

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE
ARATICUM-DE-TERRA-FRIA (*Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER).**

JAQUELINE MALAGUTTI CORSATO

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

BOTUCATU - SP

- 2010 -

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

CAMPUS DE BOTUCATU

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

**TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE
ARATICUM-DE-TERRA-FRIA (*Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER).**

JAQUELINE MALAGUTTI CORSATO

PROF^ª DR^ª GISELA FERREIRA

ORIENTADORA

PROF. DR. CLAUDIO JOSE BARBEDO

Co-orientador

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

BOTUCATU - SP

- 2010 -

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

Corsato, Jaqueline Malagutti.

Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de Araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. Rainer / Jaqueline Malagutti Corsato. – Botucatu, 2010).

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2010.

Orientadora: Gisela Ferreira

Co-Orientador: Cláudio José Barbeto

Assunto CAPES: 20303009

1. Fisiologia vegetal. 2. Anonácea. 3. *Annona* – Sementes – Armazenamento. 4. Sementes – Secagem.

Palavras-chave: Açúcares solúveis; Annonaceae; Citocininas; Giberelinas; Repouso pós-colheita; Secagem.

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original.”

Albert Einstein

DEDICO,

Aos meus pais **Maria Aparecida Malagutti** e
Carlos Corsato, pois vocês são essenciais em
todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus**, por sempre abençoar e guiar os meus passos.

Agradeço aos meus pais, **Maria Aparecida Malagutti** e **Carlos Corsato**, pelo apoio para que eu pudesse completar mais uma etapa em minha vida.

A minha irmã **Ana Cláudia Malagutti Corsato**, pelo carinho e amizade.

Ao **Marcelo Rodrigues Gomes**, meu companheiro que compreende a distância em que vivemos e por sempre estar ao meu lado me ajudando, você é e sempre foi indispensável na minha vida.

A **Juliana Iassia**, pela amizade, colaboração e pelos momentos de descontração.

Ao **João Paulo Naldi Silva**, pela amizade e colaboração.

Aos colegas de pós-graduação **Denise, Valdir, Douglas, Natália, Amanda, Tatiana** e a **Jennifer**.

Aos funcionários do Departamento de Botânica em especial ao **José Eduardo** e a **Inara**, que sempre colaboraram quando precisei.

Agradeço a Prof^ª Dr^ª **Gisela Ferreira**, pela orientação nestes trabalhos.

Ao Prof. Dr. **Claudio Jose Barbedo**, pela co-orientação neste trabalho.

A Prof^ª. Dr^ª. **Giusephina Pace Pereira Lima**, por permitir que uma etapa dos experimentos fosse realizada em seu laboratório.

Aos professores do Departamento de Botânica, IB, UNESP – Botucatu.

A Prof^ª. Dr^ª. **Andréa M. T. Fortes**, que iniciou comigo esta jornada.

À **Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior (CAPES)**, pelo auxílio financeiro concedido à realização dessa dissertação.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Família Annonaceae	4
2.1.1. <i>Annona emarginata</i> (Schldtl.) H. Rainer	7
2.2. TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO	8
2.2.1. CARBOIDRATOS	13
2.2.2. PROTEÍNAS LEA (Late Embryogenesis Abundant)	15
2.2.3. SISTEMAS ANTIOXIDANTES	16
2.3. SECAGEM DAS SEMENTES	19
2.4. ARMAZENAMENTO DE SEMENTES	21
2.5. REPOUSO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS	23
3. Capítulo 1: NÍVEIS DE TOLERÂNCIA A DESSECAÇÃO, REGULADORES VEGETAIS E AÇÚCARES SOLÚVEIS EM SEMENTES DE <i>Annona emarginata</i> (SCHLDTL.) H. RAINER	25
4. Capítulo 2: REPOUSO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE <i>Annona emarginata</i> (SCHLDTL.) H. RAINER	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
6. CONCLUSÕES	86
7. REFERÊNCIAS	87

CORSATO, J.M. 2010. **TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE ARATICUM-DE-TERRA-FRIA (*Annona emarginata* (SCHLDTL.) H. RAINER)**. 95p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

RESUMO - O presente trabalho foi realizado no Departamento de Botânica, Instituto de Biociências – UNESP, *Campus* de Botucatu, e teve como objetivo avaliar a tolerância à dessecação de sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer), os açúcares envolvidos no processo e o efeito de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação das sementes submetidas aos níveis de secagem e além de avaliar o comportamento fisiológico das sementes após armazenadas no fruto (repouso pós-colheita). Foram instalados dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes por parcela. No primeiro As sementes foram secas em estufa de circulação forçada de ar (50°C) obtendo-se níveis de água de: 31% testemunha, 19%, 12% e 5%. Após secagem, as sementes foram embebidas em GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina (0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹) por 60 horas. Já O segundo experimento foi dividido em duas etapas. Na primeira os frutos maduros foram armazenados a 5°C pelo período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Após armazenamento as sementes foram colocadas para embeber em água destilada e em solução de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina (800 mg L⁻¹) por 60 horas. Na segunda etapa, as sementes foram armazenadas em sacos de papel tipo Kraft, envoltas por um saco de polietileno e acondicionadas em câmaras de germinação nas temperaturas de 5°C, 15°C e 25°C, onde permaneceram armazenadas por 30, 60, 90, 120 e 150 dias sendo o tempo 0 a testemunha. Após armazenamento as sementes foram colocadas para embeber em água destilada e em solução de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina (800 mg L⁻¹) por 60 horas. As variáveis analisadas foram: condutividade elétrica, porcentagem, tempo médio, índice de velocidade, frequência e sincronização da germinação, porcentagem de sementes dormentes, porcentagem de plântulas normais, comprimento médio de raiz e da parte aérea, análise quantitativa dos açúcares solúveis e redutores totais e perfil dos açúcares por HPLC (apenas no primeiro experimento). Verificou-se que as sementes de *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer toleram a secagem até níveis de 12% de água e que a sacarose é o principal açúcar envolvido nesse processo. Porém é necessário o uso de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina pra superação da dormência, sendo que quanto maior o nível de secagem, maior a concentração do regulador a ser empregada. O repouso pós-colheita do fruto também auxilia na superação da dormência nas sementes de araticum-de-terra-fria e as sementes recém-extraídas (teor de água de 30%) devem ser armazenadas a baixas temperaturas (5°C e 15°C) por no máximo 90 dias.

