmóticos, associado às concentrações de GA₃, com a obtenção de diferentes teores de água, promove alterações no processo germinativo das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, refletindo em maiores porcentagens de germinação quando emprega-se o hidrocondicionamento até as sementes atingirem 20% de água.

Palavras-chave: Annonaceae, giberelina, teor de água, potenciais osmóticos.

Abstract - The present study aimed to verify the influence of osmopriming with different osmotic potential and different water content, associated with the use of GA₃ in the germination of *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer seeds. Seeds with 10% of initial water content were submitted to priming at 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa potentials associated with GA₃ concentrations of 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ until they achieved 15, 20, 25, 30 e 35% of water content, at constant temperature of 25°C. The experimental design was completely randomized in factorial 5 x 5 x 5 (osmotic potential x concentrations of GA₃ x water content) + control, totaling 126 treatments with 4 replicates of 20 seeds. By the end of the priming period, the seeds were submitted to germination tests, analyzing the germination percentage, germination speed index, average time of germination and index of synchronization. The priming of the seeds in each osmotic potential promoted a decrease of germination percentages as the water content increase obtained by seeds (30% and 35%), even with the use of GA₃, being the highest germination percentages obtained with priming of seeds until they reach 20% of water content. The use of GA₃ was effective to promote increase of germination percentage, when seeds were hydroprimed until reach 15% of water content. Therefore, the priming under different osmotic potentials associated with GA₃ concentrations, until different water content, promotes alterations in the germinative process of *Annona emarginata* seeds, reflecting in higher germination percentages when seeds are hydroprimed until reach 20% water content.

Keywords: Annonaceae, gibberellin, water content, osmotic potential.

Introdução

No Brasil é crescente o interesse pela produção de frutas da família Annonaceae, principalmente a pinha ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), a atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.) (Donadio, 1997), o que leva à necessidade de um número cada vez maior de mudas de qualidade para a instalação de novos pomares. Além deste aspecto, espécies como *Annona crassiflora* Mart. apresentam propriedades medicinais (Santos *et al.*, 1996), aumentando cada vez mais o interesse na família Annonaceae.

A propagação das anonáceas tem início com a germinação das sementes para a formação de mudas, visando a perpetuação das espécies ou ainda, para a produção de portaenxerto para as espécies comerciais. A enxertia é um dos métodos mais indicados para as espécies comerciais por garantir a seleção clonal (George e Nissen, 1987; Gama e Manica, 1994).

Neste contexto, como alternativa de portaenxerto, sugere-se o emprego do Araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer) (Tokunaga, 2000). Esta espécie, sinônimo de *Rollinia* sp. (Rainer, 2007) possui tolerância às podridões de raízes e colo (*Phytophthora nicotianae* e *Pythium* sp.), às coleobrocas (*Cratosomus bombina*) e resistência a fungos presentes no solo, apresentando bom desempenho em solos secos e úmidos (Scaloppi Junior, 2007). Além disso, quando utilizado como portaenxerto para atemóia, resulta nos maiores índices de sobrevivência, comprimento de ramos e número de folhas (Almeida, 2009).

As espécies pertencentes à família Annonaceae produzem sementes com variados níveis de dormência, o que resulta em baixo índice germinativo (Vieira e Irber, 1996). Várias técnicas são utilizadas com o objetivo de superar a dormência e aumentar a porcentagem de germinação de diferentes espécies, neste contexto, cita-se o condicionamento osmótico (Farooq *et al.*, 2006; Yari *et al.*, 2012) e os reguladores vegetais (Ferreira *et al.*, 2002a; Zucareli *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2010).

O condicionamento osmótico, proposto por Heydecker e Gibbins (1978), consiste na imersão das sementes em uma solução osmótica por períodos de exposição e temperatura determinados. Desta maneira, é possível controlar a velocidade de embebição de água, permitindo a ocorrência dos processos fisiológicos iniciais (fases I e II do processo de germinação), porém, sem atingir umidade suficiente para que ocorra o alongamento celular e, conseqüentemente a emergência da raiz primária (fase III) (Bradford, 1986).

O condicionamento das sementes somente em água, denominado hidrocondicionamento, também tem sido empregado em larga escala por promover o aumento de índices germinativos, tais como porcentagem, velocidade e sincronização da germinação, (Venkatasubramanian e Umarani, 2007; Marcos Filho e Kikuti, 2008; Yari *et al.*, 2010; Anese *et al.*, 2011). O hidrocondicionamento de sementes de *Oryza sativa* L. por 48 horas promoveu redução no tempo médio de germinação, além de aumento na taxa germinativa e no vigor de plântulas (Farooq *et al.*, 2006). Em sementes de *Lens culinaris* Medik, esta técnica promoveu aumento no vigor e no estabelecimento de plântulas em campo, em relação à testemunha (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2008).

Osmo- e hidrocondicionamento são técnicas baseadas na hidratação incompleta da semente, a qual permite certas atividades metabólicas e mecanismos de reparo (Toseli e Casenave, 2003). Deste modo, considerando que cada período de condicionamento resulta em um nível de hidratação na semente, diferentes reações metabólicas são ativadas, visto que a atividade fisiológica da semente está diretamente relacionada ao seu teor de água (Marcos Filho, 2005). Neste contexto, pesquisas são desenvolvidas avaliando a duração do condicionamento, porém sem informações do grau de umidade que apresentaram maiores respostas à técnica (Toseli e Casenave, 2003).

Elkoca *et al.* (2007) investigando o efeito de diferentes períodos (12, 24 e 48 horas) de condicionamento osmótico de sementes de *Cicer arietinum* L., observaram que o hidrocondicionamento por 12 horas resultou em maior sincronização e velocidade de germinação, ao passo que, o condicionamento em diferentes potenciais osmóticos por 48 horas promoveu decréscimo drástico na porcentagem de germinação e outros índices analisados. Sguarezi *et al.* (2001) observaram maior porcentagem germinação quando as sementes de *Coffea arabica* L. foram condicionadas (0; -0,5; -1,0 e -1,5 MPa) pelo período de 4 dias, enquanto o condicionamento por 12 dias acarretou decréscimo na porcentagem de germinação. Ambos os autores atribuem a redução na taxa de germinação à possível deficiência de oxigênio nas soluções ao longo do tempo, o qual alterou de alguma forma a qualidade fisiológica das sementes.

Trabalhos também têm sido desenvolvidos incluindo reguladores vegetais, como as giberelinas, nas soluções de condicionamento. A associação de ácido giberélico ao condicionamento osmótico proporcionou aumento na velocidade de germinação de sementes de *Triplaris americana* L. (Mendonça *et al.*, 2005), além de maior comprimento de plântulas em sementes de *Lactuca sativa* L. (Menezes *et al.*, 2006).

Dentre os efeitos proporcionados pelo condicionamento, cita-se a superação da dormência de sementes de diferentes espécies. Em variedades termosensíveis de *Lactuca sativa* L., a germinação é reduzida ou não ocorre em temperaturas altas, pois estas inibem a produção de etileno, que por sua vez está envolvido na ativação da enzima endo- β -mananase. Deste modo, o condicionamento no potencial -1,2 MPa, de sementes termosensíveis desta espécie, superou o efeito inibitório de altas temperaturas, sem aplicação exógena de etileno (Nascimento *et al.*, 2000).

Alterações na atividade de várias enzimas, associadas com o processo de germinação, são observadas em resposta ao condicionamento (Ella *et al.*, 2011). O osmocondicionamento e o hidrocondicionamento estão envolvidos na síntese e ativação inicial de enzimas de quebra e mobilização de reservas (Varier *et al.*, 2010). Estes tratamentos ativam enzimas de mobilização de reservas, tais como α e β -amilases (carboidratos) e isocitrato liase (lipídeos) (Fu *et al.*, 1988; Sung e Chang, 1993) e enzimas de enfraquecimento de endosperma, tais como a endo- β -mananase (paredes constituídas de galactomananos) (Anese *et al.*, 2011).

Análises proteômicas detectaram durante o hidrocondicionamento um aumento na quantidade de enzimas antioxidantes tais como a Superóxido Dismutase e a Catalase, as quais eliminam radicais livres (Zhang *et al.*, 2007). O condicionamento inicia um estresse oxidativo, o qual gera espécies reativas de oxigênio, sendo estas enzimas então sintetizadas em resposta ao estresse, para minimizar os danos celulares (Bailly *et al.*, 2000; Farhoudi *et al.*, 2011).

O condicionamento de sementes de *Oriza sativa* L. resulta em maior estabelecimento e sobrevivência de plântulas sob condições de baixa oxigenação (Ella *et al.*, 2011). Estes resultados foram obtidos em razão da baixa peroxidação de lipídeos causada pela alta atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase, a qual foi promovida pelo condicionamento osmótico das sementes. Cabe lembrar, que a peroxidação de lipídeos causa alterações nas propriedades físico-químicas das membranas fosfolipídicas, levando à perda de conteúdos celulares, o qual afeta a atividade respiratória de mitocôndrias e capacidade de fixação de carbono dos cloroplastos. Além disso, os autores observaram alta atividade de α e β -amilases, que pode de alguma maneira, ter ocorrido devido ao avanço no processo germinativo e, sugerem que o condicionamento pode acelerar a mobilização de carboidratos sob tais condições.

Não foram encontrados na literatura, trabalhos de condicionamento osmótico em sementes de anonáceas, associado ou não a reguladores. Deste modo, considerando as respostas fisiológicas relacionadas à aquisição restrita de água no condicionamento das

sementes, objetivou-se com este trabalho verificar a influência do condicionamento osmótico associado ao GA₃, na germinação das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer.

Material e métodos

Os frutos de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer foram obtidos na Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI) de São Bento do Sapucaí – SP, em janeiro de 2011, de aproximadamente 80 matrizes. A espécie está depositada no herbário BOTU da UNESP de Botucatu sob números 27.596 a 27.603.

As sementes foram extraídas sob água corrente e em uma amostra, determinou-se o teor de água por meio do método da estufa à 105°C ± 3°C (Brasil, 2009). Posteriormente, as sementes foram tratadas com fungicida (Captan) à 2% por 10 minutos e com bactericida (Cloridrato de Oxitetraciclina) à 2% por 20 minutos. Após a secagem superficial sobre bancada por 24 horas, as sementes foram submetidas à secagem artificial em estufa com circulação forçada de ar à 32°C, até obtenção do teor de água de 10%.

Curva de Aquisição de Água

Para verificar a aquisição de água durante as fases da germinação das sementes de *A.emarginata* submetidas à diferentes potenciais osmóticos, empregou-se 4 repetições de 25 sementes para cada um dos seguintes potenciais: 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa, sob temperatura constante de 25°C, na ausência de luz. O cálculo da quantidade de polietilenoglicol (PEG 6000) para a obtenção das soluções osmóticas foi realizado utilizando a equação proposta por Michel e Kaufmann (1973) e com procedimentos adotados por Villela *et al.* (1991).

Determinado o grau de umidade inicial das sementes, estas foram colocadas nas soluções com diferentes potenciais osmóticos e, para o cálculo da quantidade de água adquirida pelas sementes foram realizadas pesagens periódicas, nas quais as sementes eram retiradas das soluções, secas superficialmente, pesadas e colocadas novamente na solução osmótica. Este procedimento foi realizado até o início da fase II do processo de germinação, quando ocorre a estabilização da entrada de água.

Para estudar as variações no conteúdo de água das sementes, fase I e início da fase II, ajustou-se modelo de Brody, ou monomolecular, de equação $y = \alpha [1 - \beta \exp(-c x)]$, com y = grau de umidade (%), x = tempo, α , β e c = parâmetros do modelo (Mischan *et al.*, 2011).

Condicionamento Osmótico

Para obtenção das soluções osmóticas, utilizou-se o polietilenoglicol (PEG 6000), nos potenciais de 0; -0,3; -0,6; -0,9 e -1,2 MPa com procedimentos adotados por Villela *et al.* (1991). O regulador vegetal utilizado foi o Ácido Giberélico GA₃ nas concentrações de 0; 250; 500; 750 e 1000 mg L⁻¹. As sementes foram condicionadas nas soluções osmóticas com as concentrações de GA₃ até a obtenção dos seguintes teores de água: 15; 20; 25; 30 e 35%. Para a manutenção de oxigênio nas soluções de condicionamento, utilizou-se sistema de aeração artificial por meio de bombas de aquário, sob temperatura constante de 25°C, na ausência de luz.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 x 5 (potenciais osmóticos x concentrações de GA₃ x teores de água) + testemunha, totalizando 126 tratamentos, com 4 repetições de 20 sementes por parcela.

Ao término dos períodos de condicionamento, as sementes foram lavadas em água corrente para retirada do PEG e submetidas ao teste de germinação, conduzido em rolos de papel do tipo 'germitest', umedecidos com água deionizada em 2,5x o seu peso seco e, levados para germinador sob temperatura e fotoperíodo alternados (8 horas de escuro à 20°C e 16 horas de luz à 30°C) (Costa *et al.*, 2011). A contagem das sementes germinadas foi realizada à cada 2 dias, considerando-se como germinadas, as sementes com no mínimo 2mm de raiz primária (Hadas, 1976).

Foram analisadas as variáveis porcentagem de germinação [%G], índice de velocidade de germinação [IVG] (Silva e Nakagawa, 1995), tempo médio de germinação [TMG] (Edmond e Drapala, 1958) e índice de sincronização [U] (Labouriau e Agudo, 1987), de equações:

$$IVG = (C_1/T_1 - A + C_2/T_2 - A \dots + C_i/T_i - A) \times 100/N \times 100/P$$

onde:

C_1 , C_2 e C_i : contagem diária da germinação

T_1 , T_2 e T_i : tempo

P : porcentagem de germinação

A : período que antecede a germinação

N : número de sementes em teste

$$TMG = \frac{G_1T_1 + G_2T_2 + \dots + G_nT_n}{G_1 + G_2 + \dots + G_n}$$

onde:

G_1, G_2 e G_n : número de sementes germinadas

T_1, T_2 e T_n : tempo de germinação de G_1, G_2 e G_n , respectivamente.

$$U = -\sum_{i=1}^k f_i \log_2 f_i$$

onde:

f_i = frequência relativa de germinação

k = último dia de observação.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância (Gomes, 1990; Mischan e Pinho, 1996).

Resultados

Curva de Aquisição de Água

Na figura 1, verifica-se que em todos os potenciais osmóticos ocorreu uma fase inicial com rápida entrada de água (fase I) e posteriormente, uma fase em que o teor de água se manteve relativamente constante (fase II). Observa-se que a velocidade de aquisição de água decresceu à medida que reduziu o potencial osmótico das soluções, desta maneira, a mudança de fases ocorreu após 109 horas no potencial 0 MPa, 143 horas no potencial -0,3 MPa, 151 horas no potencial -0,6 MPa, 152 horas no potencial -0,9 MPa e após 155 horas no potencial -1,2 MPa, quando as sementes de todos os tratamentos atingiram 35,2% de água (Figura 1). Na fase II, o teor de água se tornou praticamente constante.

Condicionamento Osmótico

Foram observadas interações significativas entre potencial osmótico, concentrações de GA_3 e teor de água, indicando haver efeito dos diferentes fatores em todas as variáveis analisadas (Tabela 1).

Na tabela 2, verifica-se que em cada um dos potenciais estudados, há redução da porcentagem de germinação à medida que aumenta o teor de água adquirido pelas sementes, mesmo com a aplicação de GA_3 . Ao se observar na tabela 2 as respostas obtidas com o hidrocondicionamento (0 MPa), constata-se que o uso de GA_3 promoveu aumento

significativo na porcentagem de germinação das sementes que atingiram 15% de água, sendo 250 e 1000 mg L⁻¹ as concentrações que promoveram porcentagens de germinação (91% e 90%, respectivamente) maiores que a testemunha (79%).

Quando as sementes foram hidrocondicionadas (0 MPa) sem aplicação do regulador, até atingirem teor de 20% de água, a porcentagem de germinação das sementes foi maior do que as sementes hidrocondicionadas até atingirem 15% de água e não houve efeito do GA₃. À partir do momento em que as sementes hidrocondicionadas atingem teores de água acima de 25%, observa-se redução da porcentagem de germinação nas sementes sem o GA₃ como também nas sementes tratadas com o GA₃ (Tabela 2).

Quando o potencial osmótico da solução foi reduzido para -0,3 MPa, não foi necessário o uso do GA₃ nas sementes condicionadas até atingirem o teor de 15% de água, pois as sementes sem o regulador vegetal apresentaram porcentagem de germinação (94%) que não diferiu das sementes tratadas (Tabela 2). Também com o condicionamento no potencial -0,3 MPa, observa-se para as sementes que atingiram os teores de 20% e 25% de água, que não há necessidade da utilização de GA₃ (Tabela 3).

Na tabela 2 verifica-se que o condicionamento das sementes no potencial -0,6 MPa não teve efeitos positivos para a germinação das sementes, exceto quando as sementes atingiram 20% de água sem a aplicação de GA₃ ou quando as sementes foram condicionadas até 15% de água e aplicado o GA₃. Observa-se ainda que o condicionamento no potencial -0,6 MPa, até as sementes atingirem 30% e 35% de água, causou a redução na porcentagem de germinação em sementes com ou sem GA₃.

Sementes osmocondicionadas nos potenciais -0,9 e -1,2 MPa apresentaram respostas semelhantes ao obtido com o potencial -0,6 MPa, principalmente em relação às sementes com 15%, 30% e 35% de água (Tabela 2).

Observa-se na tabela 3, diferenças significativas entre os potenciais osmóticos utilizados para cada teor de água adquirido pelas sementes em função do emprego ou não do GA₃. Em cada um dos teores de água adquiridos pelas sementes, observa-se diferenças significativas entre o hidrocondicionamento (0 MPa) e o osmocondicionamento, exceto nas sementes com 25% de água, nas quais a diferença ocorreu entre -0,6 e -0,9 MPa (Tabela 3).

Quando as sementes adquiriram 15% de água, o hidrocondicionamento somente foi efetivo para promover a germinação quando associado ao GA₃. E quando o potencial 0 MPa foi comparado com o potencial -0,3 MPa, verifica-se que ocorreu aumento na porcentagem de germinação, no entanto, ambos não diferiram de -0,6, -0,9 e -1,2 MPa. Com o uso de GA₃ não

foram observadas diferenças entre o hidrocondicionamento (0 MPa) e o osmocondicionamento.

Estes resultados demonstram que é possível manter as sementes embebendo até atingirem 15% de água em soluções contendo de 250 a 1000 mg L⁻¹ de GA₃, com potenciais de 0 a -1,2 MPa e garantir elevada porcentagem de germinação, diferente de quando as sementes foram mantidas em hidrocondicionamento sem GA₃.

Em contrapartida, quando as sementes atingiram teor de 20% de água, não houve diferença entre hidro e osmocondicionamento quando não empregado o GA₃, exceto no potencial -1,2 MPa que reduziu a porcentagem de germinação (61%) em comparação com os demais potenciais, cuja porcentagem de germinação foi elevada (90%, 95%, 87% e 90%, respectivamente). Neste caso, o hidrocondicionamento e o osmocondicionamento foram efetivos para aumentar a porcentagem de germinação, não havendo necessidade do uso do GA₃. Quando as sementes são condicionadas até atingirem 30% e 35% de água, há redução significativa da porcentagem de germinação à medida que se reduz o potencial até -1,2 MPa.

Embora a porcentagem de germinação (Tabela 2) de sementes hidrocondicionadas (0 MPa), sem o uso de GA₃, tenha aumentado quando as sementes atingiram o teor de 20% de água (90%), o índice de velocidade de germinação não diferiu das sementes com teor de água de 15%, 30% e 35%. Nos potenciais -0,3 à -1,2 MPa a velocidade de germinação não foi afetada pelo aumento no teor de água, exceto reduzindo o índice de velocidade de germinação em algumas concentrações elevadas de GA₃ (Tabela 4).

Apesar de as sementes submetidas ao condicionamento no potencial -0,3 MPa, até a obtenção de 25% de água, apresentarem alta porcentagem de germinação (Tabela 2) sem o emprego de GA₃ (81%), o índice de velocidade e de sincronização da germinação não diferiram para as demais concentrações do regulador vegetal (Tabelas 4 e 6).

O condicionamento das sementes no potencial -0,6 MPa, até a obtenção de 20% de água, promoveu alto índice de velocidade de germinação (15,2) sem o emprego de GA₃, não diferindo da concentração de 750 mg L⁻¹ que promoveu o maior valor (22,7) (Tabela 4).

Observou-se que o condicionamento no potencial -0,9 MPa até obtenção do teor de 25% de água promoveu a maior porcentagem de germinação quando não empregado o GA₃ (92%) (Tabela 2), e que o índice de velocidade de germinação foi baixo, não diferindo do menor valor obtido com 25% de água (Tabela 4). Quando as sementes condicionadas neste mesmo potencial atingiram o teor de 35% de água, observou-se que o emprego de 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃ promoveu o aumento na porcentagem de germinação (70% e 64%,

respectivamente) (Tabela 2), porém o índice de velocidade não diferiu das demais concentrações do regulador vegetal (Tabela 4).

Não houve interação significativa entre as concentrações de GA₃ e os teores de água quando no potencial -1,2 MPa, para a variável índice de velocidade de germinação (Tabela 4). Para a variável tempo médio de germinação, não foram observadas alterações nos diferentes tratamentos. Observa-se que nos potenciais -0,6 e -1,2 MPa há redução do tempo médio de germinação com o emprego de 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃, respectivamente (Tabela 5), porém estes tratamentos apresentaram baixas porcentagens de germinação (Tabela 2).

Os tratamentos não afetaram a sincronização das sementes. Em alguns casos, como nos potenciais -0,6 e -1,2 MPa verifica-se que o teor de 35% de água reduziu a sincronização, em sementes com ou sem o emprego de GA₃ (Tabela 6).

Discussão

Curva de aquisição de água

As sementes de *A.emarginata* apresentaram curva de aquisição de água com ajuste semelhante ao padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994), no qual após a fase inicial de rápida entrada de água, ocorre a fase intermediária com aquisição lenta de água, o que também foi observado por Costa *et al.* (2011). A velocidade de aquisição de água decresceu à medida que se reduziram os potenciais osmóticos das soluções, o que resultou em diferentes tempos para atingir os diferentes teores de água (15%, 20%, 25%, 30% e 35%) em cada um dos potenciais empregados.

Na fase inicial de aquisição de água, que é a fase de embebição (fase I), sementes secas, viáveis ou não, adquirem água desde que não apresentem tegumento impermeável. De modo geral, esta fase é rápida com duração de 2 à 3 horas (Carvalho e Nakagawa, 2000), puramente física, ocorrendo em qualquer material, vivo ou morto, que contenha sítios de ligação ou afinidade pela água (Castro *et al.*, 2004). Entretanto, variações no tempo de duração da fase I são observadas em diferentes espécies, devido à natureza e a composição do tegumento (Coll *et al.*, 2001).

Quando comparada à *Caesalpinia pyramidalis* Tul., na qual a fase I é completada com 24 horas (Dantas *et al.*, 2008), a duração da fase I das sementes de *A.emarginata*, mesmo em água (0 MPa) é extensa (109 horas), semelhante ao observado em sementes de *A.crassiflora* (168 horas) (Melo, 2005). Porém, deve-se considerar que o processo germinativo destas sementes também é extenso (Costa *et al.*, 2011), no qual sementes de *A.emarginata* apresentam germinação visível após 336 horas do início da embebição.

Neste contexto, variações na duração da fase I são observadas inclusive entre espécies do gênero *Annona*. Sementes de *A. cherimola* x *A. squamosa* (atemóia) apresentaram mudança entre as fases I e II após 27 horas de embebição em água (Ferreira *et al.*, 2006), ao passo que espécies como *A. squamosa* apresenta mudança entre as fases I e II após 5 horas de embebição (Ferreira *et al.*, 1997)

Além do tempo para atingir o final da fase I ser diferente para cada espécie, em função da composição das sementes, quando se reduz o potencial osmótico da solução esse tempo se estende, pois diminui a diferença entre o potencial da solução e da semente. Aproximando-se o potencial da solução ao potencial hídrico da semente (Castro *et al.*, 2004), faz com que a água entre lentamente na semente (Taiz e Zeiger, 2010).

Deste modo, ocorreu aumento no tempo para aquisição de água em função da redução do potencial osmótico do meio para completar a fase I (embebição). Por estes fatos, independente do tempo, o teor de água nas sementes na mudança entre as fases I e II foi de 35,2%, o que está de acordo com Marcos Filho (2005), de que sementes endospermáticas atingem teores de água entre 30% e 35% no final da fase I.

Condicionamento Osmótico

Vários estudos têm enfatizado que a técnica de hidrocondicionamento (0 MPa) é efetiva no tratamento de sementes (Farooq *et al.*, 2006), na qual o controle da entrada de água é realizado pelo tempo em que as sementes ficam nas soluções ou pela temperatura (Anese *et al.*, 2011), considerando que temperaturas mais altas provocam a redução da viscosidade e aumento na energia cinética da água, aumentando a velocidade de aquisição de água (Marcos Filho, 2005). Para as sementes de *A. emarginata* foi possível observar que o hidrocondicionamento (0 MPa) promove os maiores valores para porcentagem de germinação, índice de velocidade e de sincronização da germinação, até atingir o teor de 20% de água.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram com os obtidos no hidrocondicionamento, por 18 horas, de sementes de *Zea mays* L., o qual promoveu maior porcentagem e velocidade de emergência em campo e plântulas com maior desenvolvimento de raízes e folhas. Além disso, estas sementes hidrocondicionadas apresentaram menores valores para o tempo médio de germinação e maior índice de vigor quando comparadas àquelas condicionadas em Sulfato de Zinco ($ZnSO_4$), Ortofosfato de Potássio (KH_2PO_4) e Nitrato de Potássio (KNO_3) (Mir-Mahmood *et al.*, 2011). Neste contexto, o hidrocondicionamento é um método simples, que não requer equipamentos especiais devido

ao uso somente de água como meio de condicionamento, constituindo um dos métodos mais baratos (Farooq *et al.*, 2006; Moradi e Younesi, 2009).

Deste modo, a baixa porcentagem de germinação observada com o hidrocondicionamento, até a obtenção de 15% de água nas sementes, pode ser devido ao fato de este teor de água ser insuficiente para a ativação do metabolismo observado na fase I do processo germinativo, visto que as sementes iniciam a atividade respiratória com conteúdo de água em torno de 20% de água (Castro *et al.*, 2004). No entanto, o metabolismo é ativado quando as sementes são hidrocondicionadas até a obtenção de 15% de água, com o emprego de 250 mg L⁻¹ de GA₃, com aumento da porcentagem de germinação. A giberelina, que possui receptores nas células das sementes, desencadeia a expressão de genes relacionados à síntese de hidrolases responsáveis pela degradação das reservas do endosperma. Com a degradação das reservas, compostos mais simples são liberados e podem ser desta forma, utilizados como fonte energética para o crescimento do embrião (Bonome *et al.*, 2011).

Neste contexto, diversos trabalhos foram desenvolvidos empregando-se GA₃ na germinação das sementes de espécies da família Annonaceae, tais como *Annona diversifolia* Saff. (Campbell e Popenoe, 1968), *Annona muricata* (Pinto, 1976), *Annona squamosa* L. (Pawshe *et al.*, 1997; Ferreira *et al.*, 2002b; Stenzel *et al.*, 2003), *Annona reticulata* (Valenzuela e Osório, 1998) e *Annona cherimola* Mill. (Jubes *et al.*, 1975; Smet *et al.*, 1999).

Braga *et al.* (2010), trabalhando com sementes de *A.cherimola* x *A.squamosa*, obtiveram a maior porcentagem de germinação (89,44%) quando empregaram 520 mg L⁻¹ de GA₃, comparado a 52% da testemunha. Além disso, os autores obtiveram com a concentração estimada de 549 mg L⁻¹ de GA₃, o maior índice de velocidade de germinação (5,21), o qual representou um aumento de 42,5% em relação à testemunha.

Para as espécies *A.diversifolia* e *A.purpurea*, Ferreira (2011) obteve 51% e 29% de germinação, respectivamente, empregando concentrações de 200 a 500 mg L⁻¹ de GA₃, ao passo que as sementes colocadas para germinar sem embebição prévia, mantiveram-se dormentes até o fim do teste. Por outro lado, o autor obteve porcentagens de germinação superiores nestas espécies (77% e 30%, respectivamente), quando empregou 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + Benziladenina. Nestas condições, verifica-se que o uso do bioestimulante (GA₄₊₇ + BA) foi mais adequado para a superação da dormência, pois além das giberelinas, houve o efeito associado da citocinina (Benziladenina).

Em todos estes trabalhos com espécies do gênero *Annona* foi empregado o hidrocondicionamento associado aos reguladores vegetais, no qual o período de imersão das sementes nas soluções é determinado pela mudança entre as fases I e II da curva de aquisição

de água. Porém, verificou-se neste estudo que o período de condicionamento tomando-se como base a mudança da fase I para a fase II da curva de aquisição de água (35%), promoveu menores porcentagens de germinação, sugerindo desta forma, que o hidrocondicionamento deve ser realizado até as sementes atingirem teores de 15% e 20% de água. Para as sementes de *A.emarginata* o hidrocondicionamento até a obtenção de 15% de água, com o emprego de GA₃ (250 mg L⁻¹), é suficiente em promover maiores porcentagens de germinação, ao passo que sem o emprego do regulador o hidrocondicionamento deve ser estendido até as sementes atingirem 20% de água.

Assim, o tempo a ser utilizado em tratamentos com hormônios pode ser determinado considerando-se o tempo necessário para as sementes atingirem 15% de água, e não necessariamente o tempo para terminar a fase I, conforme os trabalhos citados com *Annona*.

Quando se reduziu o potencial da solução de condicionamento, observou-se aumento na porcentagem de germinação em algumas combinações específicas, como o emprego do potencial -0,3 MPa sem o uso do GA₃, até a obtenção dos teores de 20% e 25% de água. Neste caso, o aumento da porcentagem de germinação pode ser devido à redução da velocidade de entrada de água, promovida pela redução no potencial osmótico da solução, o que pode ter proporcionado maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas celulares, reduzindo os riscos de danos ao embrião (Smith e Coob, 1992).

Da mesma forma, o incremento nos índices germinativos após o condicionamento osmótico é relatado em várias espécies (Anese *et al.*, 2011; Ghassemi-Golezani *et al.*, 2008; Kaur *et al.*, 2002), inclusive sob condições ambientais adversas (Jeller e Perez, 2003; Moosavi *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010).

Cabe salientar ainda, que para as sementes de *A.emarginata* alcançarem os maiores teores de água da fase I foi necessário a permanência por mais tempo nas soluções de condicionamento. Entretanto, quando as sementes permaneceram nas soluções por tempos superiores a 98 horas, o que representa alcançar o teor de 35% de água no potencial 0 MPa, houve redução nas porcentagens de germinação (Tabela 2). Estas respostas foram semelhantes às obtidas por Khalil *et al.* (2001), que trabalhando com *Glycine max* (L.) Merrill verificaram que o condicionamento por períodos menores (1 ou 2 dias) promoveu maiores porcentagens de germinação, ao passo que o período de 7 dias de condicionamento reduziu a germinação em todos os potenciais empregados (0, -0,2, -0,4, -0,5 e -0,7 MPa).

Os resultados obtidos neste trabalho também corroboram com Murray (1989), que desde então já afirmava que o condicionamento por períodos longos (*overpriming*) poderia causar acúmulo de inibidores da germinação e deficiência de oxigênio. A respiração das

sementes aumenta acentuadamente durante as primeiras horas de embebição e ao longo do processo germinativo é observado um aumento na atividade das mitocôndrias, tornando mais eficiente a produção de ATP, a qual reflete em elevado consumo de oxigênio (Bewley e Black, 1994).

Quando a entrada de oxigênio na semente é restringida, a atividade da mitocôndria torna-se reduzida e a via respiratória é alterada para fermentativa (anaeróbica) (Neumann *et al.*, 1999; Sousa e Sodek, 2002), na qual é observada a produção de compostos parcialmente oxidados, como o etanol (Raymond *et al.*, 1985). O etanol quando acumulado em altas concentrações é tóxico às células, ocasionando danos no sistema de membranas e deterioração da semente, os quais comprometem a germinação (Kodde *et al.*, 2012). Deste modo, pode-se inferir que os períodos extensos de condicionamento ocasionaram danos às sementes de *A.emarginata*, com possível deterioração destas, o que justifica as baixas porcentagens de germinação observadas nestes tratamentos.

No caso das sementes de *A.emarginata* que possuem grande quantidade de reserva lipídica (Corsato, 2010), os efeitos da baixa disponibilidade de oxigênio (hipoxia) podem ser ainda mais acentuados, visto que sementes com alto teor de reserva lipídica possuem maior necessidade de oxigênio para a produção de energia. Os lipídeos são estruturas ricas em carbono e pouco oxidadas, o que torna baixo o quociente respiratório ($QR < 1$) das sementes (Al-Ani *et al.*, 1985; Raymond *et al.*, 1985).

A baixa disponibilidade e difusão de oxigênio nas soluções foram responsáveis pela redução na porcentagem de germinação, quando sementes de *Carica papaya* L. foram condicionadas no menor potencial (-1,0 MPa) (Lopes e Souza, 2008), assemelhando-se com os resultados obtidos em *A.emarginata*. Enquanto as sementes submetidas ao potencial 0 MPa atingiram o maior teor de água (35%) com 98 horas, no menor potencial (-1,2 MPa) as sementes levaram 407 horas para atingirem este mesmo teor de água. Deste modo, a redução na porcentagem de germinação observada nos menores potenciais, ocorreu provavelmente pela indisponibilidade de oxigênio, visto que a quantidade de água nestes potenciais não foi insuficiente, pois as sementes atingiram o maior teor de água (35%) e completaram a germinação (fase III), embora em menores porcentagens.

Outro possível efeito relacionado à disponibilidade de oxigênio, nas soluções de condicionamento das sementes de *A.emarginata*, está relacionado com o balanço hormonal. Em sementes de *Zea mays* L., observou-se que a hipoxia pode interferir no catabolismo do ácido abscísico (ABA) por meio da redução da atividade da ABA 8'-hidroxilase, enzima responsável pela inativação do ABA. Deste modo, visto que o oxigênio é o substrato da

enzima ABA 8'-hidroxilase, sua baixa disponibilidade promove indiretamente, o aumento nos níveis de ABA (Krochko *et al.*, 1998).

O ABA é um hormônio vegetal que regula muitos processos fisiológicos nas plantas, tais como o desenvolvimento de sementes (tolerância à dessecação, deposição de produtos de reserva, dormência), abertura e fechamento estomático, além de respostas adaptativas das plantas às condições de estresse (Zeevaart e Creelman, 1988). Neste contexto, altas concentrações do ABA estão diretamente relacionadas à promoção e manutenção da dormência em sementes (Ali-Rachedi *et al.*, 2004; Kermode, 2005; Huarte e Benech-Arnold, 2010).

Por meio de ensaios *in vitro* foi demonstrado que a enzima ABA 8'-hidroxilase é ativa em uma ampla gama de temperaturas e níveis de disponibilidade de oxigênio, porém, concentrações de oxigênio menores que 10% reduzem acentuadamente sua atividade (Krochko *et al.*, 1998). Benech-Arnold *et al.* (2006) observaram que em embriões de *Hordeum vulgare* L. há um aumento na sensibilidade ao ABA quando as sementes são submetidas à hipoxia e relatam, que este aumento na sensibilidade pode ser em razão, da incapacidade imposta pela hipoxia de o embrião inativar o ABA.

Mendiondo *et al.* (2010) também observaram acúmulo e aumento na sensibilidade ao ABA quando submeteram sementes de *Hordeum vulgare* L. à condição de hipoxia. Entretanto, quando estes autores analisaram os genes relacionados à síntese (*HvNCED1* e *HvNCED2*), catabolismo (*HvABA8OH1*) e sinalização (*HvPKABA*, *HvABI5* e *HvVPI*) do ABA, verificaram que a baixa disponibilidade de oxigênio não altera a expressão destes genes e sugerem desta forma, que a hipoxia promove alterações no nível de ABA por meio de outros mecanismos, ainda desconhecidos.

Deste modo, se a redução na porcentagem de germinação das sementes de *A.emarginata* estiver ligada à baixa disponibilidade de oxigênio nas soluções, é porque houve provavelmente um acúmulo de ABA nestas sementes. O ABA impede a germinação de sementes por meio da inibição da expressão de genes que codificam enzimas envolvidas na degradação de reservas, como amilases e proteases (Barduche *et al.*, 1999).

Conclusão

O condicionamento sob diferentes potenciais osmóticos, associado às concentrações de GA₃, com a obtenção de diferentes teores de água, promove alterações no processo germinativo das sementes de *A.emarginata*, refletindo em maiores porcentagens de

germinação quando emprega-se o hidrocondicionamento até as sementes atingirem 20% de água.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de Bolsa de Mestrado (133981/2010-0).

Referências

- Al-Ani, A., Bruzau, F., Raymond, P., Saint-Ges, V., Leblanc, J.M. e Pradet, A.** (1985) Germination, respiration and adenylate energy charge of seeds at various oxygen partial pressures. *Plant Physiology* 79, 885-890.
- Ali-Rachedi, S., Bouinot, D., Wagner, M.H., Bonnet, M., Sotta, B., Grappin, P. e Jullien, M.** (2004) Changes in endogenous abscisic acid levels during dormancy release and maintenance of mature seeds: studies with the Cape Verde Islands ecotype, the dormant model of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 219, 479-488.
- Almeida, L.F.P.** (2009) *Propagação por enxertia de araticum (Annona crassiflora Mart.) e atemóia (Annona squamosa L. x Annona cherimola Mill.) em diferentes porta-enxertos de Annonaceae*. 115f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.
- Anese, S., Silva, E.A.A., Davide, A.C., Faria, J.M.R., Soares, G.C.M., Matos, A.C.B. e Toorop, P.E.** (2011) Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St.Hil. *Seed Science and Technology* 39, 125-139.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. e Côme, D.** (2000) Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Science and Research* 10, 35-42.
- Barduche, D., Paiva, R., Lopes, M.A. e Paiva, E.** (1999) Effect of ABA and GA₃ on protein mobilization in embryos and cotyledons of angico [*Anadenanthera peregrina* (L.) spig] seeds during germination. *Archives of Biology and Technology* 42, 135-144.
- Benech-Arnold, R.L., Gualano, N., Leymarie, J., Côme, D. e Corbineau, F.** (2006) Hypoxia interferes with ABA metabolism and increases ABA sensitivity in embryos of dormant barley grains. *Journal of Experimental Botany* 57, 6, 1423-1430.
- Bewley, J.D. e Black, M.** (1994) *Seeds: physiology of development and germination*. 2nd ed. New York, Plenum.
- Bonome, L.T.S., Moreira, S.A.F., Oliveira, L.E.M. e Sotero, A.J.** (2011) Metabolism of carbohydrates during the development of sedes of the brazilian rubber tree [*Hevea brasiliensis* (Willd. Ex ADR. De Juss) Muell.-Arg.]. *Acta Physiologiae Plantarum* 33, 211-219.
- Bradford, K.J.** (1986) Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hortscience* 21, 5, 1105-1112.

Braga, J.F., Ferreira, G., Pinho, S.Z., Braga, L.F. e Sousa, M.P. (2010) Germination of atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) cv.Gefner seeds subjected to treatments with plant growth regulators. *International Journal of Science and Nature* 1, 2, 120-126.

Brasil, Ministério da Agricultura (2009) *Regra de Análise de Sementes*. Brasília, Departamento de produção vegetal.

Campbell, C.W. e Popenoe, I. (1968) Effect of gibberellic acid on seed dormancy of *Annona diversifolia* Salf. *Proceedings of the Tropical Region American Society for Horticultural Science* 11, 33-36.

Carvalho, N.M. e Nakagawa, J. (2000) *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal, Funep.

Castro, R.D., Bradford, K.J. e Hilhorst, H.W.M. (2004) Embebição e reativação do metabolismo, pp.149-162 in Ferreira, A.G. e Borghetti, F. *Germinação do básico ao aplicado*. Porto Alegre, Arned.

Chen, J.Y., Liu, S.L. e Siao, W. (2010) Hormone and sugar effects on rice sucrose transporter OsSUT1 expression in germinating embryos. *Acta Physiology Plant* 32, 749-756.

Coll, J.B., Rodrigo, G.N., Garcia, B.S. e Tames, R.S. (2001) *Fisiologia vegetal*. Madrid, Ediciones Pirâmide.

Corsato, J.M. (2010) *Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de Araticum-de-terra-fria (Annona emarginata (Schltdl.) H.Rainer*. 101f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Costa, P.N., Bueno, S.S.C. e Ferreira, G. (2011) Fases da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33, 1, 253-260.

Dantas, B.F., Correia, J.S., Marinho, L.B. e Aragão, C.A. (2008) Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.). *Revista Brasileira de Sementes* 30, 1, 221-227.

Donadio, L.C. (1997) Situação atual e perspectivas das anonáceas, pp.1-4 in São José, A.R., Souza, I.V.B., Morais, O.M. e Rebouças, T.N.H. *Anonáceas, Produção e Mercado: Pinha, Graviola, Atemóia e Cherimólia*. Vitória da Conquista, DFZ/UESB.