Palavras-chave: Annonaceae, secagem, repouso pós-colheita, giberelinas, citocininas, açúcares solúveis.

CORSATO, J.M. 2010. **TOLERANCE TO DESICCATION AND STORAGE OF “ARATICUM-DE-TERRA-FRIA” (*Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER) SEEDS**. 95p. Dissertation (Master’s) – Institute of Biosciences, UNESP – São Paulo State University, Botucatu, São Paulo State, Brazil.

ABSTRACT – The present study was carried out at the Department of Botany, Institute of Biosciences – UNESP, Botucatu Campus, São Paulo State, Brazil, aimed to assess the tolerance to desiccation of “araticum-de-terra-fria” (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) seeds, the sugars involved in this process, the effect of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine on the germination of seeds subjected to different desiccation levels, and the physiological behavior of seeds stored in the fruit (postharvest resting period) and after fruit extraction. Two experiments were carried out in completely randomized design, including 4 replicates of 25 seeds per plot. In the first one, seeds were drought in forced aeration oven (50°C) and the following water levels were obtained: 31% control, 19%, 12% and 5%. After desiccation, seeds were immersed in GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine (0, 250, 500, 750 and 1000 mg L⁻¹) for 60h. The second experiment was divided into two steps: in the first one, mature fruits were stored at 5°C for 0, 7, 14, 21 and 28 days. Then, the fruits were manually pulped and the seeds were allowed to imbibe in distilled water and in GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine solution at the concentration of 800 mg L⁻¹ for 60h. In the second step, the seeds were involved with polyethylene bags, placed inside Kraft-type paper bags and stored in a germination chamber at 5°C, 15°C and 25°C for 30, 60, 90, 120 and 150 days; time 0 was adopted as control. Following storage, seeds were allowed to imbibe in distilled water and in GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine solution at the concentration of 800 mg L⁻¹ for 60h. The evaluated variables were electrical conductivity; germination percentage, mean time, speed index, frequency and synchronization; percentage of dormant seeds; quantitative analysis of total and reducing soluble sugars; and sugar profile by using HPLC only in the first experiment. *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer seeds tolerated desiccation until the level of 12% water, and sucrose is the main sugar involved in this process. However, the use of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine is needed to break dormancy; the higher the desiccation level, the higher the concentration of this regulator to be adopted. Fruit postharvest resting period also helps breaking dormancy in “araticum-de-terra-fria” seeds; in addition, seeds presenting initial water level should be stored at low temperatures (5°C and 15°C) for a maximum period of 90 days.

Keywords: Annonaceae, desiccation, postharvest resting period, gibberellins, cytokinins, soluble sugars.

1. INTRODUÇÃO

Com a expansão do cultivo de espécies da família Anonáceas no mundo, surge a necessidade do conhecimento dos processos fisiológicos que envolvem desde a germinação das sementes até a pós-colheita dos frutos, a fim de dar subsídios tanto a cultivos produtivos, como a programas de melhoramento genético e até orientações para escolha de espécies a serem usadas em áreas de recuperação ambiental (SÃO JOSÉ, 1997). Neste contexto, o araticum-de-terra-fria, espécie nativa do território brasileiro é de grande importância devido às suas características como porta-enxerto para espécies como a atemóia, graviola e fruta-do-conde. No entanto, existem dificuldades quanto à germinação e armazenamento dessas sementes (RIZZINI, 1973).

Estudos quanto ao comportamento de sementes de anonáceas perante a perda de água e ao armazenamento são escassos e até o momento as informações disponíveis relatam uma diversidade de comportamento dessas espécies (CARVALHO et al., 2001; BERNARDES et al., 2007). Tokunaga (2000) recomenda que a semeadura do araticum-de-terra-fria seja realizada logo após a extração dos frutos, restringindo a produção de mudas em apenas uma época do ano.

Tal relato justifica o estudo das sementes perante a perda de água, pois como existe correlação entre a quantidade de água presente nos tecidos e o tempo de armazenamento suportado pela espécie (WALTERS, 2000; FONSECA & FREIRE, 2003; BERJAK & PAMMENTER, 2007), tornando-se interessante o estabelecimento de metodologias para maximizar a produção de mudas de espécies nativas ou com valor comercial, como é o caso das anonáceas, visando reduzir a perda das sementes devido à falta de informações sobre as mais variadas espécies (FONSECA & FREIRE, 2003).

Dessa forma, para compreender os mecanismos de tolerância à dessecação, foi avaliada a relação dos carboidratos neste processo além do efeito de reguladores GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação, pois se sabe que a sacarose e oligossacarídeos estão diretamente relacionados neste processo e que as espécies da família Annonaceae apresentam sementes dormentes.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a tolerância à dessecação de sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer), os açúcares envolvidos no processo e o efeito de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação das sementes submetidas aos níveis de secagem, além de avaliar o comportamento fisiológico das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer armazenadas no fruto (repouso pós-colheita) e armazenadas após extração dos frutos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. FAMÍLIA ANNONACEAE

Segundo a classificação filogenética APG II (APG, 2003) a família Annonaceae pertence ao grupo das plantas Eudicotiledôneas, clado das Magnoliídeas (arbóreas). Este clado é constituído por quatro ordens, Canallales, Laurales, Magneliales e Piperales, sendo a ordem Magneliales representada pelas famílias Magnoliaceae, Myristicaceae e Annonaceae (SOUZA & LORENZI, 2005).

Em alguns sistemas de classificação a família Annonaceae, é considerada como uma angiosperma basal por apresentar atributos primitivos como o habito lenhoso, perianto bem desenvolvido, polinização por coleópteros, numerosos estames, pólen monossulcados e cálice e corola muitas vezes sem diferenciação (APG, 2003; CRONQUIST, 1981).

Dentre as características utilizadas para a identificação das espécies da família Annonaceae destaca-se o odor forte proveniente do corte de troncos e ramos, presença de fibras longas e resistentes na casca do caule, conhecida popularmente como Envira. As folhas são dísticas (exceto em *Tetrameranthus*, que apresenta folhas espiraladas), alternas, simples e sem estípulas (JOLY, 2002).