Edmond, J.B. e Drapala, W.S. (1958) The effects of temperature, sand and acerone on germination of okra seed. *Proceedings of American Society for Horticultural Science* 71, 428-434.

Elkoca, E., Haliloglu, K., Esitken, A. e Ercisli, S. (2007) Hydro- and osmopriming improve chickpea germination. *Acta Agriculturae Scandinavica* 57, 193-200.

Ella, E.S., Dionisio-Sese, M.L. e Ismail, A.M. (2011) Seed pre-treatment in rice reduces damage, enhances carbohydrate mobilization and improves emergence and seedling establishment under flooded conditions. *AoB Plants*, plr007. www.aobplants.oxfordjournals.org

- Farhoudi, R., Saeedipour, S. e Mohammadreza, D.** (2011) The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. *African Journal of Agricultural Research* 66, 6, 1363-1370.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Afzal, I. e Khaliq, A.** (2006) Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. *Seed Science and Technology* 34, 507-512.
- Ferreira, G., Cereda, E., Silva, C.P., Cunha, R.J.P. e Cataneo, A.** (1997) Imbibition study of sugar apple (*Annona squamosa* L.) and atemoya (*Annona squamosa* L. X *A. Cherimola* Mill.) seeds, pp. 210-224 in *Memorias del 1º Congreso Internacional de Anonáceas, 1997*, Chapingo, México.
- Ferreira, G., Erig, P.R. e Moro, E.** (2002 a) Produção do porta-enxerto (*Annona squamosa* L.) com o uso de reguladores vegetais. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24, 3, 637-640.
- Ferreira, G., Erig, P.R. e Moro, E.** (2002 b) Uso de ácido giberélico em sementes de frutadão-conde (*Annona squamosa* L.) visando a produção de mudas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24, 1, 178-182.
- Ferreira, G., Guimarães, V.F., Pinho, S.Z., Oliveira, M.C., Richard, A., Braga, J.F. e Dias, G.B.** (2006) Curva de absorção de água em sementes de atemóia (*Annona cherimola* MILL x *Annona squamosa* L.) CV.'Gefner'. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28, 1, 121-124.
- Ferreira, G.** (2011) *Reguladores vegetais na superação da dormência, balanço hormonal e degradação de reservas em sementes de Annona diversifolia Saff. e A.purpurea Moc. e Sessé ex Dunal (Annonaceae)*. 101f. Tese (Livre-docência). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Fu, J.R., Lu, X.H., Chen, R.Z., Zhang, B.Z., Liu, Z.S. e Cai, C.Y.** (1988) Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. *Seed Science and Techonology* 16, 197-212.
- Gama, F. e Manica, I.** (1994) Propagação, pp.30-37 in Manica, I. *Cultivo das Anonáceas: Ata, Cherimólia, Graviola*. Porto Alegre, EVANGRAF.
- George, A.P. e Nissen, R.J.** (1987) Propagation of Annona species, a review. *Scientia Horticulturae* 33, 75-85.
- Ghassemi-Golezani, K., Aliloo, A.A., Valizadeh, M. e Moghaddam, M.** (2008) Effects of different priming techniques on seed invigoration and seedling establishment of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Journal of Food, Agriculture & Environment* 6, 2, 222-226.
- Gomes, F.P.** (1990) *Curso de Estatística Experimental*. São Paulo, Nobel.
- Hadas, A.** (1976) Water uptake germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *Journal of Experimental of Botany* 27, 480-489.
- Heydecker, W. e Gibbins, B.M.** (1978) The priming of seeds. *Acta Horticulturae* 83, 213-223.
- Huarte, H.R. e Benech-Arnold, R.L.** (2010) Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). *Seed Science Research* 20, 39-45.

- Jeller, H. e Perez, S.C.J.G.A.** (2003) Condicionamento osmótico na germinação de sementes de cássia-do-nordeste sob estresse hídrico, térmico e salino. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 38, 9, 1025-1034.
- Jubes, J.T., Martinez, H., Padilla, E. e Oste, C.A.** (1975) Efectos de escarificacion, medio, posicion de siembra y acido gibberellico, sobre la germinacion de semillas em chirimoya (*Annona cherimolia* Mill). *Rev. Agron. N. O. Argent* 12, 1-2, 161-171.
- Kaur, S., Gupta, A.K. e Kaur, N.** (2002) Effect of osmo- and hydropriming of chickpea seeds on seedling growth and carbohydrate metabolism under water deficit stress. *Plant Growth Regulation* 37, 17-22.
- Kermode, A.R.** (2005) Role of Absciscic Acid in seed dormancy. *Journal Plant Growth Regulation* 24, 319-344.
- Khalil, S.K., Mexal, J.G. e Murray, L.W.** (2001) Germination of soybean seed primed in aerated solution of polyethylene glycol (8000). *OnLine Journal of Biological Sciences* 1, 3, 105-107.
- Kodde, J., Buckley, W.T., Groot, C.C., Retiere, M., Zamora, A.M.V. e Groot, S.P.C.** (2012) A fast ethanol assay to detect seed deterioration. *Seed Science Research* 2, 55-62.
- Krochko, J.E., Abrams, G.D., Loewen, M.K., Abrams, S.R. e Cutler, A.J.** (1998) (+) - Absciscic Acid 8'-Hydroxylase is a cytochrome P450 Monooxygenase. *Plant Physiology* 118, 849-860.
- Labouriau, L.G. e Agudo, M.** (1987) On the physiology of seed germination in *S.hispanica* L. 1. Temperature effects. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 59, 1, 37-56.
- Lopes, H.M. e Souza, C.M.** (2008) Efeitos da giberelina e da secagem no condicionamento osmótico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes* 30, 1, 181-189.
- Marcos Filho, J.** (2005) *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba, Fealq.
- Marcos Filho, J. e Kikuti, A.L.P.** (2008) Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. *Horticultura Brasileira* 26, 165-169.
- Melo, D.L.B.** (2005) *Dormência em sementes de Annona crassiflora Mart.* 60f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- Mendiondo, G.M., Leymarie, J., Farrant, J.M., Corbineau, F. e Benech-Arnold, R.L.** (2010) Differential expression of absciscic acid metabolism and signalling genes induced by seed-covering structures or hypoxia in barley (*Hordeum vulgare* L.) grains. *Seed Science Research* 20, 69-77.
- Mendonça, A.V.R., Coelho, E.A., Souza, N.A., Balbinot, E., Silva, R.F. e Barroso, D.G.** (2005) Efeito da hidratação e do condicionamento osmótico em sementes de pau-formiga. *Revista Brasileira de Sementes* 27, 2, 111-116.
- Menezes, N.L., Espindola, M.C.G., Pasqualli, L.L., Santos, C.M.R. e Frazin, S.M.** (2006) Associação de tratamentos pré-germinativos em sementes de alface. *Revista da FZVA* 13, 1, 1-11.

- Michel, B.E. e Kaufmann, M.R.** (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* 51, 6, 914-916.
- Mir-Mahmoodi, T., Ghassemi-Golezani, K., Habibi, D., Paknezhad, F. e Ardekani, M.R.** (2011) Effects of priming techniques on seed germination and seedling emergence of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Food, Agriculture and Environment* 9, 2, 200-202.
- Mischan, M.M. e Pinho, S.Z.** (1996) *Experimentação agrônômica – Dados não balanceados*. Botucatu, Fundibio.
- Mischan, M.M., Pinho, S.Z. e Carvalho, L.R.** (2011) Determination of a point sufficiently close to the asymptote in nonlinear growth functions. *Scientia Agricola* 68, 1, 109-114.
- Moosavi, A., Afshari, R.T., Sharif-Zadeh, F. e Aynehband, A.** (2009) Seed priming to increase salt and drought stress tolerance during germination in cultivated species of Amaranth. *Seed Science and Technology* 37, 781-785.
- Moradi, A. e Younesi, O.** (2009) Effects of osmo- and hydro-priming on seed parameters of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 3, 3, 1696-1700.
- Murray, G.A.** (1989) Osmoconditioning carrot seed for improved emergence. *Hortscience* 24, 701.
- Nascimento, W.M., Cantliffe, D.J. e Huber, D.J.** (2000) Thermo-tolerance in lettuce seeds: association with ethylene and endo-beta-mannanase. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 125, 518-524.
- Neumann, G., Preißler, M., Azaizeh, H.A. e Römheld, V.** (1999) Thiamine (vitamin B1) deficiency in germinating seeds of *Phaseolus vulgaris* L. exposed to soaking injury. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 162, 3, 295-300.
- Oliveira, M.C., Ferreira, G., Guimarães, V.F. e Dias, G.B.** (2010) Germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) cv ‘Gefner’ submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e ethephon. *Revista Brasileira de Fruticultura* 32, 2, 544-554.
- Pawshe, Y.H., Patil, B.N. e Patil, L.P.** (1997) Effect of pregermination seed treatment on the germination and vigour of seedlings in custard apple (*Annona squamosa* L.). *Annals of Plant Physiology* 11, 2, 150-154.
- Pinto, A.C.Q.** (1976) Influência de hormônio sobre o poder germinativo de sementes de graviola, pp. 415-420 in *Anais do 3º Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1976, Rio de Janeiro, Brasil*.
- Rainer, H.** (2007) Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A.ST.-HIL. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien* 108B, 191-205.
- Raymond, P., Al-Ani, A. e Pradet, A.** (1985) ATP production by respiration and fermentation, and energy charge during aerobiosis and anaerobiosis in twelve fatty and starchy germinating seeds. *Plant Physiology* 79, 879-884.
- Santos, L.P., Boaventura, M.A.D., Sun, N.J., Cassady, J.M. e Oliveira, A.B.** (1996) Araticulin, a bis-tetrahydrofuran polyketide from *Annona crassiflora* seeds. *Phytochemistry* 42, 705-707.

- Scaloppi Junior, E.J.** (2007) *Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares*. 92f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Sguarezi, C.N., Braccini, A.L., Scapim, C.A., Braccini, M.C.L. e Dalpasquale, V.A.** (2001) Avaliação de tratamentos pré-germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café (*Coffea arabica* L.), I. Condicionamento osmótico. *Revista Brasileira de Sementes* 23, 2, 152-161.
- Silva, J.B. e Nakagawa, J.** (1995) Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. *Informativo Abrates* 5, 62-73.
- Smet, S., Van Damme, P., Scheldeman, X. e Romero, J.** (1999) Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Acta Horticulturae* 497, 269-278.
- Smith, P.T. e Coob, B.G.** (1992) Physiological and enzymatic characteristic of primed, re-dried air, and germinated pepper seeds. *Seed Science and Technology* 20, 503-513.
- Sousa, C.A.F. e Sodek, L.** (2002) The metabolic response of plants to oxygen deficiency. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 14, 2, 83-94.
- Stenzel, N.M.C., Murata, I.M. e Neves, C.S.V.J.** (2003) Superação da dormência em sementes de atemóia e fruta-do-conde. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25, 2, 305-308.
- Sung, F.J.M. e Chang, Y.H.** (1993) Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. *Seed Science and Technology* 21, 97-105.
- Taiz, L. e Zeiger, E.** (2010) *Plant Physiology*. Sunderland, Sinauer Associates.
- Tokunaga, T.A.** (2000) *A cultura da atemóia*. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI).
- Toseli, M.E. e Casenave, E.C.** (2003) Water content and the effectiveness of hydro and osmotic priming of cotton seeds. *Seed Science Technology* 31, 727-735.
- Valenzuela, J.R.C. e Osório, J.D.B.** (1998) Efecto del ácido giberélico y el método de siembra en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de anona colorada (*Annona reticulata* L.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 51, 2, 235-244.
- Varier, A., Vari, A.K. e Dadlani, M.** (2010) The subcellular basis of seed priming. *Current Science* 99, 4, 450-456.
- Venkatasubramanian, A. e Umarani, R.** (2007) Evaluation of seed priming methods to improve seed performance of tomato (*Lycopersicon esculentum*), eggplant (*Solanum melongena*) and chilli (*Capsicum annum*). *Seed Science and Technology* 35, 487-493.
- Vieira, M.H.P. e Irber, M.V.** (1996) Emergência e taxa de germinação em *Annona coriácea* in Resumos do 47º Congresso Nacional de Botânica, 1996, Nova Friburgo, Brasil.
- Villela, F.A., Doni Filho, L. e Sequeira, E.L.** (1991) Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietilenoglicol 6000 e da temperatura. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 26, 11/12, 1957-1968.

Yari, L., Aghaalikani, M. e Khazaei, F. (2010) Effect of seed priming duration and temperature on seed germination behavior of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *ARPAN Journal of Agricultural and Biological Science* 5, 1, 1-6.

Yari, L., Sheidaie, S., Sadeghi, H. e Khazaei, F. (2012) Evaluation of temperature and seed priming duration on seed germination behavior of rice (*Oriza sativa* L.). *International Journal of Agriculture: Research and Review* 2, 1, 7-11.

Zeevaart, J.A.D. e Creelman, R.A. (1988) Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annual Review Plant Physiology Plant Mol Biol* 39, 439-473.

Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, X.J. e Knapp, A. (2007) Seed priming with brassinolide improves Lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. *Australian Journal of Agricultural Research* 58, 811-815.

Zucareli, V., Ferreira, G., Amaro, A.C.E. e Araújo, F.P. (2009) Fotoperíodo, temperatura e reguladores vegetais na germinação de sementes de *Passiflora cincinnata* Mast. *Revista Brasileira de Sementes* 31, 3, 106-114.

TABELAS E FIGURAS

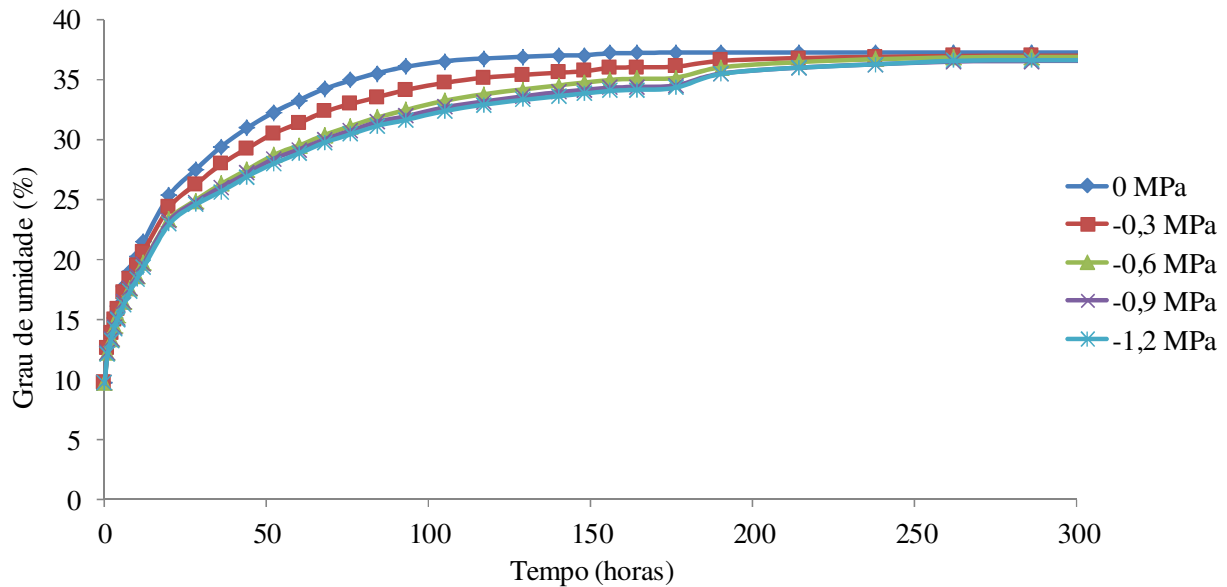


Figura 1. Curva de aquisição de água das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer em diferentes potenciais osmóticos.

Tabela 1. Valor do teste F para potencial osmótico ($\Psi\pi$), concentração de GA_3 , teor de água e interação entre estes fatores sobre as variáveis analisadas, em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer.

<i>Fator de Variação</i>	<i>Resultados do teste F</i>			
	<i>%G</i>	<i>IVG</i>	<i>TMG</i>	<i>U</i>
GA_3	15,13**	6,23**	8,17**	4,05*
$\Psi\pi$	249,85**	46,27**	28,89**	36,66**
Teor de água	1415,69**	68,95**	12,86**	139,94**
$GA_3 \times \Psi\pi$	6,64**	2,32*	1,95*	3,38**
$GA_3 \times$ Teor de água	9,69**	2,70*	2,05*	2,81*
$\Psi\pi \times$ Teor de água	44,11**	8,26**	3,78**	26,12**
$GA_3 \times \Psi\pi \times$ Teor de água	9,81**	3,49**	1,75*	1,39*

%G: porcentagem de germinação; *IVG*: índice de velocidade de germinação; *TMG*: tempo médio de germinação (dias); *U*: índice de sincronização; *significativo e **altamente significativo à 5% pelo teste F.

Tabela 2. Germinação [G (%)] de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Potencial osmótico (MPa)	Teor de água (%)	Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)				
		0	250	500	750	1000
0	15	71 Bb	91 Aa	86 ABab	87 ABab	90 Aa
	20	90 Aa	91 Aa	92 Aa	95 Aa	84 Aa
	25	79 Aab	90 Aa	84 Aab	75 Ab	91 Aa
	30	76 Aab	56 Bb	70 ABbc	70 ABb	64 ABb
	35	64 Ab	51 Ab	65 Ac	51 Ac	51 Ab
-0,3	15	94 Aa	79 Aa	84 Aa	86 Aa	86 Aab
	20	95 Aa	61 Ca	90 ABa	74 BCab	94 Aa
	25	81 Aa	72 ABa	61 Bb	65 ABb	69 ABb
	30	60 ABb	71 Aa	35 Cc	56 ABbc	46 BCc
	35	35 Ac	34 Ab	29 Ac	40 Ac	35 Ac
-0,6	15	80 Aab	79 Aa	84 Aa	84 Aa	79 Aa
	20	87 Aa	75 ABa	74 ABa	65 Bb	71 ABab
	25	74 Aab	66 Aab	79 Aa	80 Aab	71 Aab
	30	66 Ab	51 Ab	50 ABb	32 Bc	60 Ab
	35	16 Ac	21 Ac	7 Ac	16 Ac	17 Ac
-0,9	15	86 Aa	91 Aa	91 Aa	85 Aa	74 Aab
	20	90 Aa	82 Aab	85 Aa	76 Aab	91 Aa
	25	92 Aa	70 Bb	75 ABab	79 ABab	86 ABa
	30	56 ABb	65 ABb	66 Ab	61 ABb	47 Bc
	35	55 ABb	35 Cc	37 BCc	70 Aab	64 Abc
-1,2	15	76 Aab	80 Aa	85 Aa	79 Aa	85 Aa
	20	61 Bbc	81 Aa	80 Aa	66 ABa	76 ABa
	25	81 Aa	70 Aa	86,2 Aa	73 Aa	75 Aa
	30	50 Ac	41 Ab	36,2 Ab	16 Bb	10 Bb
	35	19 Ad	11 Ac	10 Ac	6 Ab	6,2 Ab
C.V. (%)		8,7				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada potencial osmótico, não diferem significativamente pelo teste de Tukey à 5%.

Tabela 3. Germinação [G (%)] de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Teor de água (%)	Potencial osmótico (MPa)	Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)				
		0	250	500	750	1000
15	0	71 Bb	91 Aa	86 ABa	87 ABa	90 Aa
	-0,3	94 Aa	79 Aa	84 Aa	86 Aa	86 Aa
	-0,6	80 Aab	79 Aa	84 Aa	84 Aa	79 Aa
	-0,9	86 Aab	91 Aa	91 Aa	85 Aa	74 Aa
	-1,2	76 Aab	80 Aa	85 Aa	79 Aa	85 Aa
20	0	90 Aa	91 Aa	92 Aa	95 Aa	84 Aab
	-0,3	95 Aa	61 Cb	90 ABab	74 BCb	94 Aa
	-0,6	87 Aa	75 ABab	74 ABb	65 Bb	71 ABb
	-0,9	90 Aa	82 Aa	85 Aab	76 Ab	91 Aa
	-1,2	61 Bb	81 Aa	80 Aab	66 ABb	76 ABab
25	0	79 Aab	90 Aa	84 Aa	75 Aa	91 Aa
	-0,3	81 Aab	72 ABab	61 Bb	65 ABa	69 ABb
	-0,6	74 Ab	66 Ab	79 Aab	80 Aa	71 Ab
	-0,9	92 Aa	70 Bb	75 ABab	79 ABa	86 ABab
	-1,2	81 Aab	70 Ab	86 Aa	74 Aa	75 Aab
30	0	76 Aa	56 Babc	70 ABa	70 ABa	64 ABa
	-0,3	60 ABab	71 Aa	35 Cc	56 ABa	46 BCa
	-0,6	66 Aab	51 Abc	50 ABbc	32 Bb	60 Aa
	-0,9	56 ABb	65 ABab	66 Aab	61 ABa	47 Ba
	-1,2	50 Ab	41 Ac	36 Ac	16 Bb	10 Bb
35	0	64 Aa	51 Aa	65 Aa	51 Ab	51 Aab
	-0,3	35 Ab	34 Aab	29 Ab	40 Ab	35 Abc
	-0,6	16 Ac	21 Abc	7 Ac	16 Ac	17 Acd
	-0,9	55 ABa	35 Cab	37 BCb	70 Aa	64 Aa
	-1,2	19 Abc	11 Ac	10 Ac	6 Ac	6 Ad
C.V. (%)		8,7				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada teor de água, não diferem significativamente pelo teste de Tukey à 5%.