As flores das anonáceas podem ser isoladas ou reunidas em inflorescências, hemicíclicas, hermafroditas, diclamídeas com perianto diferenciado no cálice e na corola. Em geral são trímeras e carnosas com estames numerosos, dispostos em forma espiralada, o ovário é súpero com um a muitos óvulos. Os frutos podem ser apocárpicos ou sincárpicos carnosos e indeiscentes ou deiscentes (JOLY, 2002).

A família Annonaceae é representada por 140 gêneros com cerca de 2.500 espécies sendo a maioria de distribuição tropical, presentes na América, África e Ásia (PINTO et. al., 2005). No Brasil, são encontrados 26 gêneros e aproximadamente 260 espécies (MAAS et al., 2006).

As espécies da família Annonaceae vêm apresentando consumo crescente dos frutos, porém a oferta interna ainda é insuficiente, uma vez que a produção nacional ainda não se apresenta consolidada (MELLO et al., 2003). O destaque na família é para as espécies pertencentes ao gênero *Annona* o qual apresenta frutos comestíveis como a cherimóia, graviola, fruta-do-conde e a atemóia. Estes frutos são aromáticos, de sabor agradável, açucarado e ligeiramente ácido, despertando interesse no mercado consumidor (SÃO JOSÉ, 1997).

Os maiores cultivos de anonáceas são encontrados no Peru e na Colômbia, seguidos por Espanha e Israel. No Brasil, para o consumo *in natura* são produzidos principalmente a fruta-do-conde, também conhecida como pinha (*Annona squamosa*) e a atemóia (*A. cherimola* x *A. squamosa*). A graviola (*Annona muricata*) é cultivada principalmente com a finalidade para produção de polpa e suco (CARRARO & CUNHA, 1994).

A propagação das anonáceas comerciais ocorre principalmente por métodos vegetativos como a enxertia e estaquia, pois estes métodos garantem pomares produtivos e uniformes. A enxertia é um processo de propagação vegetativa que consiste em unir um vegetal ou parte dele sobre outra planta que lhe sirva de suporte, o qual é responsável por retirar do solo água e nutrientes (SÃO JOSÉ, 1997).

A enxertia garante vantagens na formação dos pomares, dentre elas podem-se citar a floração e frutificação precoce, utilização de porta-enxerto resistente a enfermidades e pragas além de, assegurar as características genéticas da planta que se deseja multiplicar. Porém para a obtenção de mudas com qualidade alguns cuidados devem ser tomados na escolha da espécie utilizada como porta-enxerto (SÃO JOSÉ, 1997).

Embora a propagação da fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) ainda seja realizada via seminífera, Araújo (2008) relata que a propagação vegetativa dessa anonácea produz plantas precoces mais produtivas e com frutos de maior qualidade, viabilizando a utilização de plantas enxertadas para a formação de pomares. Neste contexto as sementes são utilizadas para a formação de porta-enxerto (STENZEL, 1996; TOKUNAGA, 2000).

Dentre as espécies utilizadas como porta-enxerto para as anonáceas destacam-se o araticum do brejo (*Annona glabra*), o araticum (*Annona montana*), araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltd.) H. Rainer), *Annona coriacea*, *Annona dióica* e *Annona sylvatica* (SÃO JOSÉ, 1997).

Apesar das espécies utilizadas como porta-enxerto serem propagadas por sementes é importante ressaltar que a família Annonaceae apresenta espécies com dormência embrionária, o que resulta em germinação lenta e desuniforme (RIZZINI, 1973). Pawshe et al. (1997) e Smet et al. (1999) sugerem ainda que a germinação seja afetada pela presença de ácido abscísico no embrião, impermeabilidade e resistência do tegumento à entrada de água.

No entanto, Mello (2007) demonstrou através de cortes histológicos, seguidos de testes de germinação, que sementes de *Annona crassiflora* apresentam eixo embrionário e cotilédones distintos, embora o embrião ainda seja muito pequeno caracterizando embrião rudimentar. Estas informações concordam parcialmente com o que foi relatado por Rizzini (1973) uma vez que a dormência apresentada pelas anonáceas seria causada pela presença de um embrião imaturo e não indiferenciado, conforme citado pelo autor. Dessa forma, pode-se dizer que as anonáceas apresentam uma dormência morfofisiológica sendo necessário investigar a relação entre promotores e inibidores da germinação (SILVA et al., 2007).

Neste contexto, pesquisas têm sido desenvolvidas ao longo do tempo com o uso de reguladores vegetais com o propósito de superar a dormência de espécies usadas como copa e porta-enxerto. Dentre os trabalhos relata-se o de Campbell e Popenoe (1968) que obtiveram 77% de germinação com uso de 350 mg L⁻¹ de GA₃ em sementes de *Annona diversifolia* Saff. e o de Jubes et al. (1975) que observaram 77,32 % de germinação empregando-se 500 mg L⁻¹ de GA₃ em sementes de *Annona cherimola* Mill. Outros trabalhos foram realizados com sementes de *Annona muricata* (Pinto, 1976), de *A. esquamosa* L. (Pawshe et al. , 1997; Ferreira et al., 2002; Stenzel et al., 2003), de *A. reticulata* (Valezuela & Osório, 1998), de *A. cherimola* Mill. (Smet et al., 1999) e de *A. crassiflora* Mart. (SILVA et al., 2007).

A germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A. esquamosa* L.) também é estudada quando o interesse é o de produzir porta-enxerto compatível consigo mesma, para ser usado em áreas sem histórico de patógenos no solo. Stenzel et al. (2003) observaram germinação de 67,5% empregando-se sementes da cv. ‘Gefner’, 36,25% da cv. ‘PR-1’ e 61,25% da cv. ‘PR-3’. Da mesma forma, Oliveira (2004) e Braga (2008) também obtiveram incremento na germinação de sementes de atemóia com o uso de reguladores vegetais.