Tabela 4. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Potencial osmótico (MPa)	Teor de água (%)	Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)				
		0	250	500	750	1000
0	15	19,9 Ab	11,5 Ab	16,8 Aa	12,1 Abc	16,6 Aa
	20	11 ABb	10 Bb	11,1 ABa	23,3 Aab	12 ABa
	25	38,6 Aa	24,8 Ba	10,8 Ca	26,3 ABa	15,3 BCa
	30	11,4 Ab	8 Ab	10,9 Aa	8,3 Ac	9,3 Aa
	35	10,6 Ab	7,6 Ab	9,4 Aa	12,5 Abc	9,9 Aa
-0,3	15	15,4 Aa	14,7 Aa	17,3 Aa	16,5 Aa	15,3 Aab
	20	11,1 Aa	10,1 Aa	14,7 Aab	11,6 Aa	17,9 Aa
	25	7,6 Aa	6,2 Aa	8,7 Aab	11,9 Aa	13,2 Aab
	30	4,8 Aa	7,5 Aa	3,8 Ab	9,4 Aa	4,5 Ab
	35	3,3 Aa	5 Aa	3,5 Ab	7,8 Aa	3,5 Ab
-0,6	15	8,6 Aa	13,7 Aa	7,7 Aa	11 Aab	12 Aa
	20	15,2 ABa	6,1 Ba	6,7 Ba	22,7 Aa	6,9 Ba
	25	6,3 Aa	6,2 Aa	9,4 Aa	8,8 Ab	6,5 Aa
	30	6,1 Aa	4,3 Aa	5,4 Aa	5,2 Ab	6,3 Aa
	35	2,4 Aa	3,8 Aa	1,8 Aa	2,4 Ab	4 Aa
-0,9	15	10,7 Aa	15,8 Aa	11,3 Aa	6,2 Ab	7,2 Ab
	20	9,4 Aa	7,6 Aa	6,6 Aa	8,6 Ab	8,9 Aab
	25	13,2 ABCa	5,7 Ca	10,8 BCa	24,2 Aa	20,6 ABa
	30	5,5 Aa	8,6 Aa	5,6 Aa	5,4 Ab	4,7 Ab
	35	4,2 Aa	4,2 Aa	5,6 Aa	6,8 Ab	8,4 Aab
-1,2	15	9 Aa	7,7 Aa	11 Aa	13,5 Aa	12,5 Aa
	20	6,8 Aa	14,9 Aa	8,8 Aa	10,2 Aa	8,3 Aa
	25	10,2 Aa	6,5 Aa	6,3 Aa	5,1 Aa	8,1 Aa
	30	8,5 Aa	8,8 Aa	3,5 Aa	3,4 Aa	2,2 Aa
	35	5 Aa	1,7 Aa	2 Aa	2,1 Aa	2,3 Aa
C.V. (%)		29,6				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada potencial osmótico, não diferem significativamente pelo teste de Tukey à 5%.

Tabela 5. Tempo médio de germinação [TMG (dias)] de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Potencial osmótico (MPa)	Teor de água (%)	Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)				
		0	250	500	750	1000
0	15	26 Aa	23 Aa	25 Aa	25 Aa	27 Aa
	20	27 Aa	29 Aa	26 Aa	26 Aa	28 Aa
	25	25 Aa	24 Aa	23 Aa	24 Aa	25 Aa
	30	29 Aa	31 Aa	27 Aa	32 Aa	34 Aa
	35	38 Aa	29 Aa	30 Aa	35 Aa	29 Aa
-0,3	15	29 Aa	28 Aa	29 Aa	26 Aa	28 Aa
	20	31 Aa	32 Aa	32 Aa	31 Aa	29 Aa
	25	37 Aa	34 Aa	35 Aa	31 Aa	31 Aa
	30	37 Aa	34 Aa	35 Aa	32 Aa	37 Aa
	35	39 Aa	36 Aa	35 Aa	29 Aa	28 Aa
-0,6	15	33 Aa	34 Aa	32 Aa	34 Aa	29 Aa
	20	29 Aa	37 Aa	35 Aa	29 Aa	36 Aa
	25	41 Aa	36 Aa	37 Aa	31 Aa	37 Aa
	30	35 Aa	35 Aa	38 Aa	36 Aa	36 Aa
	35	43 Aa	41 Aa	30 ABa	17 Ba	42 Aa
-0,9	15	34 Aa	29 Aa	32 Aa	31 Aa	34 Aa
	20	38 Aa	37 Aa	34 Aa	38 Aa	33 Aa
	25	35 Aa	36 Aa	35 Aa	30 Aa	32 Aa
	30	40 Aa	38 Aa	34 Aa	33 Aa	39 Aa
	35	38 Aa	27 Aa	31 Aa	33 Aa	30 Aa
-1,2	15	31 Aa	33 Aa	33 Aa	30 Aa	31 Aab
	20	35 Aa	33 Aa	37 Aa	32 Aa	31 Aab
	25	39 Aa	34 Aa	36 Aa	38 Aa	33 Aab
	30	42 Aa	36 ABa	38 Aa	33 ABa	19 Bb
	35	47 Aa	44 Aa	33 Aa	37 Aa	43 Aa
C.V. (%)		9,7				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada potencial, não diferem significativamente pelo teste de Tukey à 5%.

Tabela 6. Índice de sincronização (U) da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Potencial osmótico (MPa)	Teor de água (%)	Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)				
		0	250	500	750	1000
0	15	2,4 Aa	2,6 Aa	2,4 Aa	2,8 Aa	2,6 Aa
	20	2,4 Aa	2,7 Aa	2,8 Aa	2,5 Aa	2,8 Aa
	25	2,2 Aa	2,5 Aa	2,4 Aa	2,9 Aa	2,5 Aa
	30	2,8 Aa	2,8 Aa	2,9 Aa	2,8 Aa	2,4 Aa
	35	2,8 Aa	2,4 Aa	2,8 Aa	2,9 Aa	2,5 Aa
-0,3	15	3 Aa	2,7 Aab	2,9 Aa	2,5 Aa	2,9 Aa
	20	2,8 Aa	2,7 Aab	3 Aa	2,8 Aa	3 Aa
	25	3,1 Aa	2,6 Aab	2,8 Aa	2,8 Aa	2,8 Aab
	30	2,8 Aa	2,9 Aa	2,1 Aa	2,9 Aa	2,6 Aab
	35	2,3 Aa	1,5 Ab	2,2 Aa	1,9 Aa	1,6 Ab
-0,6	15	3,1 Aa	3 Aa	3 Aa	3,1 Aa	3 Aa
	20	2,7 Aa	2,9 Aa	2,9 Aa	2,7 Aa	3,1 Aa
	25	2,9 Aa	2,7 Aa	2,8 Aa	2,9 Aa	2,7 Aa
	30	3 Aa	2,6 Aa	2,6 Aa	2,4 Aa	2,5 Aa
	35	1,4 Ab	1,2 Ab	0,4 Ab	0,7 Ab	1,1 Ab
-0,9	15	2,9 Aa	2,9 Aa	3,1 Aa	2,9 Aa	3 Aa
	20	2,9 Aa	3,2 Aa	2,8 Aa	3 Aa	2,9 Aa
	25	3,1 Aa	2,9 Aa	2,9 Aa	3,2 Aa	2,9 Aa
	30	2,8 Aa	2,7 Aa	2,6 Aa	2,9 Aa	2,5 Aa
	35	2,8 Aa	2,2 Aa	2,3 Aa	2,8 Aa	2,7 Aa
-1,2	15	2,9 Aa	2,9 Aa	2,8 Aa	2,8 Aa	3,1 Aa
	20	2,9 Aa	3,2 Aa	2,9 Aa	2,7 Aa	2,5 Aa
	25	2,9 Aa	2,8 Aa	2,8 Aa	2,6 Aa	2,8 Aa
	30	2,7 Aa	2,2 ABa	2,3 Aa	1,2 BCb	0,6 Cb
	35	1,2 Ab	1 Ab	0,6 Ab	0,2 Ab	0,2 Ab
C.V. (%)		14				

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha em cada potencial osmótico, não diferem significativamente pelo teste de Tukey à 5%.

4. Capítulo II

Varição de açúcares solúveis em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento osmótico e GA₃*

Juliana I. Gimenez^{1,2} e Gisela Ferreira¹

¹ Departamento de Botânica, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP.

² Autor para correspondência: julianaiassia@gmail.com

* Parte integrante da Dissertação do primeiro autor (CNPq 133981/2010-0)

Resumo - O objetivo deste trabalho foi verificar a variação de açúcares solúveis nas sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA₃. Sementes com o teor de água inicial de 10% foram condicionadas nos potenciais 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa até a obtenção dos teores de 15, 20, 25, 30 e 35% de água e em um segundo experimento, as sementes foram hidrocondicionadas (0 MPa) com as concentrações de 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃ até a obtenção dos teores de 15, 20, 25, 30 e 35% de água, sob temperatura constante de 25°C. Ao término do período de condicionamento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação e à quantificação de açúcares solúveis. Com o condicionamento osmótico nos diferentes potenciais e o hidrocondicionamento com as diferentes concentrações de GA₃, até a obtenção dos maiores teores de água (30% e 35%), verificou-se menores teores de açúcares solúveis totais, os quais promoveram menores porcentagens de germinação. Porém, quando o condicionamento das sementes de *Annona emarginata* nos diferentes potenciais osmóticos ou com as diferentes concentrações de GA₃ é realizado até a obtenção do teor de 20% de água, são observados altos teores de açúcares solúveis totais, representados por altas concentrações de sacarose e glicose, e elevada porcentagem de germinação.

Palavras-chave: Annonaceae, germinação, mobilização de reserva, potenciais osmóticos.

Abstract - The present study aimed to verify the variation of soluble sugars in *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer seeds, submitted to priming in different osmotic potentials and hydropriming with different concentrations of GA₃. Seeds with 10% of initial water content were submitted to priming at 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa, until they reached 15, 20, 25, 30 e 35% of water content and in a second test, the seeds were hydroprimed (0MPa) with GA₃ concentrations of 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ until they reached 15, 20, 25, 30 e 35% of water content, at constant temperature of 25°C. By the end of the priming period, the seeds were submitted to germination test and quantification of soluble sugars. With osmopriming at different potentials and hydropriming with different concentrations of GA₃, until achieving the highest water content (30% and 35%), there is lower amount of soluble sugars, which promoted the lowest percentages of germination. However, when the priming of *Annona emarginata* seeds at different osmotic potential or with different GA₃ concentrations is conducted until 20% of water content, high levels of total soluble sugars are observed, represented by high concentrations of sucrose and glucose, and high germination percentage.

Keywords: Annonaceae, germination, reserve mobilization, osmotic potential.

Introdução

O crescente interesse pela produção de frutas da família Annonaceae, principalmente a fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), a atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.) (Donadio, 1997), leva à necessidade do conhecimento da fisiologia da germinação, visando fornecer subsídios para a produção de mudas de qualidade para a instalação de novos pomares. Considerando que a enxertia é o método de propagação mais indicado para as anonáceas (Gama e Manica, 1994), a espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, conhecida populamente como Araticum de terra fria, é sugerida como portaenxerto para as espécies comerciais da família Annonaceae (Tokunaga, 2000; Scaloppi Junior, 2007).

O interesse em *Annona emarginata* como portaenxerto deve-se à tolerância às podridões de raízes e colo (*Phytophthora nicotianae* var. parasítica e *Pythium* sp.) e às coleobrocas (*Cratosomus bombina*), além da resistência a solos secos e úmidos (Bonaventure, 1999). Além disso, esta espécie quando utilizada como portaenxerto para atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) e cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), resulta nos maiores índices de sobrevivência, comprimento de ramos e número de folhas (Almeida, 2009).

Neste contexto, são observados problemas com a formação de mudas decorrentes da dormência presente nas sementes da família Annonaceae (Vieira e Irber, 1996). Como causa da dormência, cita-se a impermeabilidade do tegumento observada nas espécies *Annona squamosa* L. (Pawshe *et al.*, 1997) e *Annona cherimola* Mill. (Smet *et al.*, 1999). Entretanto, Ferreira *et al.* (1997), Ferreira *et al.* (2006) e Costa *et al.* (2011) verificaram que sementes de *Annona squamosa* L., *Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L. e *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, respectivamente, não apresentam impermeabilidade, embora a entrada de água nas sementes seja lenta e desuniforme.

Nas espécies *Annona diversifolia* Saff. e *Annona purpurea* Moc. e Sessé ex Dunal, Ferreira (2011) observou que há aquisição de água pelas sementes. O autor ainda relata que o emprego de 200 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + Benziladenina promoveu a germinação destas espécies (77% e 30%, respectivamente), comparado à testemunha seca que se manteve dormente até o fim do experimento.

Em *Annona emarginata*, Corsato (2010) obteve a superação da dormência das sementes com a aplicação de 250 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina e relata, que a baixa porcentagem de germinação pode ser consequência do balanço hormonal entre promotores e inibidores da germinação, visto que com o uso dos reguladores vegetais, houve a superação da dormência.

Além dos reguladores vegetais, o condicionamento osmótico também tem sido empregado em várias espécies (Farooq *et al.*, 2006; Yari *et al.*, 2012), para a superação da dormência e o aumento da porcentagem de germinação (Elkoca *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2010; Yadav *et al.*, 2011). Esta técnica consiste na imersão das sementes em soluções osmóticas por determinados períodos e temperaturas, permitindo a entrada de água em menor velocidade e de maneira controlada, sem atingir umidade suficiente para a protrusão da radícula (Varier *et al.*, 2010).

O hidrocondicionamento, que consiste na imersão das sementes em água (0 MPa), também tem sido empregado com sucesso no incremento da germinação de várias espécies, como *Oryza sativa* L. (Farooq *et al.*, 2006), *Lycopersicon esculentum* Mill., *Solanum melongena* L., *Capsicum annum* L. (Venkatasubramanian e Umarani, 2007), *Brassica juncea* L. (Srivastava *et al.*, 2010) e *Parkia pendula* Benth ex Walp (Pinedo e Ferraz, 2008). Esta técnica é relatada como econômica, de fácil manuseio e “ecologicamente correta”, pois somente a água é necessária para o condicionamento (Ghassemi-Golezani *et al.*, 2008; Mir-Mahmoodi *et al.*, 2011). Neste tratamento, o controle da quantidade de água adquirida é realizado pelo tempo em que as sementes ficam nas soluções ou pela temperatura (Anese *et al.*, 2011), visto que temperaturas mais altas provocam a redução da viscosidade e aumento na energia cinética da água, aumentando a velocidade de aquisição de água (Marcos Filho, 2005).

O condicionamento osmótico e o hidrocondicionamento também têm sido realizados com a associação de reguladores vegetais, tais como Ácido Giberélico (Mendonça *et al.*, 2005; Menezes *et al.*, 2006; Lopes e Souza, 2008), Metil Jasmonato (Korkmaz *et al.*, 2004; Tiryaki *et al.*, 2005), Ácido Acetil Salicílico (Korkmaz, 2005) e Benzilaminopurina (Tiryaki *et al.*, 2004; Tiryaki e Buyukcingil, 2009).

Várias pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de elucidar as alterações de caráter fisiológico e bioquímico, que ocorrem nas sementes submetidas ao condicionamento. Em sementes hidrocondicionadas de *Solanum lycocarpum*, Anese *et al.* (2011) atribuíram o aumento na taxa germinativa, ao enfraquecimento do endosperma causado pelo aumento na atividade da enzima endo- β -mananase. Esta enzima realiza a hidrólise de galactomananos depositados nas paredes celulares, o que leva ao enfraquecimento do endosperma, oferecendo menor resistência ao alongamento do embrião e protrusão da radícula.

O aumento na síntese e a ativação inicial de enzimas de quebra e mobilização de reservas (α e β -amilase, Isocitrato Liase) e de remoção de radicais livres (Catalase e Superóxido Dismutase) é observado em sementes submetidas ao osmo- e

hidrocondicionamento (Varier *et al.*, 2010). O condicionamento osmótico aumentou a atividade das enzimas Isocitrato Liase e Malato Sintase (conversão lipídeo-carboidrato) em sementes de *Momordica charantia* L. (Lin e Sung, 2001) e *Echinacea purpurea* L. Moench (Chiu *et al.*, 2006), o que por sua vez promoveu aumento na porcentagem de emergência de plântulas. Além disso, processos como a sincronização das fases do ciclo celular, aumento na produção de ATP e alterações na expressão de genes envolvidos no metabolismo celular são relatados como efeitos do condicionamento (Varier *et al.*, 2010).

O objetivo deste trabalho foi verificar as variações nos teores de açúcares solúveis de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos e ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA₃.

Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos de condicionamento com as sementes de *Annona emarginata*. No primeiro, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 (potenciais osmóticos x teores de água), sendo empregados os potenciais 0, -0,3, -0,6, -0,9 e -1,2 MPa até obtenção dos teores de 15, 20, 25, 30 e 35% de água. No segundo experimento, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 5 (concentrações de GA₃ x teores de água), no qual as sementes foram hidrocondicionadas (0 MPa) com as concentrações de 0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹ de GA₃ até obtenção dos teores de 15, 20, 25, 30 e 35% de água.

Os diferentes teores de água atingidos pelas sementes durante os tratamentos de condicionamento correspondem à fase I do processo de germinação, considerando-se que com 35% de água ocorre a mudança da fase I para a fase II (Marcos Filho, 2005), conforme observado em experimento prévio.

Ao fim do condicionamento parte das sementes foi submetida ao teste de germinação conduzido em rolos de papel do tipo 'germitest', umedecidos com água deionizada em 2,5x o seu peso seco e levados para germinador sob temperatura e fotoperíodo alternados (8 horas de escuro à 20°C e 16 horas de luz à 30°C). A contagem das sementes germinadas foi realizada à cada 2 dias, considerando-se como germinadas, as sementes com no mínimo 2mm de raiz primária (Hadas, 1976). Outra parte das sementes foi imersa em nitrogênio líquido e armazenada em ultrafreezer (-80°C) para quantificação dos teores de açúcares solúveis.

A extração dos açúcares solúveis foi realizada segundo metodologia adaptada de Garcia *et al.* (2006), a partir de 100 mg de sementes (inteiras) moídas. Em virtude das

sementes terem sido coletadas em nitrogênio líquido, não foi necessária a etapa de inativação de enzimas. A extração foi realizada com etanol 80% na proporção de 1:10 (p:v) à 80°C por 15 minutos. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 12000 rpm por 15 minutos em temperatura ambiente. Ao término da centrifugação, retirou-se o sobrenadante, reservando-o em tubos devidamente identificados. O procedimento de extração foi repetido por mais duas vezes, para a retirada completa de todos os açúcares solúveis, unindo os sobrenadantes das três extrações.

Os sobrenadantes tiveram seu volume igualado e foram submetidos à quantificação dos açúcares solúveis totais por análise colorimétrica pelo método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956), utilizando solução de glicose ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) como padrão. A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro a 490 nm, em triplicatas para cada amostra, sendo os açúcares solúveis totais expressos em miligramas por grama de massa seca (mg g^{-1} MS).

Posteriormente, para a purificação, separou-se 1 mL das amostras, sendo deionizadas em colunas contendo resinas de troca catiônica e aniônica Dowex, eluídas com 10 volumes de água deionizada. O material purificado teve seu pH neutralizado com hidróxido de amônio e concentrados até secagem completa em liofilizador. As amostras foram então ressuspensas em 1 mL de água deionizada e quantificados novamente pelo método fenol-sulfúrico. O volume de cada amostra, contendo aproximadamente 400 μg de açúcares solúveis totais, foi analisado por meio de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) em cromatógrafo DIONEX, modelo ICS3000, em coluna CarboPac PA-1, sendo os resultados expressos em microgramas por grama de massa seca ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS). O sistema de eluição foi isocrático com 250 mM de hidróxido de sódio (eluente B) em água (eluente A), com fluxo de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ (Garcia *et al.*, 2006).