Quanto à impermeabilidade do tegumento, Ferreira et al. (2006) e Costa (2009) verificaram que a aquisição de água em sementes de anonáceas é lenta, o que ocorre entre 27 horas para as sementes de atemóia (*A. squamosa* x *A. cherimoia*) e de 60 horas para sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, demonstrando que ocorre a entrada de água.

Além dos relatos de dormência, há espécies como a *Annona crassiflora* Mart. que não permitem armazenamento por longos períodos, sendo necessário que a semeadura seja realizada logo após a extração dos frutos (BERNARDES et al., 2007) o

que concentra a germinação e a produção de mudas em um único período do ano, desde que as condições ambientais sejam favoráveis. Por outro lado, Carvalho et al. (2001) relatam que sementes de *Annona glabra* L. suportam redução no teor de água e congelamento, com germinação elevada após 365 dias de armazenamento.

2.1.1. *Annona emarginata* (Schldtl.) H.Rainer

O gênero *Rollinia* foi estabelecido por Antoine de Saint-Hilaire (1825) e subsequentemente expandido por Schlecht-Tendal (1834), Marthius (1841), Triana & Planchon (1862) e Safford (1916). No entanto, Rainer (2007) propôs que este gênero deve ser incorporado ao gênero *Annona*, pois análises filogenéticas revelaram uma estreita relação entre as espécies desses dois gêneros, sugerindo assim uma nova nomenclatura para as espécies anteriormente descritas como *Rollinia*.

A espécie *Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer, sinônimo da espécie *Rollinia* sp. pertence à família Annonaceae, popularmente conhecida como araticum-de-terra-fria é nativa do território brasileiro e tem sido encontrada desde o estado do Rio Grande do Sul até Minas Gerais. A planta comporta-se bem em solos secos, tem resistência a solos úmidos e adaptação em locais situados a 950m acima do nível do mar (TOKUNAGA, 2000; RAINER, 2007).

A importância desta espécie está relacionada com sua rusticidade o que justifica seu uso em programas de melhoramento genético e como porta-enxerto para espécies da família Annonaceae. Quando utilizada como porta-enxerto para atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.) e cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), proporciona maior compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto, vigor à copa e resistência a fungos, podridão de raízes e brocas que atacam o colo das plantas (KAVATI et al., 1997; BONAVENTURE, 1999; TOKUNAGA, 2000).

Esta espécie apresenta os frutos maduros nos meses de março e abril. Após a colheita dos frutos as sementes são extraídas, tratadas com solução fungicida e deixadas secar em local arejado. Depois da triagem manual das sementes estas podem ser semeadas e seu potencial germinativo dura por pelo menos seis meses (BONAVENTURE, 2000). No entanto, Tokunaga (2000) sugere que a semeadura seja feita rapidamente após a extração das sementes, devido à baixa porcentagem de germinação observada após armazenamento.

2.2. TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO

Uma das fases do ciclo de vida das angiospermas inclui o desenvolvimento das sementes o qual é controlado geneticamente e envolve uma seqüência ordenada de alterações morfológicas, físicas, fisiológicas e bioquímicas que ocorrem a partir da fecundação do óvulo até o desligamento da semente madura da planta mãe (BELTRANI & PAOLI, 2003).

Basicamente o desenvolvimento das sementes é dividido em três fases. A primeira fase é chamada de crescimento inicial sendo caracterizada pelo elevado teor de água, inúmeras divisões celulares além da histodiferenciação e morfogênese do plano básico do embrião das sementes (CASTRO et al., 2004).

Após o crescimento inicial, ocorre uma fase intermediária onde as sementes aumentam de tamanho devido à expansão celular e deposição de reservas que serão utilizadas durante o processo de germinação para que o embrião obtenha energia necessária para retomar seu crescimento. Com a deposição de reservas a massa seca das sementes passa a aumentar e em contrapartida as sementes iniciam a perda de água (CASTRO et al; 2004).

Por fim, as sementes passam por um período pré-programado de secagem, quando ocorre redução no seu teor de água. Tais sementes foram classificadas primeiramente por Roberts (1973) como ortodoxas, as quais podem secar a níveis inferiores a 10% de água e provavelmente dependem dessa redução na quantidade de água dos seus tecidos para redirecionar seu metabolismo tendo como finalidade a germinação (BRABEDO et al., 2002; CASTRO et al; 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Já as sementes que não passam pela secagem pré-programada no final do seu desenvolvimento, são dispersas com elevados teores de água e quando secas perdem a capacidade de germinar, Roberts (1973) classificou como recalcitrantes. Porém, vários estudos relacionados à tolerância à dessecação foram desenvolvidos e foi verificado que este processo não é tão simples e envolve uma série de mecanismos que permitem ou não que as sementes sejam secas (HOEKSTRA et al., 1994)

Devido à complexidade envolvida na classificação das sementes quanto à tolerância à dessecação, Walters (2000) sugeriu modificação na classificação de Roberts (1973). Assim, foi proposta uma nova classificação menos estanque para as sementes que toleram e aquelas que não toleram a dessecação durante as fases finais da maturação, sugerindo o uso de níveis de tolerância à dessecação (WALTERS, 2000).

Cabe salientar que para que uma semente possa ser classificada quanto à tolerância a retirada de água é necessária a compreensão de diversos pré-requisitos como proteção a proteínas e enzimas, sistemas de proteção às membranas, redução do movimento de moléculas no interior das células, sistemas de proteção ao ataque de radicais livres, redução das atividades metabólicas e reparo dessas mesmas atividades durante o processo de embebição (MARCOS FILHO, 2005).

Sementes ortodoxas ao serem dispersas normalmente apresentam teores de água inferiores a 10%, ou seja, apresentam conteúdo de água do tipo 1. Por apresentarem potencial hídrico na faixa de -150 MPa, significa que toda a água que estava interagindo com as macromoléculas presentes nas células dos tecidos da semente foi perdida, estabelecendo um nível crítico (WALTERS, 2000).

De acordo com estudos das curvas de isothermas de sorção e calorimetria, foi possível identificar cinco níveis de hidratação presentes em tecidos de sementes (VERTUCCI & FARRANT, 1995; LEPRINCE et al., 1993; MARCOS FILHO, 2005; PAMMENTER & BERJAK, 2000), conforme segue:

- Água do tipo 1 (8-10% de água): caracterizada pela grande aderência das moléculas de água a superfície macromoleculares através de ligações iônicas, também conhecida como água do tipo estrutural, corresponde ao potencial hídrico de -150 MPa.

- Água do tipo 2 (10-22% de água): têm capacidade de vitrificação e a energia de atração diminui, sugerindo uma fraca interação das moléculas de água com a superfície molecular, está presente quando as sementes possuem potencial hídrico em torno de -150 a -11 MPa e interagem com sítios polares de macromoléculas.

- Água do tipo 3 (22-32% de água): Nesta faixa a água ganha propriedades de solvente e associa-se aos sítios hidrofóbicos das macromoléculas além de permitir a ocorrência de algumas atividades metabólicas. Presente nas sementes quando o potencial hídrico é de -11 a -4 MPa.

- Água do tipo 4 (33-55% de água): não interage diretamente com proteínas e outras macromoléculas. Potencial hídrico de -4 a -1,5 MPa.

- Água do tipo 5 (Acima de 55% de água): também conhecida como água livre. Potencial hídrico -1,5 MPa.

Conhecer o teor de água das sementes torna-se importante para o desenvolvimento de estratégias eficazes visando à manutenção da viabilidade dessas sementes (BERJAK & PAMMENTER, 2007). Enquanto as sementes estão nas fases iniciais do desenvolvimento, ainda não há completa capacidade de germinar, tolerância

à dessecação e vigor, pois estas características são adquiridas ao longo do tempo (CASTRO et al; 2004).

Com a perda da água, que auxilia na manutenção das estruturas celulares, ocorre a exposição de sítios macromoleculares que podem ser atacados por radicais livres e promover conseqüentemente a perda de função ou desestruturação das macromoléculas e membranas celulares (WALTERS, 2000). Dessa forma, o balanço entre geração e remoção de radicais durante a secagem e o armazenamento das sementes, relaciona-se com a longevidade das mesmas (BRANDÃO JUNIOR et al., 2002).

A perda de água pelas células pode induzir danos às membranas, alterando sua integridade funcional e estrutural. Estudos ultra-estruturais de tecidos submetidos à dessecação revelam que a membrana plasmática é o principal sítio de lesão imposto pela perda de água. Estudos com embriões de *Phaseolus vulgaris* L. demonstram que com a aquisição da tolerância à dessecação os danos nas membranas celulares são minimizados com a perda de água (LEPRINCE et al., 1993).

As membranas celulares são formadas por uma bicamada fosfolipídica na qual as extremidades hidrofílicas das moléculas são voltadas para fora, enquanto as cadeias hidrofóbicas ficam internamente a membrana. Esta conformação das membranas celulares é mantida pela presença de água, sendo que ao retirá-la durante a desidratação a membrana muda do estado fluído para o estado gel o qual não funciona como barreira a lixiviação de compostos (CASTRO et al., 2004).

Uma das formas de avaliar a ocorrência de danos a membrana plasmática de células de tecidos submetidos à secagem é o teste de condutividade elétrica, procedimento este que verifica a saída da solução citoplasmática (íons, açúcares, proteínas, etc.) após a reidratação dos tecidos previamente secos. Assim, a taxa e a extensão da perda da solução citoplasmática podem ser correlacionadas com o grau de sensibilidade à dessecação (LEPRINCE et al., 1993).

No entanto, a metodologia para esse teste está bem definida apenas para espécies cultivadas enquanto que para espécies nativas a escassez de informações básicas limita sua utilização (BARBEDO & CICERO, 1998). Para sementes de *Ingá uruguensis* com a utilização do teste de condutividade elétrica foi possível demonstrar uma estimativa do potencial germinativo das sementes, refletindo a importância e praticidade do teste para avaliações da qualidade fisiológica de lotes de sementes (BARBEDO & CICERO, 1998).

Os resultados obtidos com o teste de condutividade elétrica demonstram portanto, a quantidade de substâncias lixiviadas durante o processo de embebição das sementes e partindo desses resultados é possível inferir o quanto às membranas celulares foram danificadas (PINÃ-RODRIGUES et al., 2004). No caso de sementes ortodoxas devido aos mecanismos de proteção ao dessecação esse tipo de dano celular é minimizado.

Para que as células dos tecidos das sementes que toleram a retirada de água durante a fase final da maturação não sofram danos devido ao metabolismo desordenado durante a secagem o que pode inviabilizar ou impedir a ocorrência do processo de germinação, são necessários mecanismos que permitam a sobrevivência em estado anidro (PAMMENTER & BERJAK, 2000; WALTERS, 2000; BERJAK & PAMMENTER, 2007).

Na terceira fase do desenvolvimento das sementes quando ocorre a rápida retirada da água a nível celular (CASTRO et al., 2004), as células podem sofrer vários danos e a reativação do metabolismo pode ser comprometida durante a primeira fase do processo de germinação (embebição) (MARCOS FILHO, 2005). No caso de sementes ortodoxas existem mecanismos que impedem que esses danos ocorram, enquanto nas sementes recalcitrantes os danos da secagem levam a perda de viabilidade das sementes (BERJAK & PAMMENTER, 2007).

O mecanismo de percepção da perda de água em células vegetais envolve a captação da redução na pressão de turgor celular por uma proteína de membrana a qual ainda não teve sua estrutura identificada. Esse mecanismo envolve uma rota de sinalização que leva a ativação de fatores de transcrição (proteínas reguladoras específicas), os quais são responsáveis pela ativação, das rotas de transdução de sinal ABA-dependentes e ABA-independentes (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Ambas as rotas de transdução de sinal levam a ativação de genes específicos, os quais vão desencadear uma complexa interação, entre expressão gênica e processos fisiológicos resultando na tolerância à perda de água pelo vegetal (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Durante a fase final da maturação das sementes, o ABA é um dos responsáveis pela aquisição da tolerância à dessecação. Normalmente o conteúdo de ABA durante o início da embriogênese é baixo, atingindo níveis mais elevados na fase intermediária desse processo, sendo que entre as fases intermediárias e tardias do desenvolvimento da

semente ocorre o acúmulo de RNA's mensageiros específicos em resposta à concentração do ABA (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Estes RNA's acumulados durante a fase tardia da maturação das sementes irão codificar principalmente um grupo de proteínas da embriogênese tardia (LEA) que podem estar envolvidas, com a aquisição da tolerância à dessecação (CASTRO et al; 2004).