Os dados do teste de germinação e quantificação de açúcares solúveis foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas pelo teste de Dunnett e teste de Tukey à 5% de probabilidade (Gomes, 1990; Mischan e Pinho, 1996).

Resultados

Açúcares Solúveis Totais

Por meio da análise de variância verifica-se que o teor de água, o potencial osmótico e a interação entre estes fatores foram significativos, o que indica que houve efeito destes fatores sobre os teores de açúcares solúveis totais e sobre a porcentagem de germinação (Tabela 1).

Na figura 1 observa-se que em todos os potenciais quanto maior o teor de água atingido pelas sementes (30% e 35%), menores são os teores de açúcares solúveis totais, sendo os maiores valores observados nas sementes condicionadas até a obtenção de 15% e/ou 20% de água. Nas sementes com os maiores teores de água (30 e 35%), os teores de açúcares solúveis totais apresentam-se menores à medida que se reduz o potencial das soluções de condicionamento.

Na figura 2 (A), observa-se que independente do tempo que as sementes levaram para atingir o teor de 35% de água durante o condicionamento, em todos os potenciais osmóticos houve redução da porcentagem de germinação, o que coincidiu com os menores teores de açúcares solúveis totais (Figura 1). Analisando-se a germinação das sementes (Figura 2B), com os diferentes teores de água ao longo da variação dos potenciais osmóticos, verifica-se que com os teores de 30% e 35% de água, a porcentagem de germinação diminuiu à medida que reduz o potencial osmótico da solução, semelhante ao que é observado com os teores de açúcares solúveis totais (Figura 1).

Em relação aos demais teores de água (Figura 2B), verifica-se que todos apresentaram alta porcentagem de germinação nos diferentes potenciais, inclusive com o hidrocondicionamento, demonstrando desta forma, que o simples condicionamento em água é suficiente para promover alta porcentagem de germinação das sementes de *A.emarginata*. Portanto, realizou-se o segundo experimento adotando-se o hidrocondicionamento (0 MPa) associado ao regulador vegetal (GA_3), até a obtenção dos diferentes teores de água para verificar possíveis aumentos na taxa germinativa.

Desta forma, verifica-se na tabela 2 que o teor de água, a concentração de GA_3 e a interação entre estes fatores foram significativos, o que indica que houve efeito destes fatores sobre os teores de açúcares solúveis totais. Para a porcentagem de germinação, a concentração de GA_3 não foi significativa, porém a interação deste fator com o teor de água foi significativo, demonstrando o efeito da interação dos fatores sobre a porcentagem de germinação.

O tempo de imersão das sementes foi diferente para atingir cada um dos teores de água. Desta forma, verifica-se na figura 3 que para atingir 15% de água as sementes ficaram imersas por 3 horas, para 20% ficaram imersas por 8 horas, para 25% ficaram imersas por 18 horas, para 30% ficaram imersas por 42 horas e para atingir 35% ficaram imersas por 98 horas. Portanto, para atingir cada teor de água, as sementes ficaram imersas por diferentes tempos nas soluções com as concentrações de GA_3 .

Com base na figura 4 verifica-se que os maiores teores de açúcares solúveis totais são observados de modo geral, nas sementes hidrocondicionadas até 20% de água e, com este teor de água o maior valor é observado nas sementes hidrocondicionadas sem o emprego de GA₃ (0 mg L⁻¹). Além disso, sementes com o teor de 35% de água, em todas as concentrações de GA₃, apresentam os menores valores de açúcares solúveis totais.

Na figura 5 (A) verifica-se que com ou sem o emprego de GA₃, a porcentagem de germinação diminuiu à medida que as sementes atingiram os maiores teores de água. Esta redução na porcentagem de germinação coincide com os menores teores de açúcares solúveis totais nas sementes com teores de 30% e 35% de água (Figura 4) o qual é confirmado pela figura 5 (B), na qual verifica-se que independente das concentrações de GA₃, as menores porcentagens de germinação foram obtidas nas sementes condicionadas até 30% e 35% de água.

Verifica-se na tabela 3, pelo teste de Dunnett, que o teor de 20% de água promove altas porcentagens de germinação, entretanto somente com o emprego das concentrações de 500 e 750 mg L⁻¹ de GA₃ estas porcentagens são significativamente maiores em relação à testemunha (79%). Além disso, é possível observar que o teor de 35% de água sempre apresenta porcentagem de germinação significativamente inferior à testemunha.

Variação dos teores de açúcares solúveis: sacarose, glicose, frutose e myo-inositol

Analisando-se o perfil dos açúcares solúveis por meio de cromatografia líquida de alta resolução, verificou-se nas sementes secas (10% água), 55,6% de sacarose, 38,8% de glicose, 3,7% de frutose e 1,9% de *myo*-inositol.

Na tabela 4, observa-se que o potencial osmótico, o teor de água e a interação entre estes fatores foram significativos, o que indica que houve efeito destes fatores sobre os teores de todos os açúcares solúveis analisados.

Na figura 6, verifica-se que com a redução no potencial osmótico, as concentrações de sacarose apresentaram-se altas em diferentes teores de água. Quando as sementes foram condicionadas nos potenciais 0 e -0,3 MPa, as concentrações mais altas deste açúcar são observadas nas sementes com os teores de 20% e 25% de água. Quando o potencial das soluções foi reduzido para -0,6 e -0,9 MPa, as concentrações mais altas de sacarose ocorrem nas sementes com os teores de 15% e 20% de água. No menor potencial osmótico (-1,2 MPa), as concentrações mais altas deste açúcar são observadas nas sementes com os teores de 15% e 25% de água.

Para a glicose (Figura 6) verifica-se nos potenciais 0, -0,3, -0,6 e -0,9 MPa que as concentrações mais altas ocorrem nas sementes com teor de até 20% de água, ao passo que nos maiores teores de água (25%, 30% e 35%) os valores deste açúcar são baixos. Já no potencial -1,2 MPa observa-se altas concentrações de glicose nas sementes com teores de 15% e 25% de água e nos maiores teores de água, esse açúcar apresenta-se em baixas concentrações.

A frutose (Figura 6) apresenta-se em altas concentrações nas sementes com os maiores teores de água, em todos os potenciais osmóticos empregados. Observa-se na figura 6, que as concentrações de *myo*-inositol nas sementes condicionadas nos potenciais 0, -0,3, -0,9 e -1,2 MPa são altas quando estas atingem os maiores teores de água. Ao passo que com o potencial -0,6 MPa, a concentração mais alta deste açúcar é observada quando as sementes atingem 25% de água.

Observa-se que altas concentrações de sacarose e glicose resultaram em maiores porcentagens de germinação. Na figura 6 verifica-se que nos potenciais 0, -0,3, -0,6 e -0,9 MPa as concentrações mais altas de sacarose e glicose ocorrem nas sementes com 20% de água, o que coincide com as maiores porcentagens de germinação (Figura 2A). Já no potencial -1,2 MPa as concentrações mais altas de sacarose e glicose ocorrem nas sementes com 15% e 25% de água (Figura 6), sendo observadas também nestes teores, as maiores porcentagens de germinação (Figura 2A).

Para as concentrações de frutose e *myo*-inositol parece haver uma correlação inversa com a porcentagem de germinação. Ao passo que as concentrações mais altas de frutose ocorrem nas sementes com os maiores teores de água (Figura 6), houve redução da porcentagem de germinação (Figura 2A). Para o *myo*-inositol, esta mesma correlação foi verificada nos potenciais 0, -0,3, -0,9 e -1,2 MPa, enquanto no potencial -0,6 não houve correlação com a porcentagem de germinação.

Desta forma, as concentrações altas de sacarose e glicose, nas sementes condicionadas até a obtenção de 20% de água, podem ser responsáveis pelas altas porcentagens de germinação das sementes com este teor de água. Por outro lado, a frutose e o *myo*-inositol parecem estar correlacionados com a redução na porcentagem de germinação à medida que aumenta o teor de água das sementes.

Para o hidrocondicionamento com as diferentes concentrações de GA₃, a análise de variância demonstrou que os teores de água, as concentrações de GA₃ e a interação entre estes fatores foram significativos, o que indica que houve efeito destes fatores sobre todos os açúcares solúveis analisados (Tabela 5).

Na figura 7 observa-se que empregando as concentrações de 0, 250, 500 e 750 mg L⁻¹ de GA₃, altas concentrações de sacarose e glicose ocorrem nas sementes com 20% de água. Verifica-se na figura 5 (A), que há correlação destas altas concentrações de sacarose e glicose com as maiores porcentagens de germinação observadas nas sementes com teor de 20% de água.

Quando empregou-se 1000 mg L⁻¹ de GA₃, pode-se verificar alta concentração de glicose nas sementes com 20% de água, porém a sacarose apresentou-se em altas concentrações nos teores de 15% e 25% de água. Observando-se a figura 5 (A) parece haver correlação das maiores porcentagens de germinação com as altas concentrações de sacarose.

Na figura 7, observa-se que com o emprego de qualquer concentração do regulador, a frutose apresenta altas concentrações nas sementes com os maiores teores de água. Observa-se relação inversa deste açúcar com as porcentagens de germinação, inclusive quando empregou-se 250 mg L⁻¹ de GA₃ até as sementes atingirem 30% de água, no qual houve alta concentração de frutose (Figura 7) e redução drástica da porcentagem de germinação (Figura 5A).

Para o *myo*-inositol, verifica-se na figura 7 que há altas concentrações deste açúcar nas sementes com maiores teores de água (30% e 35%). Porém, observando a figura 5 (A) nota-se que a porcentagem de germinação diminui nos maiores teores de água atingidos pela semente, sugerindo desta forma, uma correlação inversa nas concentrações de *myo*-inositol com as porcentagens de germinação.

Desta forma, para a combinação dos potenciais osmóticos com os diferentes teores de água e também para a combinação das concentrações de GA₃ com os teores de água, observa-se uma possível correlação das altas concentrações de sacarose e glicose com as altas porcentagens de germinação. Além disso, a frutose e o *myo*-inositol parecem ter correlação inversa com a germinação, pois nos tratamentos em que verificou-se altas concentrações destes açúcares, ocorreram menores porcentagens de germinação.

Discussão

Açúcares como a sacarose, glicose e frutose apresentam papel essencial no metabolismo das plantas, pois além de servirem como substrato para a respiração, são fontes de carbono para a produção de uma grande variedade de metabólitos incluindo aminoácidos, lipídeos, proteínas e carboidratos mais complexos, como o amido e a celulose. Estes açúcares também têm desempenhado o papel de sinalizadores moleculares, os quais podem interagir

com diferentes hormônios vegetais e causar alterações na expressão gênica (Rolland *et al.*, 2006).

No presente trabalho, observou-se que durante o condicionamento (fase I de aquisição de água) há um acúmulo de açúcares solúveis totais quando as sementes de *A.emarginata* atingem teores em torno de 20% de água, o que indica a possível degradação de lipídeos originando açúcares, uma vez que as sementes de *A.emarginata* apresentam alto teor de lipídeos e baixo de amido (Corsato, 2010). Este aumento nas concentrações de açúcares solúveis totais no teor de 20% de água, das sementes de *A.emarginata*, é refletido pelas altas concentrações de sacarose e glicose, o que reafirma a formação dos açúcares solúveis vindos da degradação de lipídeos.

Bogatek *et al.* (2002) observaram aumento nas concentrações de sacarose, acompanhado pelo aumento de glicose e frutose, em sementes de *Malus domestica* Borb., após dois dias de embebição. Os autores correlacionaram este aumento com a alta atividade da enzima Isocitrato Liase, sugerindo que as altas concentrações de açúcares originavam-se da degradação de lipídeos. Neste contexto, Suda e Giorgini (2000) observaram que em sementes de *Euphorbia heterophylla* L., houve diminuição em torno de 70% nos níveis de lipídeos, entre 3 e 4 dias após o início da embebição.

Por meio da gliconeogênese, os lipídeos das sementes armazenados na forma de triglicerídeos, são hidrolisados resultando em glicerol e ácidos graxos livres. O glicerol é utilizado na síntese de glicose, ao passo que os ácidos graxos livres são degradados gerando acetil, que também será utilizado na síntese de glicose ou na respiração. De modo geral, a glicose é utilizada na síntese de sacarose, a qual é transportada para o eixo embrionário (Buckeridge *et al.*, 2004).

A sacarose é o açúcar solúvel encontrado em maiores concentrações nas sementes de *A. emarginata*, assim como em sementes de *Platymiscium pubescens* Micheli (Borges *et al.*, 2002). Este açúcar, além de atuar como substrato para a síntese de oligossacarídeos da série rafínósica, têm efeito crioprotetor direto sobre as membranas celulares, contribuindo para a tolerância à dessecação e ao congelamento em sementes de algumas espécies (Uemura e Steponkus, 2003).

Desta forma, a alta concentração de açúcares solúveis nas sementes com 20% de água pode ter sido utilizada para a germinação, visto que com o condicionamento até este teor de água houve maiores porcentagens de germinação. Em sementes de *Euphorbia heterophylla* L. foi observado acúmulo de açúcares solúveis totais com 96 horas de embebição, sendo os lipídeos utilizados como fonte de energia (Suda e Giorgini, 2000).

Neste trabalho, observou-se também baixas concentrações de açúcares solúveis totais nas sementes de *A.emarginata* condicionadas por mais tempo, ou seja, até a obtenção dos maiores teores de água (principalmente 35%). Estas baixas concentrações de açúcares solúveis podem ser consequência da lixiviação destes para a solução de condicionamento, o que por sua vez causou menor disponibilidade de açúcares para o processo germinativo, visto que estes tratamentos apresentaram menores porcentagens de germinação. Estas afirmativas encontram embasamento nos trabalhos de Rosa *et al.* (2007) e Borges *et al.* (2000), nos quais os maiores valores de açúcares solúveis totais lixiviados de sementes de *Coffea arabica* L. e *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr.All, respectivamente, foram observados nas soluções onde o condicionamento foi realizado por períodos maiores. Os autores atribuem a redução na porcentagem de germinação como consequência da baixa disponibilidade de açúcares nestes tratamentos.

Outro aspecto a ser discutido é de que baixas concentrações de açúcares solúveis também foram observadas nas sementes de *A.emarginata* quando condicionadas nos menores potenciais, até a obtenção dos maiores teores de água (30% e 35%). As baixas concentrações verificadas nestes tratamentos podem ser em decorrência do gasto destes açúcares para a manutenção do metabolismo das sementes, sob o estresse do excesso de água. Deste modo, menores concentrações ficaram disponíveis para o processo germinativo, o que resultou em baixa porcentagem de germinação em relação àqueles com potenciais mais altos e com menores teores de água nas sementes (Figura 2).

Deste modo, a germinação sob condições de excesso de água pode ser estimulada ou inibida, dependendo do tempo que as sementes permanecem na água e as espécies consideradas (Kozłowski, 1997). Diferente do observado nas sementes de *A.emarginata*, cultivares de *Zea mays* L., apresentam acúmulo de açúcares solúveis sob estresse hídrico, os quais promovem a regulação osmótica das células e a estabilização de membranas mantendo o turgor, demonstrando desta forma, a tolerância destas variedades ao estresse hídrico (Mohammadkhani e Heidari, 2008). A tolerância ao estresse hídrico também foi correlacionada ao acúmulo de açúcares solúveis em sementes de *Triticum aestivum* L. (Qayyum *et al.*, 2011). Neste contexto, verifica-se que a análise dos compostos de reservas das sementes pode ser utilizada como uma ferramenta para o entendimento de aspectos ecológicos da germinação e estabelecimento de plantas e, suas adaptações ao ambiente em que está inserida (Ferreira *et al.*, 2009).

Outra possível causa para a redução na porcentagem de germinação das sementes de *A.emarginata* condicionadas nos menores potenciais, pode ser a baixa disponibilidade de

oxigênio, considerando que o sistema artificial de aeração talvez não tenha sido eficiente. Com o aumento na atividade respiratória necessária para a germinação, as sementes nas soluções de potenciais muito baixos podem não ter alcançado nível de respiração adequado para a manutenção do metabolismo.

Desta forma, em situação de hipoxia (insuficiência de O₂) é ativada a fermentação, um tipo de metabolismo anaeróbico no qual há produção de compostos parcialmente oxidados, como o etanol (Raymond *et al.*, 1985). O etanol quando acumulado em altas concentrações é tóxico às células, ocasionando danos no sistema de membranas e deterioração da semente, os quais comprometem a germinação (Kodde *et al.*, 2012). Estes danos facilitam a lixiviação de açúcares solúveis totais, conforme relatado anteriormente. Além disso, na fermentação há baixa conversão de energia, visto que apenas uma pequena parte desta é conservada como ATP e outra parte é retida nos produtos da fermentação (etanol, lactato).

No caso de sementes oleaginosas como de *A.emarginata*, há maior necessidade de oxigênio para a produção de energia, pois os lipídeos são estruturas ricas em carbono e pouco oxidadas, o que torna baixo o quociente respiratório (QR <1) destas sementes. O quociente respiratório representa a relação entre CO₂ liberado e O₂ consumido, variando em função do substrato oxidado (Al-Ani *et al.*, 1985; Raymond *et al.*, 1985). Neste caso, pode-se compreender a importância do oxigênio para a germinação. Evidencia-se pela constituição da semente a necessidade de maiores níveis de oxigênio, o qual foi alcançado com potenciais maiores e menores tempos de condicionamento.

Neste trabalho, verificou-se que o condicionamento em água (hidrocondicionamento) foi suficiente para promover altas porcentagens de germinação nas sementes de *A.emarginata*, não necessitando desta forma, empregar o condicionamento osmótico que envolve o custo do agente osmótico (PEG). Resultados semelhantes foram obtidos por Ashraf e Razmjoo (2010), no qual observou-se maiores porcentagens de germinação de sementes de *Carthamus tinctorius* L., quando empregou-se o hidrocondicionamento.

Outros autores também relatam o aumento na porcentagem de germinação com o hidrocondicionamento (Farooq *et al.*, 2006; Venkatasubramanian e Umarani, 2007; Srivastava *et al.*, 2010). Nesta técnica, o controle da quantidade de água adquirida é realizado pelo tempo em que as sementes ficam imersas nas soluções, ou ainda pela temperatura de condicionamento (Anese *et al.*, 2011), visto que temperaturas mais altas provocam a redução da viscosidade e aumento na energia cinética da água, aumento a velocidade de aquisição de água (Marcos Filho, 2005).

Considerando que o hidrocondicionamento promove o aumento na síntese e atividade de enzimas de quebra e mobilização de reservas, tais como as amilases e a Isocitrato Liase (Varier *et al.*, 2010), considera-se que o hidrocondicionamento das sementes de *A.emarginata* possa ter aumentado a síntese/atividade das enzimas de degradação de lipídeos, promovendo alta porcentagem de germinação. Anese *et al.* (2011) também obtiveram aumento na porcentagem de germinação após o hidrocondicionamento e, correlacionaram este aumento com a alta atividade da enzima endo- β -mananase, a qual realiza a hidrólise de galactomananos (polissacarídeo) depositados nas paredes celulares, promovendo o enfraquecimento do endosperma de modo a oferecer menor resistência ao alongamento do embrião e protrusão da radícula.

Quando empregou-se a técnica de hidrocondicionamento até o teor de 15% de água com as diferentes concentrações de ácido giberélico, foi possível observar que o emprego de 250 mg L⁻¹ de GA₃ foi suficiente para promover o aumento da porcentagem de germinação das sementes de *A.emarginata*. Este aumento na taxa germinativa pode ser refletido como consequência da alta concentração de sacarose observada neste tratamento.

O grupo das giberelinas está envolvido na germinação promovendo a produção e/ou reativação de várias enzimas hidrolíticas envolvidas na solubilização das reservas do endosperma (Taiz e Zeiger, 2010), tal como foi demonstrado em grãos de cereais, nos quais a giberelina atua na expressão de genes para síntese de α -amilase (Olszewski *et al.*, 2002).

Neste contexto, diversos trabalhos foram desenvolvidos empregando-se GA₃ no hidrocondicionamento das sementes de espécies da família Annonaceae, tais como *Annona diversifolia* Saff. (Campbell e Popenoe, 1968), *Annona muricata* L. (Pinto, 1976), *Annona squamosa* L. (Pawshé *et al.*, 1997; Ferreira *et al.*, 2002; Stenzel *et al.*, 2003), *Annona reticulata* L. (Valenzuela e Osório, 1998) e *Annona cherimola* Mill. (Jubes *et al.*, 1975; Smet *et al.*, 1999). Braga *et al.* (2010), trabalhando com *Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L., obtiveram alta porcentagem de germinação (89,44%) empregando 520 mg L⁻¹ de GA₃, comparado a 52% da testemunha.

Porém, todos estes trabalhos utilizam o hidrocondicionamento pelo período correspondente à mudança da fase I para a fase II da curva de aquisição de água, o qual nas sementes de *A.emarginata* (35% de água) apresentou as menores porcentagens de germinação, possivelmente devido ao consumo dos açúcares solúveis para a respiração e baixa disponibilidade para a germinação. Deste modo, verifica-se que mesmo com o emprego de um regulador vegetal é necessário verificar o tempo que as sementes devem permanecer

imersas nas soluções, o que por sua vez é determinado pelo teor de água atingido pelas sementes.

Conclusão

O condicionamento das sementes de *Annona emarginata* nos diferentes potenciais osmóticos ou com as diferentes concentrações de GA₃, até a obtenção do teor de 20% de água, promove altos teores de açúcares solúveis totais, representados por altas concentrações de sacarose e glicose, e elevada porcentagem de germinação.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de Bolsa de Mestrado (133981/2010-0).

Referências

- Al-Ani, A., Bruzau, F., Raymond, P., Saint-Ges, V., Leblanc, J.M. e Pradet, A.** (1985) Germination, respiration and adenylate energy charge of seeds at various oxygen partial pressures. *Plant Physiology* 79, 885-890.
- Almeida, L.F.P.** (2009) *Propagação por enxertia de araticum (Annona crassiflora Mart.) e atemóia (Annona squamosa L. x Annona cherimola Mill.) em diferentes porta-enxertos de Annonaceae*. 115f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.
- Anese, S., Silva, E.A.A., Davide, A.C., Faria, J.M.R., Soares, G.C.M., Matos, A.C.B. e Toorop, P.E.** (2011) Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St.Hil. *Seed Science and Technology* 39, 125-139.
- Ashraf, E. e Razmjoo, K.** (2010) Effects of priming on seed germination and field emergence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Seed Science and Technology* 38, 675-681.
- Bogatek, R., Côme, D., Corbineau, F., Ranjan, R. e Lewak, S.** (2002) Jasmonic acid affects dormancy and sugar catabolism in germinating apple embryos. *Plant Physiology Biochemistry* 40, 167-173.
- Bonaventure, L.** (1999) El cultivo de la chirimoya y de su híbrido atemoya en Brasil. *Acta Horticulturae* 497, 147-151.
- Borges, E.E.L., Borges, R.C.G. e Buckeridge, M.S.** (2000) Alterações nas composições de carboidratos e de ácidos graxos em sementes de jacarandá-da-bahia osmocondicionadas. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12, 1, 10-16.
- Borges, E.E.L., Perez, S.C.J.G.A., Borges, R.C.G., Rezende, S.T. e Garcia, S.R.** (2002) Comportamento fisiológico de sementes osmocondicionadas de *Platymiscium pubescens* Micheli (Tamboril-da-mata). *Revista Árvore* 26, 5, 603-613.

- Braga, J.F., Ferreira, G., Pinho, S.Z., Braga, L.F. e Sousa, M.P.** (2010) Germination of atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) cv.Gefner seeds subjected to treatments with plant growth regulators. *International Journal of Science and Nature* 1, 2, 120-126.
- Buckeridge, M.S., Santos, H.P., Tiné, M.A.S. e Aidar, M.P.M.** (2004) in Ferreira, A.G. e Borghetti, F. *Germinação do básico ao aplicado*. Porto Alegre, Armed.
- Campbell, C.W. e Popenoe, I.** (1968) Effect of gibberellic acid on seed dormancy of *Annona diversifolia* Salf. *Proceedings of the Tropical Region American Society for Horticultural Science* 11, 33-36.
- Chen, J.Y., Liu, S.L. e Siao, W.** (2010) Hormone and sugar effects on rice sucrose transporter OsSUT1 expression in germinating embryos. *Acta Physiology Plant* 32, 749-756.
- Chiu, K.Y., Chuang, S.J. e Sung, J.M.** (2006) Both anti-oxidation and lipid-carbohydrate conversion enhancements are involved in priming-improved emergence of *Echinacea purpurea* seeds that differ in size. *Scientia Horticulturae* 108, 220-226.
- Corsato, J.M.** (2010) *Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de Araticum-de-terra-fria (Annona emarginata (Schltdl.) H.Rainer*. 101f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- Costa, P.N., Bueno, S.S.C. e Ferreira, G.** (2011) Fases da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer em diferentes temperaturas. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33, 1, 253-260.
- Donadio, L.C.** (1997) Situação atual e perspectivas das anonáceas, pp.1-4 in São José, A.R., Souza, I.V.B., Morais, O.M. e Rebouças, T.N.H. *Anonáceas, Produção e Mercado: Pinha, Graviola, Atemóia e Cherimólia*. Vitória da Conquista, DFZ/UESB.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. e Smith, F.** (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analitical Chemistry* 28, 3, 350-356.
- Elkoca, E., Haliloglu, K., Esitken, A. e Ercisli, S.** (2007) Hydro- and osmopriming improve chickpea germination. *Acta Agriculturae Scandinavica* 57, 193-200.
- Farooq, M., Basra, S.M.A., Afzal, I. e Khaliq, A.** (2006) Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. *Seed Science and Technology* 34, 507-512.
- Ferreira, C.S., Piedade, M.T.F., Tiné, M.A.S., Rossatto, D.R., Parolin, P. e Buckeridge, M.S.** (2009) The role of carbohydrates in seed germination and seedling establishment oh *Himatanthus sucuuba*, an Amazonian tree with populations adapted to flooded and non-flooded conditions. *Annals of Botany* 104, 1111-1119.
- Ferreira, G.** (2011) *Reguladores vegetais na superação da dormência, balanço hormonal e degradação de reservas em sementes de Annona diversifolia Saff. e A.purpurea Moc. e Sessé ex Dunal (Annonaceae)*. 101f. Tese (Livre-docência). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

- Ferreira, G., Cereda, E., Silva, C.P., Cunha, R.J.P. e Cataneo, A.** (1997) Imbibition study of sugar apple (*Annona squamosa* L.) and atemoya (*Annona squamosa* L. X *A. Cherimola* Mill.) seeds, pp. 210-224 in *Memorias del 1º Congreso Internacional de Anonáceas*, 1997, Chapingo, México.
- Ferreira, G., Erig, P.R. e Moro, E.** (2002) Uso de ácido giberélico em sementes de fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) visando a produção de mudas em diferentes embalagens. *Revista Brasileira de Fruticultura* 24, 1, 178-182.
- Ferreira, G., Guimarães, V.F., Pinho, S.Z., Oliveira, M.C., Richard, A., Braga, J.F. e Dias, G.B.** (2006) Curva de absorção de água em sementes de atemóia (*Annona cherimola* MILL x *Annona squamosa* L.) CV.'Gefner'. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28, 1, 121-124.
- Gama, F. e Manica, I.** (1994) Propagação, pp.30-37 in Manica, I. *Cultivo das Anonáceas: Ata, Cherimólia, Graviola*. Porto Alegre, EVANGRAF.
- Garcia, I.S., Souza, A., Barbedo, C.J., Dietrich, S.M.C. e Figueiredo-Ribeiro, R.C.L.** (2006) Changes in soluble carbohydrates during storage of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood) seeds, na endangered leguminous tree from the brazilian atlantic forest. *Brazilian Journal Biology* 66, 2B, 739-745.
- Ghassemi-Golezani, K., Aliloo, A.A., Valizadeh, M. e Moghaddam, M.** (2008) Effects of different priming techniques on seed invigoration and seedling establishment of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Journal of Food, Agriculture & Environment* 6, 2, 222-226.
- Gomes, F.P.** (1990) *Curso de Estatística Experimental*. São Paulo, Nobel.
- Jubes, J.T., Martinez, H., Padilla, E. e Oste, C.A.** (1975) Efectos de escarificacion, medio, posicion de siembra y acido gibberellico, sobre la germinacion de semillas em chirimoya (*Annona cherimolia* Mill). *Rev. Agron. N. O. Argent* 12, 1-2, 161-171.
- Kodde, J., Buckley, W.T., Groot, C.C., Retiere, M., Zamora, A.M.V. e Groot, S.P.C.** (2012) A fast ethanol assay to detect seed deterioration. *Seed Science Research* 2, 55-62.
- Korkmaz, A.** (2005) Inclusion of Acetyl Salicylic Acid and Methyl Jasmonate into the priming solution improves low-temperature germination and emergence of sweet pepper. *HortScience* 40, 1, 197-200.
- Korkmaz, A., Tiryaki, I., Nas, M.N. e Ozbay, N.** (2004) Inclusion of plant growth regulators into priming solution improves low temperature germination and emergence of watermelon seeds. *Canadian Journal of Plant Science* 84, 1161-1165.
- Kozlowski, T.T.** (1997) Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph* 1, 1-29.
- Lin, J.M. e Sung, J.M.** (2001) Pre-sowing treatments for improving emergence of bitter gourd seedlings under optimal and sub-optimal temperatures. *Seed Science and Technology* 29, 39-50.
- Lopes, H.M. e Souza, C.M.** (2008) Efeitos da giberelina e da secagem no condicionamento osmótico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Brasileira de Sementes* 30, 1, 181-189.

- Marcos Filho, J.** (2005) *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba, Fealq.
- Mendonça, A.V.R., Coelho, E.A., Souza, N.A., Balbinot, E., Silva, R.F. e Barroso, D.G.** (2005) Efeito da hidratação e do condicionamento osmótico em sementes de pau-formiga. *Revista Brasileira de Sementes* 27, 2, 111-116.
- Menezes, N.L., Espindola, M.C.G., Pasqualli, L.L., Santos, C.M.R. e Frazin, S.M.** (2006) Associação de tratamentos pré-germinativos em sementes de alface. *Revista da FZVA* 13, 1, 1-11.
- Mir-Mahmoodi, T., Ghassemi-Golezani, K., Habibi, D., Paknezhad, F. e Ardekani, M.R.** (2011) Effects of priming techniques on seed germination and seedling emergence of maize (*Zea mays* L.). *Journal of Food, Agriculture and Environment* 9, 2, 200-202.
- Mischan, M.M. e Pinho, S.Z.** (1996) *Experimentação agrônômica – Dados não balanceados*. Botucatu, Fundibio.
- Mohammadkhani, N. e Heidari, R.** (2008) Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Sciences Journal* 3, 3, 448-453.
- Olszewski, N., Sun, T. e Gubler, F.** (2002) Gibberellin signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways. *Plant Cell* 14, 61-80.
- Pawshe, Y.H., Patil, B.N. e Patil, L.P.** (1997) Effect of pregermination seed treatment on the germination and vigour of seedlings in custard apple (*Annona squamosa* L.). *Annals of Plant Physiology* 11, 2, 150-154.
- Pawshe, Y.H., Patil, B.N. e Patil, L.P.** (1997) Effect of pregermination seed treatment on the germination and vigour of seedlings in custard apple (*Annona squamosa* L.). *Annals of Plant Physiology* 11, 2, 150-154.
- Pinedo, G.J.V. e Ferraz, I.D.K.** (2008) Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* [Benth ex Walp]: sementes com dormência física de árvore da amazônia. *Revista Árvore* 32, 1, 39-49.
- Pinto, A.C.Q.** (1976) Influência de hormônio sobre o poder germinativo de sementes de graviola, pp. 415-420 in *Anais do 3º Congresso Brasileiro de Fruticultura, 1976, Rio de Janeiro, Brasil*.
- Qayyum, A., Razzaq, A., Ahmad, M. e Jenks, M.** (2011) Water stress causes differential effects on germination indices, total soluble sugar and proline content in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *African Journal of Biotechnology* 10, 64, 14038-14045.
- Raymond, P., Al-Ani, A. e Pradet, A.** (1985) ATP production by respiration and fermentation, and energy charge during aerobiosis and anaerobiosis in twelve fatty and starchy germinating seeds. *Plant Physiology* 79, 879-884.
- Rolland, F., Baena-Gonzalez, E. e Sheen, J.** (2006) Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annual Rev. Plant Biology* 57, 675-709.
- Rosa, S.D.V.F., Mazzafera, P., Guimarães, R.M., Veiga, A.D. e Veiga, A.D.** (2007) Pré-embrição: efeitos na germinação; crescimento de plântulas e teor de cafeína em sementes de cafeeiro. *Coffee Science* 2, 1, 69-78.

- Scaloppi Junior, E.J.** (2007) *Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares*. 92f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agronômicas e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Smet, S., Van Damme, P., Scheldeman, X. e Romero, J.** (1999) Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Acta Horticulturae* 497, 269-278.
- Smet, S., Van Damme, P., Scheldeman, X. e Romero, J.** (1999) Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Acta Horticulturae* 497, 269-278.
- Srivastava, A.K., Lokhande, V.H., Patade, V.Y., Suprasanna, P., Sjahril, R. e D'Sousa, S.F.** (2010) Comparative evaluation of hydro-, chemo-, and hormonal-priming methods for imparting salt and PEG stress tolerance in Indian mustard (*Brassica juncea* L.). *Acta Physiology Plant* 32, 1135-1144.
- Stenzel, N.M.C., Murata, I.M. e Neves, C.S.V.J.** (2003) Superação da dormência em sementes de atemóia e fruta-do-conde. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25, 2, 305-308.
- Suda, C.N.K. e Giorgini, J.F.** (2000) Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 12, 226-244.
- Taiz, L. e Zeiger, E.** (2010) *Plant Physiology*. Sunderland, Sinauer Associates.
- Tiryaki, I., Korkmaz, A., Ozbay, N. e Nas, M.N.** (2004) Priming in the presence of plant growth regulators hastens germination and seedling emergence of dormant annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) seeds. *Asian Journal of Plant Sciences* 3, 5, 655-659.
- Tiryaki, I. e Buyukcingil, Y.** (2009) Seed priming combined with plant hormones: influence on germination and seedling emergence of sorghum at low temperature. *Seed Science and Technology* 37, 303-315.
- Tiryaki, I., Korkmaz, A., Nas, M.N. e Ozbay, N.** (2005) Priming combined with plant growth regulators promotes germination and emergence of dormant *Amaranthus cruentus* L. seeds. *Seed Science and Technology* 33, 571-579.
- Tokunaga, T.A.** (2000) *A cultura da atemóia*. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica e Integral (CATI).
- Uemura, M. e Steponkus, P.L.** (2003) Modification of the intracellular sugar content alters the incidence of freeze-induced membrane lesions of protoplasts isolated from *Arabidopsis thaliana* leaves. *Plant, Cell and Environment* 26, 1083-1096.
- Valenzuela, J.R.C. e Osório, J.D.B.** (1998) Efecto del ácido giberélico y el método de siembra en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de anona colorada (*Annona reticulata* L.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 51, 2, 235-244.
- Variar, A., Vari, A.K. e Dadlani, M.** (2010) The subcellular basis of seed priming. *Current Science* 99, 4, 450-456.
- Venkatasubramanian, A. e Umarani, R.** (2007) Evaluation of seed priming methods to improve seed performance of tomato (*Lycopersicon esculentum*), eggplant (*Solanum melongena*) and chilli (*Capsicum annum*). *Seed Science and Technology* 35, 487-493.

Vieira, M.H.P. e Irber, M.V. (1996) Emergência e taxa de germinação em *Annona coriácea* in Resumos do 47º Congresso Nacional de Botânica, 1996, Nova Friburgo, Brasil.

Yadav, P.V., Kumari, M. e Ahmed, Z. (2011) Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in Capsicum. *Research Journal of Seed Science* 4, 3, 125-136.

Yari, L., Sheidaie, S., Sadeghi, H. e Khazaei, F. (2012) Evaluation of temperature and seed priming duration on seed germination behavior of rice (*Oriza sativa* L.). *International Journal of Agriculture: Research and Review* 2, 1, 7-11.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Análise de variância para teores de açúcares solúveis totais (mg g^{-1} MS) nas sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento com diferentes potenciais osmóticos até a obtenção de diferentes teores de água.

Fatores de variação	Açúcares Solúveis Totais	Germinação (%)
Potencial osmótico	5,3*	35,5**
Teor de água	58,2**	214,2**
Potencial osmótico x Teor de água	7,9**	14,2**
C.V. (%)	9,38	8,77

Significativo à 5% pelo teste F. *significativo; **altamente significativo.

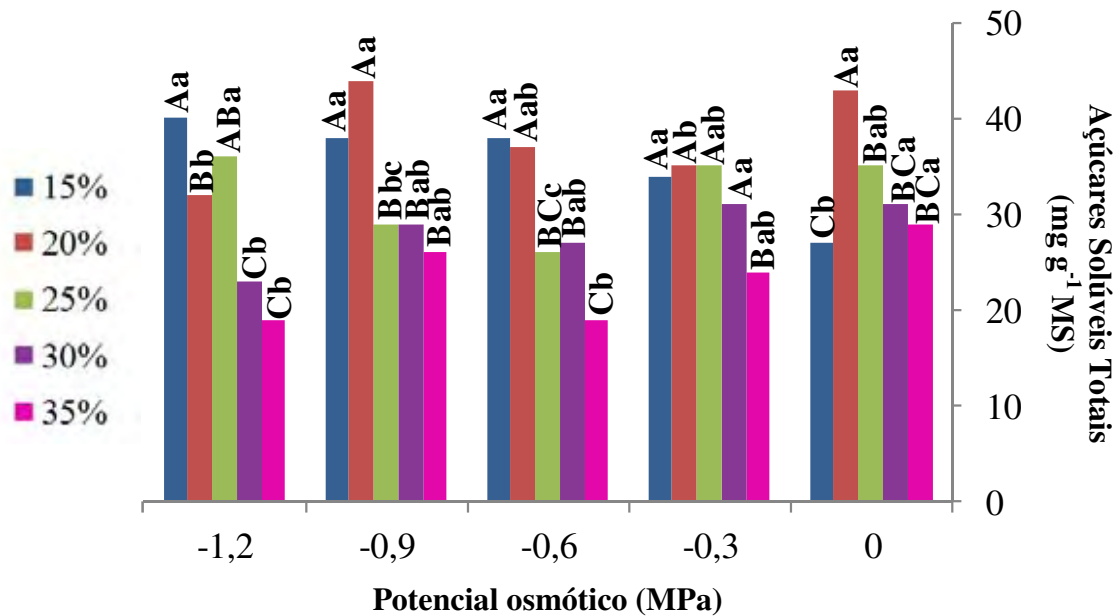


Figura 1. Açúcares solúveis totais (mg g^{-1} MS) em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos até a obtenção de diferentes teores de água. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula para teores de água dentro de cada potencial e minúscula para teores de água entre os diferentes potenciais, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de significância.

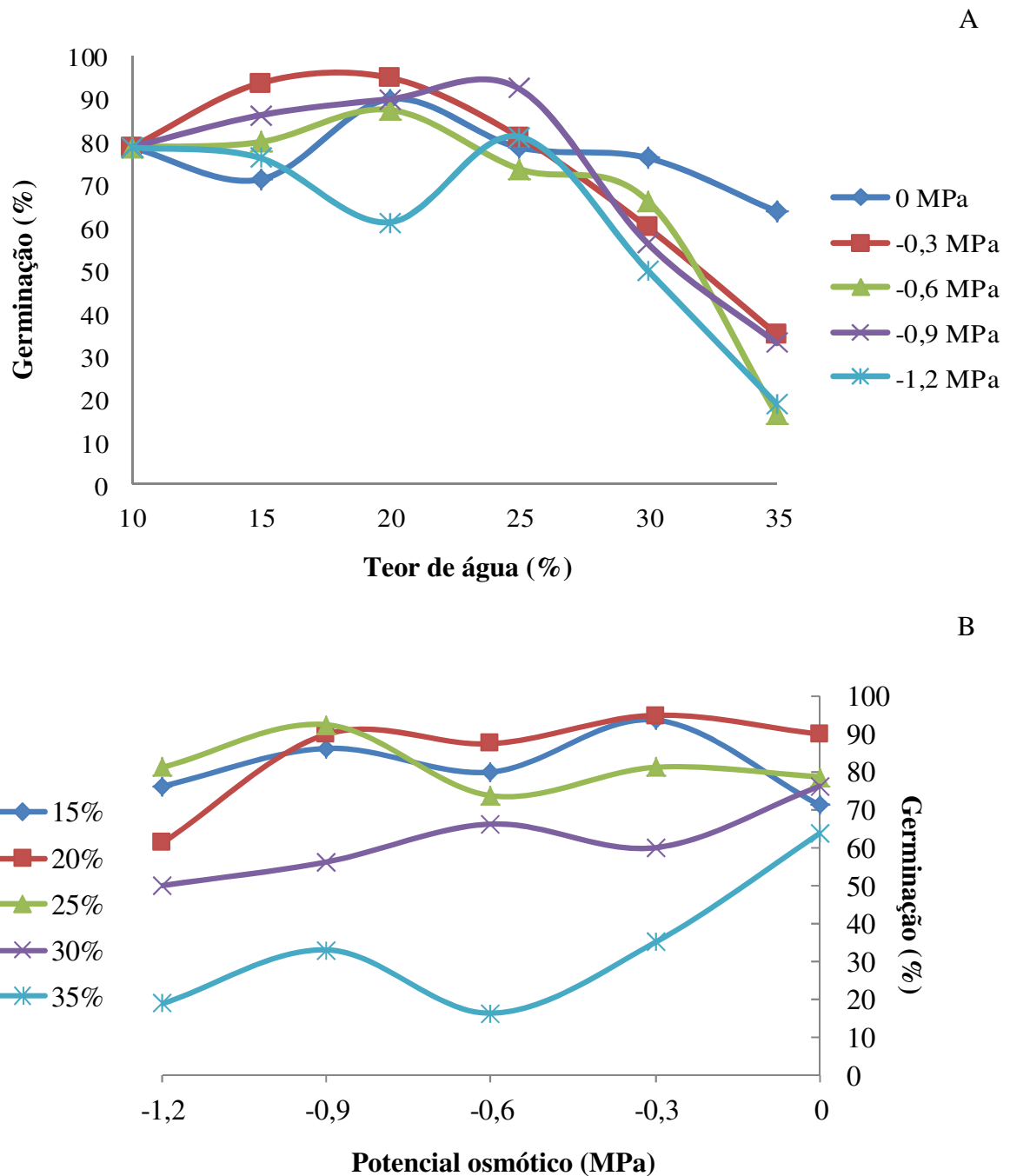


Tabela 2. Análise de variância para teores de açúcares solúveis totais (mg g^{-1} MS) nas sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA_3 , até a obtenção de diferentes teores de água.