Um exemplo prático da influência indireta do ácido abscísico na tolerância à dessecação foi demonstrado por Iida et al. (1992) ao tratar embriões somáticos de cenoura com ácido abscísico, o que permitiu a germinação após o processo de secagem e reidratação, entretanto quando não aplicado o regulador vegetal os embriões não resistem à dessecação.

Dentre as espécies frutíferas, o açaí (*Euterpe oleracea*) uma Palmaceae nativa da região amazônica apresenta comportamento recalcitrante perante a desidratação, pois a partir perda de água há redução na porcentagem de germinação dessa espécie (NASCIMENTO & SILVA, 2005). Comportamento semelhante foi verificado por Martins & Silva (2006) em sementes de tangerina (*Citrus reticulata*), sendo que a desidratação a partir de 39% de água favorece a deterioração dessas sementes, pois ocorre redução na porcentagem de germinação.

Segundo Ono et al. (1995) sementes de *Citrumelo* 'Swingle' potenciais para a produção de porta-enxerto de *Citrus*, apresentam baixa porcentagem de germinação que pode estar relacionado com a tolerância à dessecação dessas sementes. No entanto, Zucareli et al. (2009) ao estudar a tolerância a dessecação dessa espécie verificaram que as sementes de *Citrumelo* 'Swingle' toleram a dessecação até 16% de umidade sem maiores danos à germinação desde que o tegumento das sementes seja retirado.

Nakagawa et al. (2005) ao estudarem a maturação das sementes de mucuna-preta verificaram que o teor de água no início do desenvolvimento das sementes era elevado, em torno de 73%, ocorrendo declínio lento ao longo do tempo. Já nas fases finais da maturação dessas sementes foi observado acentuado decréscimo na quantidade de água até 12% de água, apresentando comportamento típico de sementes ortodoxas, grupo que engloba principalmente sementes de espécies cultivadas.

Uma hipótese para a aquisição da tolerância à dessecação em sementes é de que a água perdida pelas células dos tecidos é substituída por compostos polihidroxil (carboidratos), os quais possuem a propriedade de estabilizar as membranas quando desidratadas. O grupo hidroxil desses compostos seria o responsável pela manutenção

das interações hidrofílicas necessárias para permitir a estabilidade da estruturas das membranas celulares (KOSTER & LEOPOLD, 1988).

2.2.1 CARBOIDRATOS

Os carboidratos correspondem a um dos principais tipos de reserva em sementes junto com os lipídeos e as proteínas, cujas proporções variam de espécie para espécie e também com o estágio de desenvolvimento que as sementes se encontram. Uma porcentagem dos carboidratos presentes nas sementes corresponde aos carboidratos solúveis com destaque para a glicose, frutose, manose, galactose, sacarose e oligossacarídeos da série rafínosica. Esta fração de carboidratos solúveis pode atuar como reservas de utilização rápida ou limitando os danos causados durante à secagem de sementes maduras (BUCKERIDGE et al., 2000).

Dentre os carboidratos que demonstram a habilidade de proteger o sistema de membranas celulares da perda de água estão à sacarose, rafinose e trealose. A trealose ocorre em vários organismos tolerantes à dessecação, porém sua ocorrência em sementes de espécies angiospermas não foi observada. No caso da sacarose já foi comprovada sua capacidade de proteção em sistemas de membranas artificiais (KOSTER & LEOPOLD, 1988).

A sacarose é um açúcar abundante em sementes tolerantes à dessecação e em estudos de estresse hídrico em plantas onde seu conteúdo aumenta em resposta a dessecação dos tecidos (ILING et al., 2005). Porém, a sacarose, quando concentrada não é uma molécula estável e tende a se cristalizar. A forma de atenuar esta cristalização é a presença de oligossacarídeos da série rafínosica, os quais previnem à cristalização da sacarose fornecendo melhor proteção as células (LEPRINCE et al., 1993; KIGEL & GALILI, 1995; JOSÉ et al., 2006).

Quando nas proporções corretas os carboidratos solúveis formam nas células um estado viscoso, caracterizado como uma solução líquida, com propriedades de viscosidade de um sólido que não formam cristais de gelo mesmo em temperaturas negativas (JOSÉ et al., 2006). Por ser extremamente viscoso, este estado é capaz de paralisar os processos bioquímicos que requerem difusão molecular, atenuando a atividade de espécies reativas do metabolismo do oxigênio, auxiliando assim na estabilidade celular por muito tempo (PAMMENTER & BERJAK, 2000; ROSA, et al., 2005).

O estado viscoso é descrito pela produção de sólidos amorfos nas quais as moléculas celulares encontram-se interligadas de modo que a mobilidade passa a ser limitada no interior da matriz citoplasmática (BERJAK & PAMMENTER, 2007).

De acordo com Buitink & Leprince (2004) a identificação de cada componente citoplasmático que pode contribuir para a formação do estado viscoso é um desafio para a compreensão da tolerância à dessecação das sementes. Hellman et al. (2008) relatam que apenas a formação do estado viscoso nas sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) não é o suficiente para manter a estabilidade celular durante o estado desidratado, sugerindo a necessidade de interações macromoleculares e metabólicas entre carboidratos, lipídeos e proteínas.

Os açúcares que podem estar envolvidos na tolerância à dessecação de sementes ortodoxas são acumulados durante o processo de maturação das sementes e a concentração destes compostos começa a diminuir com o início da embebição, sendo que para as sementes de soja a perda da tolerância à dessecação coincide com a redução significativa de oligossacarídeos e sacarose (KOSTER & LEOPOLD, 1988).

Hoekstra et al. (1994) afirmam que durante a desidratação os açúcares solúveis, dentre eles a sacarose, pode prevenir os efeitos danosos da dessecação sobre as membranas celulares. Estes açúcares formam ligações de hidrogênio, substituindo a água associada à superfície das membranas mantendo assim o espaçamento dos grupos lipídicos, evitando a transição da fase líquida cristalina para a fase gel. Estes autores também relatam que as sementes intolerantes à dessecação apresentam esses açúcares em sua constituição, no entanto, as formas como eles se depositam durante a desidratação não garante proteção.