Fatores de variação	Açúcares Solúveis Totais	Germinação (%)
Teor de água	15,3**	117,7**
Concentração de GA_3	4,4*	1,4 ^{ns}
Teor de água x Concentração de GA_3	6,5**	6,6**
C.V. (%)	10,15	7,65

Significativo à 5% pelo teste F. *significativo; **altamente significativo; ^{ns}não significativo.

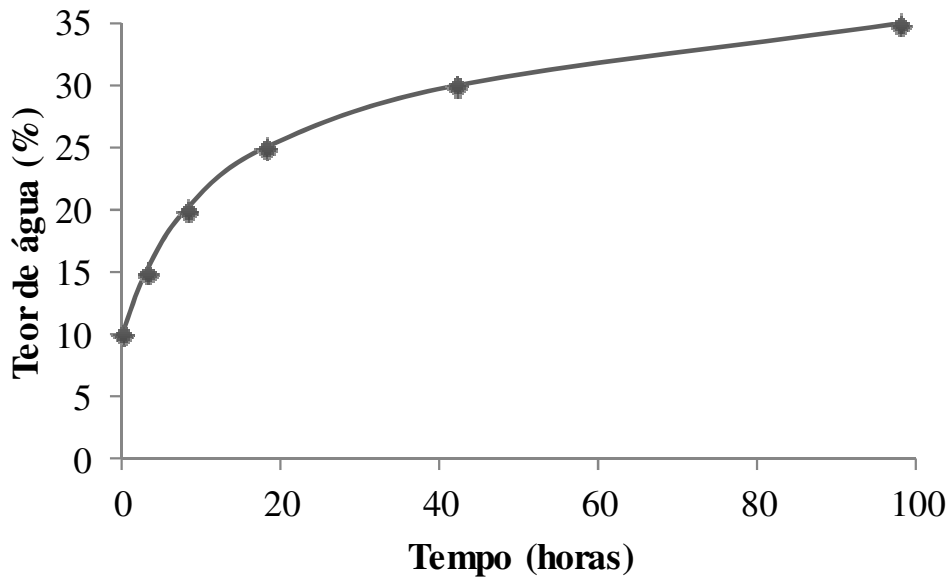


Figura 3. Curva de aquisição de água das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer em hidrocondicionamento (0 MPa).

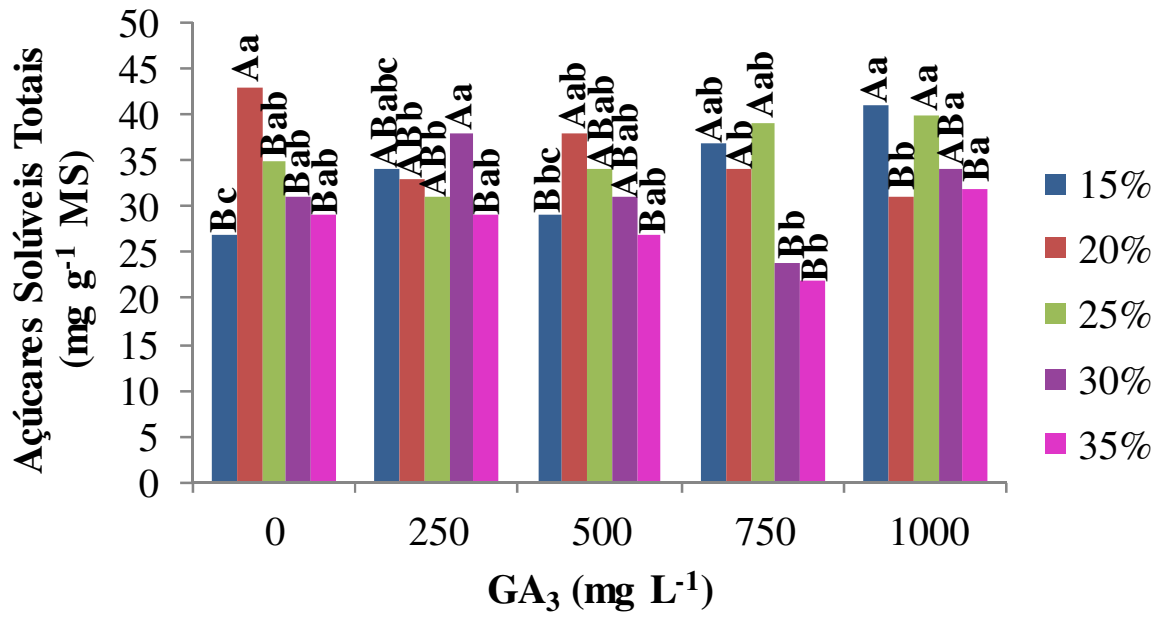


Figura 4. Açúcares solúveis totais (mg g⁻¹ MS) em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água. Médias seguidas de mesma letra, maiúscula para teores de água dentro de cada concentração de GA₃ e minúscula para teores de água entre as diferentes concentrações de GA₃, não diferem entre si pelo teste de Tukey à 5% de significância.

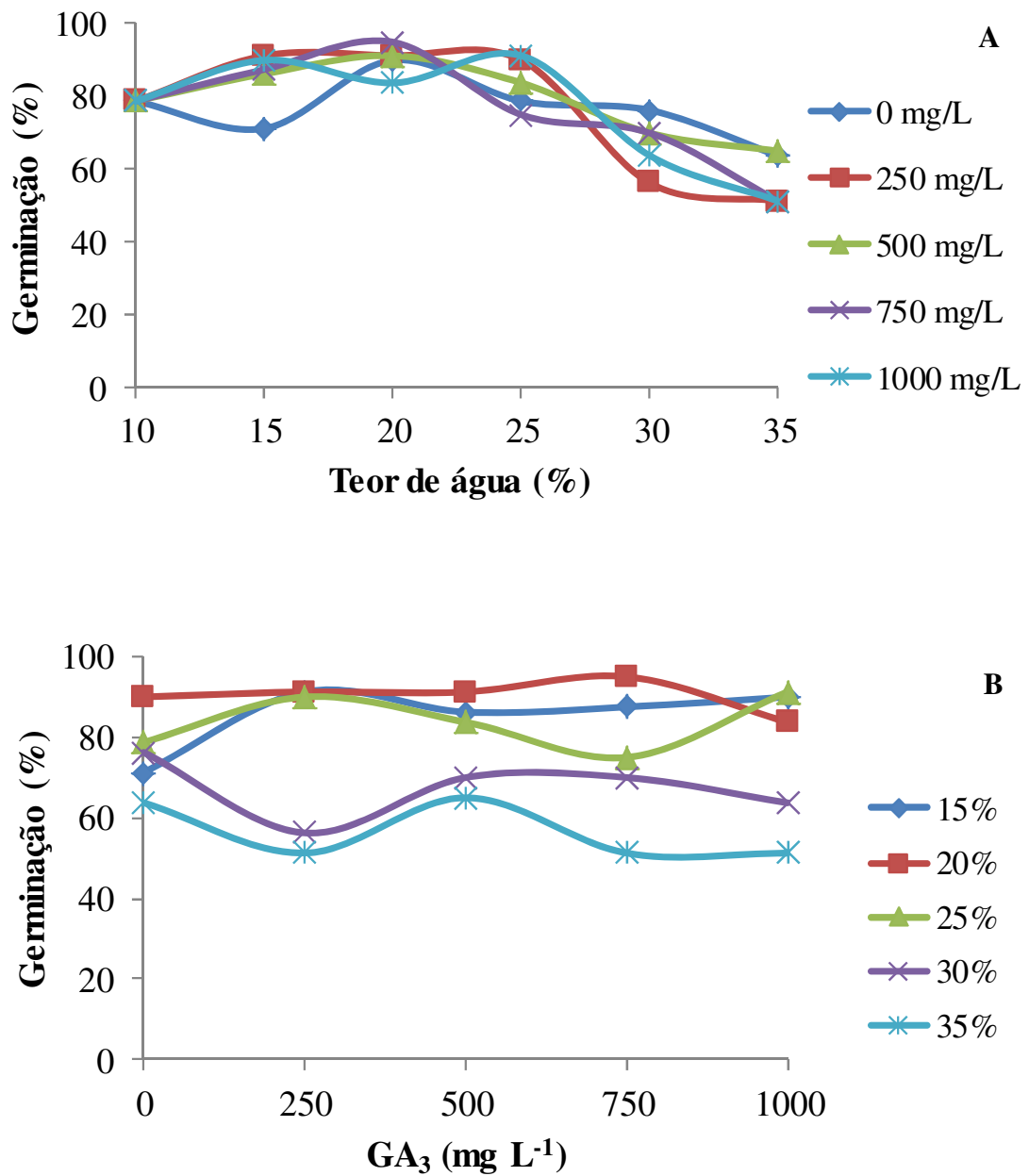


Figura 5. Germinação (%) das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao hidrocondicionamento (0 MPa) com diferentes concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Tabela 3. Germinação [G (%)] de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

Concentração de GA ₃ (mg L ⁻¹)	Teor de água (%)	G (%)
-	10	79
0	15	71
0	20	90
0	25	79
0	30	76
0	35	64**
250	15	91
250	20	91
250	25	90
250	30	56**
250	35	51**
500	15	86
500	20	92**
500	25	84
500	30	70
500	35	65**
750	15	87
750	20	95**
750	25	75
750	30	70
750	35	51**
1000	15	90
1000	20	84
1000	25	91
1000	30	64**
1000	35	51**

Médias seguidas de ** diferem da testemunha pelo teste de Dunnet à 5% de significância.

Tabela 4. Análise de variância para sacarose, glicose, frutose e *myo*-inositol em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos até a obtenção de diferentes teores de água.

Fatores de variação	Resultados do teste F			
	Sacarose	Glicose	Frutose	<i>Myo</i> -inositol
Teor de água	23,8**	338,4**	42,8**	27,5**
Potencial osmótico	6,8*	13,9**	4,0*	12,2**
Teor de água x Potencial osmótico	11,8**	25,0**	6,8**	11,0**
C.V. (%)	14,65	17,98	23,03	16,55

Significativo à 5% pelo teste F. *significativo; **altamente significativo.

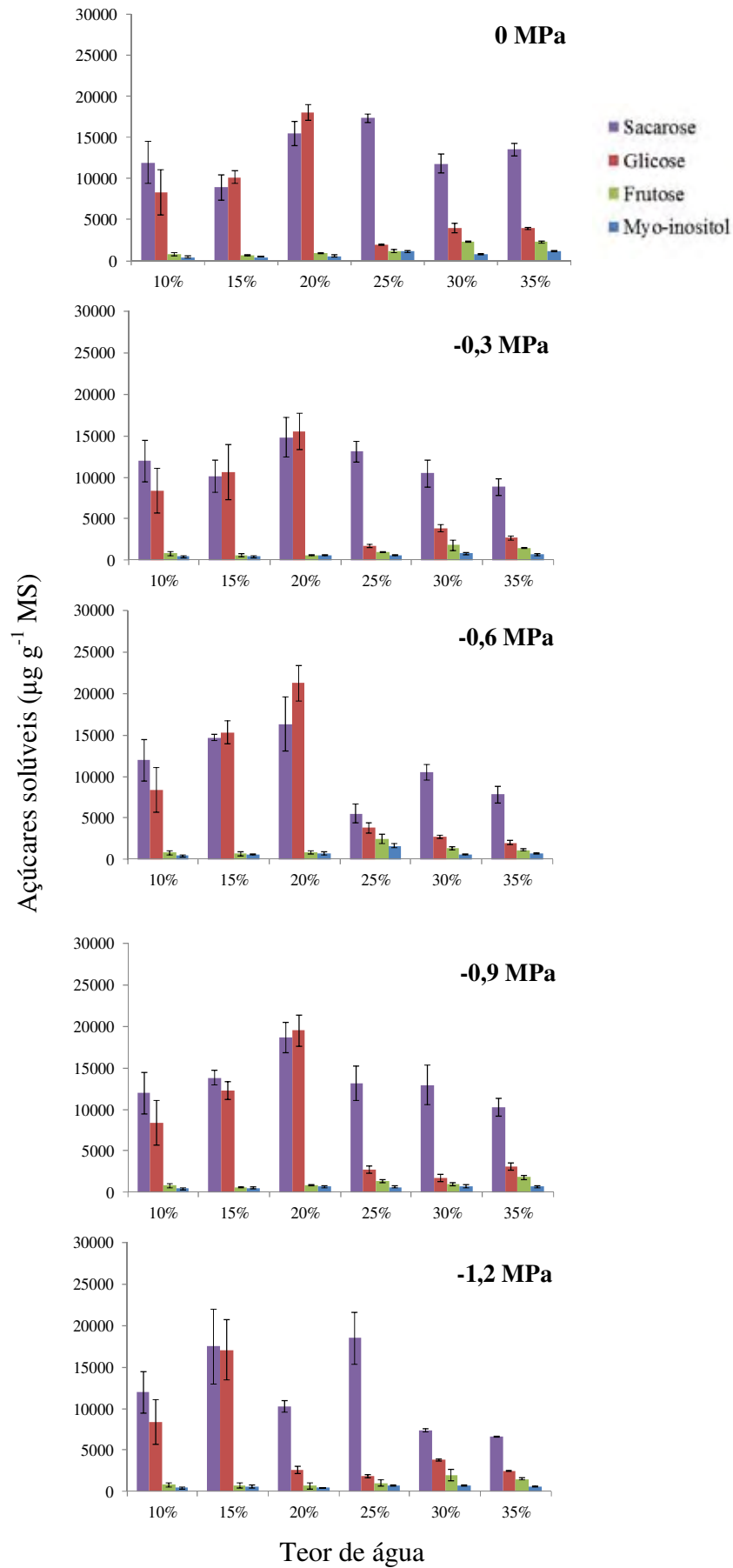


Figura 6. Sacarose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS), glicose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS), frutose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) e *myo*-inositol ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao condicionamento em diferentes potenciais osmóticos até a obtenção de diferentes teores de água.

Tabela 5. Análise de variância para sacarose, glicose, frutose e *myo*-inositol em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA₃ até a obtenção de diferentes teores de água.

Fatores de variação	Resultados do teste F			
	Sacarose	Glicose	Frutose	<i>Myo</i> -inositol
Teor de água	10,2**	700,1**	190,0**	7,2**
Concentração de GA ₃	18,3**	47,0**	80,5**	3,5*
Teor de água x Concentração de GA ₃	10,3**	22,9**	43,1**	13,1**
C.V. (%)	17,85	14,75	13,78	13,68

Significativo à 5% pelo teste F. *significativo; **altamente significativo.

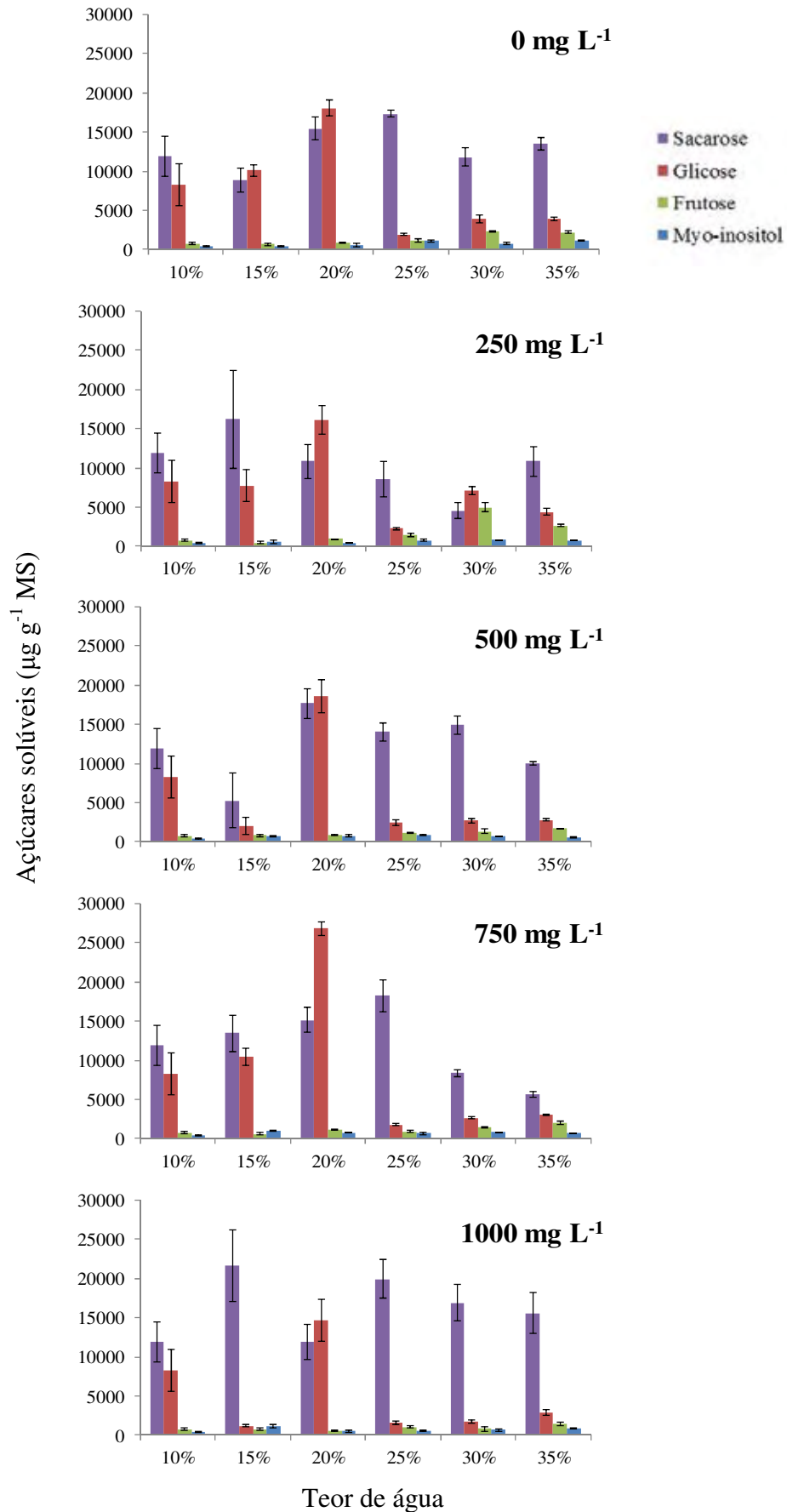


Figura 7. Sacarose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS), glicose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS), frutose ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) e *myo*-inositol ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) em sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer submetidas ao hidrocondicionamento com diferentes concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a importância das espécies da família Annonaceae na produção de frutos para consumo *in natura* e industrializado, para fins medicinais e recuperação de áreas degradadas, é de grande importância o estudo da fisiologia da germinação, pois as espécies desta família apresentam dormência, a qual acarreta problemas para a formação de mudas. Deste modo, pesquisas voltadas à compreensão do processo germinativo fornecem subsídio para a cadeia produtiva destas espécies.