Pukacka & Wojkiewicz (2002) ao estimarem a tolerância à dessecação das espécies *Acer platanoides* e *Acer pseudoplatanus*, verificaram que as sementes de *Acer platanoides* são tolerantes à dessecação e que a concentração de rafinose e estaquiiose aumentam significativamente durante a maturação. Para as sementes de *Acer pseudoplatanus*, foi observado que as concentrações desses carboidratos são reduzidas com a maturação e as sementes são intolerantes à secagem, estabelecendo uma relação entre a concentração desses oligossacarídeos e o estabelecimento da tolerância a dessecação nestas espécies.

O acúmulo de sacarose também ocorre em sementes com comportamento recalcitrante como a *C. sinensis* (BERJAK et al., 1989), *Q. robur* (FINCH-SAVAGE et al 1993) e *P. alba* (CONNOR & SOWA, 2003). No entanto apesar dessas sementes

acumularem sacarose, elas não apresentam tolerância à secagem em ambiente natural, onde normalmente as sementes recalcitrantes perdem a viabilidade antes que ocorra a formação do estado viscoso no interior das células (BERJAK & PAMMENTER, 2007).

No caso das sementes recalcitrantes a hipótese é de que a hidrólise da sacarose forme substratos necessários para manter a atividade respiratória, sustentando o desenvolvimento contínuo dessas sementes até a germinação e estabelecimento das plântulas ao invés de auxiliarem na tolerância à dessecação (BERJAK & PAMMENTER, 2007).

Além dos carboidratos, Blackman et al. (1991), Walters et al., (2001) e Rosa et al. (2005) sugerem que a tolerância à dessecação pode estar relacionada com a produção de um grupo de proteínas denominadas LEA (Late Embryogenesis Abundant).

2.2.2 PROTEÍNAS LEA (Late Embryogenesis Abundant)

As proteínas do grupo LEA (Late Embryogenesis Abundant) são acumuladas nas últimas fases da maturação em sementes ortodoxas e desempenham papel protetor às células no estado seco, contribuindo para a tolerância à dessecação, apesar de seu modo de ação ainda não estar claro (PAMMENTER & BERJAK, 2000).

Sabe-se que sua estrutura é altamente conservada e muito parecida com as deidrinhas, grupo de proteínas produzidas quando tecidos vegetativos sofrem secagem, sendo as deidrinhas consideradas um subgrupo das LEA (DELSENY, et al., 2001). Wise & Tunacliffe (2004) relatam que essas proteínas estão presentes em plantas e microorganismos e sua expressão gênica está relacionada com a tolerância à dessecação.

Ao serem isoladas em solução as proteínas do grupo LEA apresentam forma de bobina, no entanto ao passarem por um processo de secagem (rápido ou lento) estas proteínas assumem uma conformação alfa-helicoidal semelhante à morfologia dos filamentos intermediários do citoesqueleto, conferindo força e resistência às células vegetais além de prevenir uma plasmólise e deformação celular durante a secagem (WISE & TUNACLIFFE, 2004; BERJAK & PAMMENTER, 2007).

Blackman et al. (1991) ressaltam que esse grupo de proteínas possui a habilidade de proteger os componentes intracelulares ao longo do processo de dessecação, assim como alguns açúcares (rafinose, trealose, sacarose e outros oligossacarídeos) encontrados nas sementes. Em trabalho com sementes de soja estes autores demonstraram que conforme ocorre o desenvolvimento dessas sementes há um acúmulo de proteínas do tipo LEA no tecido embrionário, confirmando a hipótese de que este

grupo de proteínas é um dos responsáveis pela aquisição da tolerância à dessecação em sementes que apresentam comportamento ortodoxo.

Por outro lado, acredita-se que as sementes intolerantes à dessecação não apresentam ou, os mecanismos que podem garantir sobrevivência após a secagem são ineficientes (MARCOS FILHO, 2005). No entanto, as proteínas LEA têm se mostrado presentes em algumas espécies que toleram ligeira secagem e resfriamento (PAMMENTER & BERJAK, 2000).

Da Rosa et al. (2005) comprovaram que sementes de milho tolerantes a altas temperaturas de secagem apresentam maior concentração de proteínas LEA em seus tecidos, além da maior atividade da enzima alfa amilase. Porém, apenas a presença das proteínas do grupo LEA não é suficiente para garantir tolerância à dessecação, normalmente estas proteínas agem sinergicamente com a sacarose na formação do estado viscoso da matriz citoplasmática garantindo a estabilidade celular em organismos tolerantes a dessecação (BERJAK & PAMMENTER, 2007).

Neste contexto, cabe acrescentar que a presença ou ausência de proteínas do grupo LEA, não é o único fatores que pode levar a tolerância à dessecação (GEET, et al., 1994; BARBEDO & BILIA, 1998), pois Blackman et al. (1991); Bradford & Chandler (1992); Geet et al. (1994) demonstraram que mesmo sementes intolerantes à dessecação também apresentam tais proteínas sugerindo que a tolerância à dessecação corresponde a um complexo mecanismo o qual envolve um sinergismo entre várias substâncias, dentre elas proteínas, complexos enzimáticos e carboidratos (WALTERS, 2000).

2.2.3 SISTEMAS ANTIOXIDANTES

Segundo Marcos Filho (2005) um dos fatores que levam algumas sementes a não tolerar dessecação seria a ausência ou ineficiência de mecanismos eficientes no combate a espécies reativas do metabolismo do oxigênio (ERMO), também conhecidos como radicais livres.

A produção de espécies reativas do metabolismo do oxigênio é natural em organismos que vivem em meio aeróbico. O oxigênio em espécies eucariontes está diretamente envolvido em processos como a divisão e diferenciação celular além de funcionar como ótimo receptor de elétrons em várias reações que ocorrem nas células (HENDRY, 1993).

Hendry (1993) descreve que as ERMOS podem atacar as membranas celulares e através da peroxidação dos lipídeos a levam a deterioração das mesmas. Em sementes, este fato é evidente se levarmos em consideração que a perda da viabilidade durante a secagem e ou armazenamento é explicado em termos pela deterioração das membranas.