Neste contexto, a *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, conhecida popularmente como araticum de terra fria, é indicada como portaenxerto para as espécies comerciais. Entretanto, como observado em toda a família Annonaceae, esta espécie apresenta baixa porcentagem de germinação, em decorrência da dormência estabelecida devido ao balanço entre hormônios promotores e inibidores da germinação.

O presente trabalho demonstra a eficácia do hidrocondicionamento, além dos reguladores vegetais, em promover a germinação das sementes de Araticum de terra fria, devido à alterações nos teores de açúcares solúveis utilizados no processo germinativo. Entretanto, não foi possível investigar outras possíveis alterações promovidas por estes tratamentos, sendo assim necessários maiores estudos para maior compreensão dos mecanismos envolvidos na germinação.

O fato das sementes apresentarem maior porcentagem de germinação quando condicionadas até atingirem 20% de água, conforme observado neste trabalho, demonstra a necessidades de maiores investigações, visto que outros trabalhos utilizam como base para a aplicação dos reguladores vegetais, a imersão até a mudança da fase I para a fase II, a qual promoveu baixas porcentagens de germinação.

6. CONCLUSÕES

O condicionamento das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer, nos diferentes potenciais osmóticos com as concentrações de GA₃, até a obtenção de diferentes teores de água, promove alterações no processo germinativo e nos teores de açúcares solúveis.

O hidrocondicionamento sem o emprego de GA₃, até a obtenção de 20% de água, resulta em elevada porcentagem de germinação e altos teores de açúcares solúveis nas sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALMEIDA, L.F.P. **Propagação por enxertia de araticum (*Annona crassiflora* Mart.) e atemóia (*Annona squamosa* L. x *Annona cherimola* Mill.) em diferentes porta-enxertos de Annonaceae.** 2009. 115f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília.

ANESE, S.; SILVA, E.A.A.; DAVIDE, A.C.; FARIA, J.M.R.; SOARES, G.C.M.; MATOS, A.C.B.; TOOROP, P.E. Seed priming improves endosperm weakening, germination, and subsequent seedling development of *Solanum lycocarpum* St.Hil. **Seed Science and Technology**, v.39, p.125-139, 2011.

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.141, p.399-436, 2009.

BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; COME, D. Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. **Seed Science and Research**, v.10, p.35-42, 2000.

BARBEDO, C.J.; MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.L.C. Condicionamento osmótico e armazenamento de sementes de cedro-rosa (*Cedrela fissilis* Vell.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.354-360, 1997.

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

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

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** 2 ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.

BITTENCOURT, M.L.C.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Efeito do condicionamento osmótico das sementes na germinação e no crescimento das plântulas de aspargo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.50-56, 2004.

BONAVENTURE, L. El cultivo de la chirimoya y de su híbrido atemoya en Brasil. **Acta Horticulturae**, n.497, 1999. p.147-151.

BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. **Hortscience**, v.21, n.5, p.1105-1112, 1986.

BRADFORD, K.J.; CHEN, F.; COOLEY, M.B.; DAHAL, P.; DOWNIE, B.; FUKUNAGA, K.K.; GEE, O.H.; GURUSINGHE, S.; MELLA, R.A.; NONOGAKI, H.; WU, T.; YIM, K.O. Gene expression prior to radicle emergence in imbibed tomato seeds. In: BLACK, M.;

- BRADFORD, K.J.; VAZQUEZ-RAMOS, J. **Seed biology: advances and applications**. Wallingford: CAB International, 2000. p.231-251.
- BRAGA, J.F.; FERREIRA, G.; PINHO, S.Z.; BRAGA, L.F.; SOUSA, M.P. Germination of atemoya (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) cv.Gefner seeds subjected to treatments with plant growth regulators. **International Journal of Science and Nature**, v.1, n.2, p.120-126, 2010.
- BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P. dos; TINÉ, M.A.S.; AIDAR, M.P.M. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Arned, 2004. p.149-162.
- BURGASS, R.W.; POWELL, A.A. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. **Annals of Botany**, v.53, p.735-757, 1984.
- CAMPBELL, C.W.; PHILLIPS, R.L. **The atemoya**. Gainesville: University of Florida, 1994. p.3.
- CAMPBELL, C.W.; POPENOE, I. Effect of gibberellic acid on seed dormancy of *Annona diversifolia* Salf. **Proceedings of the Tropical Region American Society for Horticultural Science**, v.11, p.33-36, 1968.
- CARVALHO, L.F. DE; MEDEIROS-FILHO, S.; ROSSETTI, A.G.; TEÓFILO, E.M. Condicionamento osmótico em sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.185-192, 2000.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.
- CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Arned, 2004. p.149-162.
- CHEN, K.; ARORA, R.; ARORA, U. Osmopriming of spinach (*Spinacia oleracea* L. cv. Bloomsdale) seeds and germination performance under temperature and water stress. **Seed Science and Technology**, v.38, p.36-48, 2010.
- COLL, J.B.; RODRIGO, G.N.; GARCIA, B.S.; TAMES, R.S. **Fisiologia vegetal**. Madrid: Ediciones Pirâmide. 2001. 566p.
- CORSATO, J.M. **Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de Araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer)**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- COSTA, P.N.; BUENO, S.S.C.; FERREIRA, G. Fases da germinação de sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H.Rainer em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.1, p.253-260, 2011.
- DONADIO, L.C. Situação atual e perspectivas das anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A.R.; SOUZA, I.V.B.; MORAIS, O.M.; REBOUÇAS, T.N.H. **Anonáceas, Produção e Mercado: Pinha, Graviola, Atemóia e Cherimólia**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997. p.1-4.

ELKOCA, E.; HALILOGLU, K.; ESITKEN, A.; ERCISLI, S. Hydro- and osmopriming improve chickpea germination. **Acta Agriculturae Scandinavica**, v.57, p.193-200, 2007.

ELLA, E.S., DIONISIO-SESE, M.L.; ISMAIL, A.M. Seed pre-treatment in rice reduces damage, enhances carbohydrate mobilization and improves emergence and seedling establishment under flooded conditions. *AoB Plants*, plr007, 2011. www.aobplants.oxfordjournals.org

FARHOUDI, R., SAEEDIPOUR, S.; MOHAMMADREZA, D. The effect of NaCl seed priming on salt tolerance, antioxidant enzyme activity, proline and carbohydrate accumulation of Muskmelon (*Cucumis melo* L.) under saline condition. **African Journal of Agricultural Research**, v.66, n.6, p.1363-1370, 2011.

FAROOQ, M.; BASRA, S.M.A.; AFZAL, I.; KHALIQ, A. Optimization of hydropriming techniques for rice seed invigoration. **Seed Science and Technology**, v.34, p.507-512, 2006.

FERREIRA, G., CEREDA, E., SILVA, C.P., CUNHA, R.J.P., CATANEO, A. Imbibition study of sugar apple (*Annona squamosa* L.) and atemoya (*Annona squamosa* L. x *A. Cherimola* Mill.) seeds. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1., 1997, Chapingo, México. **Memorias...** Chapingo, México: Universidad Autónoma Chapingo, 1997. p.210-224.

FERREIRA, G.; ERIG, P.R.; MORO, E. Uso de ácido giberélico em sementes de fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) visando a produção de mudas em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.1, p.178-182, 2002.

FERREIRA, G.; GUIMARÃES, V.F.; PINHO, S.Z.; OLIVEIRA, M.C.; RICHART, A.; BRAGA, J.F.; DIAS, G.B. Curva de absorção de água em sementes de atemóia (*Annona cherimola* MILL x *Annona squamosa* L.) CV.'Gefner'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.1, p.121-124, 2006.

FERREIRA, G. **Reguladores vegetais na superação da dormência, balanço hormonal e degradação de reservas em sementes de *Annona diversifolia* Saff. e *A.purpurea* Moc. & Sessé ex Dunal (Annonaceae)**. 2011. 101f. Tese (Livre-docência). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FINCHER, G.B. Molecular and cellular biology associated with endosperm mobilization in germinating cereal grains. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.40, p.305-346, 1989.

FU, J.R.; LU, X.H.; CHEN, R.Z.; ZHANG, B.Z.; LIU, Z.S.; CAI, C.Y. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. **Seed Science and Technology**, v.16, p.197-212, 1988.

GAMA, F.; MANICA, I. Propagação. In: MANICA, I. **Cultivo das Anonáceas: Ata, Cherimólia, Graviola**. Porto Alegre: EVANGRAF, 1994. p.30-37.

GEORGE, A.P.; NISSEN, R.J. Propagation of *Annona* species, a review. **Scientia Horticulturae**, v.33, p.75-85, 1987.

GHASSEMI-GOLEZANI, K.; ALILOO, A.A.; VALIZADEH, M.; MOGHADDAM, M. Effects of different priming techniques on seed invigoration and seedling establishment of lentil (*Lens culinaris* Medik). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.6, n.2, p.222-226, 2008.

GUIMARÃES, R.M.; FRAGA, A.C.; VIEIRA, M.G.G.C.; SILVEIRA, J.F.; OLIVEIRA, J.A. Efeito do condicionamento osmótico sobre a germinação e desempenho de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob condições ideais e de estresse térmico e hídrico. **Ciência e Prática**, v.17, n.3, p.215-223, 1993.

HADAS, A. Water uptake germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. *Journal of Experimental Botany* 27, 480-489, 1976.

HEYDECKER W; HIGGINS J; TURNER YJ. Invigoration of seeds? **Seed Science and Technology**, v.3, p.881-888, 1975.

HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, v.5, p.353-425, 1977.

HEYDECKER, W.; GIBBINS, B.M. The priming of seeds. **Acta Horticulturae**, v.83, p.213-223, 1978.

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; AELST, A.C.; HEMMINGA, M.A. Imbibitional leakage from anhydrobiotes revisited. **Plant, Cell and Environment**, v.22, p.1121-1131, 1999.

HOFFMANN, A.; CHALFUN, N.N.J.; ANTUNES, L.E.C.; RAMOS, J.D.; PASDER, M.; SILVA, C.R.R. **Fruticultura comercial: propagação de plantas frutíferas**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1996. 319p.

HOPKINS, W.G. The role of hormones in plant development. In: **Introduction to plant physiology**, 2 ed. New York: John Wiley & Sons, 1999.

HUARTE, H.R.; BENECH-ARNOLD, R.L. Hormonal nature of seed responses to fluctuating temperatures in *Cynara cardunculus* (L.). **Seed Science Research**, v.20, p.39-45, 2010.

JELLER, H.; PEREZ, S.C.J.G.A. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de cássia-do-nordeste sob estresse hídrico, térmico e salino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.9, p.1025-1034, 2003.

JUBES, J.T.; MARTINEZ, H.; PADILLA, E.; OSTE, C.A. Efectos de escarificacion, medio, posicion de siembra y ácido gibberellico, sobre la germinacion de semillas em chirimoya (*Annona cherimolia* Mill). **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.12, n.1/2, p.161-171, 1975.

KAUR, S.; GUPTA, A.K.; KAUR, N. Effect of osmo- and hydropriming of chickpea seeds on seedling growth and carbohydrate metabolism under water deficit stress. **Plant Growth Regulation**, v.37, p.17-22, 2002.

KERMODE, A.R. Role of Abscisic Acid in seed dormancy. **Journal Plant Growth Regulation**, v.24, p.319-344, 2005.

- KORKMAZ, A. Inclusion of Acetyl Salicylic Acid and Methyl Jasmonate into the priming solution improves low-temperature germination and emergence of sweet pepper. **HortScience**, v.40, n.1, p.197-200, 2005.
- KORKMAZ, A.; TIRYAKI, I.; NAS, M.N.; OZBAY, N. Inclusion of plant growth regulators into priming solution improves low temperature germination and emergence of watermelon seeds. **Canadian Journal of Plant Science**, v.84, p.1161-1165, 2004.
- LABORIAU, L.G. On the physiology of seed germination in *Vicia graminea* Sm.I. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.42, n.2, p.235-262, 1970.
- LIMA, R.B.S.; GONÇALVES, J.F.C.; PANDO, S.C.; FERNANDES, A.V.; SANTOS, A.L.W. Primary metabolite mobilization during germination in rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) seeds. **Revista árvore**, v.32, n.1, p.19-25, 2008.
- LOPES, H.M.; SOUZA, C.M. Efeitos da giberelina e da secagem no condicionamento osmótico sobre a viabilidade e o vigor de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.181-189, 2008.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.
- MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P. Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.165-169, 2008.
- MELO, D.L.B. **Dormência em sementes de *Annona crassiflora* Mart.** 2005. 51f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MENDONÇA, A.V.R.; COELHO, E.A.; SOUZA, N.A. de; BALBINOT, E.; SILVA, R.F. da; BARROSO, D.G. Efeito da hidratação e do condicionamento osmótico em sementes de pau-formiga. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.2, p.111-116, 2005.
- MENEZES, N.L.; ESPINDOLA, M.C.G.; PASQUALLI, L.L.; SANTOS, C.M.R.; FRAZIN, S.M. Associação de tratamentos pré-germinativos em sementes de alface. **Revista da FZVA**, v.13, n.1, p.1-11, 2006.
- MOOSAVI, A.; AFSHARI, R.T.; SHARIF-ZADEH, F.; AYNEHBAND, A. Seed priming to increase salt and drought stress tolerance during germination in cultivated species of Amaranth. **Seed Science and Technology**, v.37, p.781-785, 2009.
- MORADI, A.; YOUNESI, O. Effects of osmo- and hydro-priming on seed parameters of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences** v.3, n.3, p.1696-1700, 2009.
- NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J.; HUBER, D.J. Thermo-tolerance in lettuce seeds: association with ethylene and endo-beta-mannanase. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v.125, p.518-524, 2000.
- NUNES, U.R.; SANTOS, M.R.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.C.F.S. Efeito do condicionamento osmótico e do tratamento fungicida na qualidade fisiológica e sanitária de sementes de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.1, p.239-246, 2000.

- OLIVEIRA, M.C.; FERREIRA, G.; GUIMARÃES, V.F.; DIAS, G.B. Germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A.squamosa* L.) cv 'Gefner' submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e ethephon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.32, n.2, p.544-554, 2010.
- PARERA, C.A.; CANTLIFFE, D.J. Presowing seed priming. **Horticultural Reviews**, p.16, v.109-141, 1994.
- PAWSHE, Y.H.; PATIL, B.N.; PATIL, L.P. Effect of pregermination seed treatment on the germination and vigour of seedlings in custard apple (*Annona squamosa* L.). **Annals of Plant Physiology**, v.11, n.2, p. 150-154, 1997.
- PINEDO, G.J.V.; FERRAZ, I.D.K. Hidrocondicionamento de *Parkia pendula* [Benth ex Walp]: sementes com dormência física de árvore da amazônia. **Revista Árvore**, v.32, n.1, p.39-49, 2008.
- PINTO, A.C.Q. Influência de hormônio sobre o poder germinativo de sementes de graviola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., 1975, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1976. p.415-420.
- POWELL, A.A. Seed improvement by selection and invigoration. **Scientia Agricola**, v.55, p.126-133, 1998.
- RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A.St.-Hil. **Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien**, v.108 B, p.191-205, 2007.
- RIZZINI, C.T. Dormancy in seeds of *Annona crassiflora* Mart. **Journal of Experimental Botany**, v.24, n.78, p.117-123, 1973.
- SÃO JOSÉ, A. R. Aspectos gerais das anonáceas no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A.R. (Ed.). **Anonáceas: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1997.
- SCALOPPI JUNIOR, E.J. **Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares**. 2007. 92f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônômicas e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- SQUAREZI, C.N., BRACCINI, A.L., SCAPIM, C.A., BRACCINI, M.C.L.; DALPASQUALE, V.A. Avaliação de tratamentos pré-germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café (*Coffea arabica* L.), I. Condicionamento osmótico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.152-161, 2001.
- SILVA, E.A.A.; MELO, D.L.B.; DAVIDE, A.C.; BODE, N.; ABREU, G.B.; FARIA, J.M.R.; HILHORST, H.W.M. Germination Ecophysiology of *Annona crassiflora* Seeds. **Annals of Botany**, v.99, p.823-830, 2007.
- SMET, S. DE; DAMME, P. VAN; SCHELDEMAN, X.; ROMERO, J. Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Acta Horticulturae**, n.497, p.269-278, 1999.
- SMITH, P.T.; COOB, B.G. Physiological and enzymatic characteristic of primed, re-dried air, and germinated pepper seeds. **Seed Science and Technology**, v.20, p.503-513, 1992.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II. 2 ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008. 704p.

STENZEL, N.M.C.; MURATA, I.M.; NEVES, C.S.V.J. Superação da dormência em sementes de atemóia e fruta-do-conde. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.2, p.305-308, 2003.

SUDA, C.N.K.; GIORGINI, J.F. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.12, p-226-244, 2000.

SUÑÉ, A.D.; FRANKE, L.B.; SAMPAIO, T.G. Efeitos do condicionamento osmótico na qualidade fisiológica de sementes de *Adesmia latifolia* (Spreng.) Vog. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.18-23, 2002.

SUNG, F.J.M.; CHANG, Y.H. Biochemical activities associated with priming of sweet corn seeds to improve vigor. **Seed Science and Technology**, v.21, p.97-105, 1993.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 5 ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 784p.

TAKAHASHI, N.; PHINNEY, B.O.; MACMILLAN, J. **Gibberellins**. New York: Springer - Verlag, 1991. 426p.

TAYLOR, A.G.; ALLEN, P.S.; BENNETT, M.A.; BRADFORD, K.J.; BURRIS, J.S.; MISRA, M.K. Seeds enhancements. **Seed Science Research**, v.8, p.245-256, 1998.

TIRYAKI, I.; BUYUKCINGIL, Y. Seed priming combined with plant hormones: influence on germination and seedling emergence of sorghum at low temperature. **Seed Science and Technology**, v.37, p.303-315, 2009.

TIRYAKI, I.; KORKMAZ, A.; OZBAY, N.; NAS, M.N. Priming in the presence of plant growth regulators hastens germination and seedling emergence of dormant annual ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) seeds. **Asian Journal of Plant Sciences**, v.3, n.5, p.655-659, 2004.

TIRYAKI, I.; KORKMAZ, A.; NAS, M.N.; OZBAY, N. Priming combined with plant growth regulators promotes germination and emergence of dormant *Amaranthus cruentus* L. seeds. **Seed Science and Technology**, v.33, p.571-579, 2005.

TOKUNAGA, T.A. **A cultura da atemóia**. Campinas: CATI, 2000. 80 p.

TOSELI, M.E.; CASENAVE, E.C. Water content and the effectiveness of hydro and osmotic priming of cotton seeds. **Seed Science Technology**, v.31, p.727-735, 2003.

VALENZUELA, J.R.C.; OSÓRIO, J.D.B. Efecto del ácido giberélico y el método de siembra en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de anona colorada (*Anona reticulata* L.). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v.51, n.2, p. 235-244, 1998.

VARIER, A.; VARI, A.K.; DADLANI, M. The subcellular basis of seed priming. **Current Science**, v.99, n.4, p.450-456, 2010.

- VENKATASUBRAMANIAN, A.; UMARANI, R. Evaluation of seed priming methods to improve seed performance of tomato (*Lycopersicon esculentum*), eggplant (*Solanum melongena*) and chilli (*Capsicum annum*). **Seed Science and Technology**, v.35, p.487-493, 2007.
- VIEIRA, M.H.P.; IRBER, M. de V. Emergência e taxa de germinação em *Annona coriácea*. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 47., 1996, Nova Friburgo. **Resumos...** Nova Friburgo: Sociedade Botânica do Brasil, 1996.
- VILLELA, F.A. Water relations in seed biology. **Scientia Agricola**, v.55, p.98-101, 1998.
- VILLELA, F.A.; MARCOS FILHO, J. Estados energéticos e tipos de água na semente. **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, n.2, p.79-83, 1998.
- WANLI, Z.; LEIHONG, L.; PEREZ, S.C.J.G.A. Pré condicionamento e seus efeitos em sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng) Taub). **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.146-153, 2001.
- YADAV, P.V.; KUMARI, M.; AHMED, Z. Seed priming mediated germination improvement and tolerance to subsequent exposure to cold and salt stress in Capsicum. **Research Journal of Seed Science**, v.4, n.3, p.125-136, 2011.
- ZEEVAART, J.A.D.; CREELMAN, R.A. Metabolism and physiology of abscisic acid. **Annual Review Plant Physiology Plant Mol Biol**, v.39, p.439-473, 1988.
- ZHANG, S., HU, J., ZHANG, Y., XIE, X.J.; KNAPP, A. Seed priming with brassinolide improves Lucerne (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.58, p.811-815, 2007.