A peroxidação dos lipídeos tem início na presença de radicais livres (ERMOS) os quais são quimicamente instáveis e vão agir próximos a região insaturada dos ácidos graxos. A peroxidação dos ácidos graxos diminui a fluidez, pode inativar as proteínas e receptores das membranas influenciando diretamente na sua permeabilidade e conseqüente morte celular (HENDRY, 1993).

Vários danos celulares causados pela peroxidação de lipídeos durante o processo de secagem das sementes podem ser minimizados pela presença de mecanismos protetores, como a ação das enzimas glutathione redutase, superóxido dismutase, catalase e peroxidase especializadas em remover espécies reativas do metabolismo do oxigênio, também conhecidas como ERMOS (ROSA et al., 2005).

Como descrito anteriormente, mesmo com a formação do estado viscoso da matriz citoplasmática ainda pode ocorrer a formação e acúmulo de radicais livres nas células das sementes, como conseqüência do metabolismo desordenado. Estes radicais livres agem principalmente em sítios da membrana plasmática expostos pela secagem, sendo que a ausência ou a inatividade de mecanismos protetores expõe as células a lesões (MARCOS FILHO, 2005).

Bailly (2004) citado por Berjak & Pammenter (2007) demonstra que durante o desenvolvimento das sementes ocorrem grandes mudanças relacionadas à atividade das enzimas antioxidantes. Sementes de feijão (*Phaseolus vulgare* L.) quando sensíveis a dessecação apresentam elevada atividade de enzimas como a superóxido dismutase e ascórbico peroxidase, enquanto a atividade da catalase e glutathione redutase é reduzida.

Ao tornarem-se tolerantes à dessecação, foi observado que as sementes de feijão apresentam aumento na atividade das enzimas catalase e glutathione redutase ao invés da superóxido dismutase e ascórbico peroxidase, sendo este fato relacionado com a regulação dos genes para a catalase pela perda de água das células vegetais (BERJAK & PAMMENTER, 2007).

Tommasi et al. (1999) ao estudarem o sistema ascorbato em sementes ortodoxas e recalcitrantes verificaram que as sementes recalcitrantes como *Ginkgo biloba* e *Cycas revoluta* por manterem o metabolismo ativo durante a maturação das sementes é inevitável a formação de radicais livres, principalmente o peróxido de hidrogênio

durante esse processo e por esse motivo a atividade dos sistemas antioxidantes permanece elevada. Por outro lado, sementes ortodoxas ao passarem pela secagem a atividade do sistema ascorbato peroxidase decresce gradualmente sendo indetectável em sementes secas.

A enzima ascorbato redutase auxilia a catalase na eliminação do peróxido de hidrogênio formado como consequência do metabolismo desordenado durante a secagem. No caso de sementes ortodoxas de *V. flaba* a atividade dessa enzima é nula, por outro lado foi verificada atividade da enzima DHA redutase, a qual previne o embrião da ação do ácido ascórbico enquanto a atividade do sistema ascorbato redutase é nula, sendo um novo sistema produzido após 6 – 20 horas de germinação tempo também suficiente para o desaparecimento do sistema DHA redutase (TOMMASI et al., 1999).

Enquanto as sementes ortodoxas apresentam outros sistemas antioxidantes para substituir os freqüentemente encontrados antes do processo de secagem, sementes recalcitrantes não apresentam essa habilidade, sendo que a secagem lenta danifica os sistemas enzimáticos de maneira irreversível (TOMMASI et al., 1999).

Como citado anteriormente, os sistemas antioxidantes agem principalmente durante a embebição, etapa em que o metabolismo das sementes quiescentes e tolerantes a dessecação é reativado, no entanto são poucos os trabalhos que buscam investigar a presença e eficácia desses mecanismos em sementes tolerantes e intolerantes a dessecação, porém há comprovação de que eles estão presentes em sementes ortodoxas (PAMMENTER & BERJAK, 2000).

Embora a maioria das espécies recalcitrantes apresentem metabolismo desordenado durante a desidratação levando a formação de radicais livres e consequentes danos oxidativos, devido a suposta ineficiência dos mecanismos antioxidativos, Greggains et al. (2000) ao estudarem a tolerância à dessecação das sementes de *Acer platanoides* e *Acer pseudoplatanoides* verificaram que apesar das sementes de *Acer pseudoplatanoides* apresentarem redução na germinação com a perda de água os mecanismos anti-oxidativos nesta espécie são funcionais e apresentam comportamento semelhante ao encontrado para as sementes de *Acer platanoides* que possui comportamento ortodoxo.

Além da presença e atividade dos mecanismos antioxidantes sementes de *Acer pseudoplatanoides* também reduzem as taxas respiratórias durante o processo de maturação, comportamento típico em sementes ortodoxas. Neste estudo os autores

verificaram que as únicas diferenças entre *Acer pseudoplatonoides* e *Acer platanoides* além do comportamento fisiológico perante a redução da perda de água, está relacionado com os teores de carboidratos e proteínas LEA, onde havia maior concentração destes compostos nas sementes de *Acer platanoides* que apresenta tolerância à dessecação (GREGGAINS et al. 2000).

2.3. SECAGEM DAS SEMENTES

De modo geral, a secagem das sementes é fundamental para a produção de sementes de boa qualidade, pois permite a redução do teor de água para níveis adequados ao armazenamento, permitindo que a semente não sofra danos induzidos pelo excesso de água, mantendo a qualidade inicial do lote (GARCIA et al., 2004; SEIFFERT et al., 2006).

A secagem das sementes é um processo físico que ocorre devido à diferença de potencial hídrico entre a semente e o ar atmosférico. O ar é composto por vários gases e vapor de água as quais contêm ao seu redor uma energia calórica chamada de calor sensível (GARCIA et al., 2004). Quando essa massa de ar está situada sobre a superfície de uma semente verifica-se um gradiente de moléculas de água das sementes para o ar e de calor sensível do ar para as sementes, resultando na perda de água das sementes na forma de vapor devido ao duplo gradiente de massa e energia. Assim, à medida que se adiciona mais energia no meio, mais fácil fica para as moléculas de água se desprender da semente (CARVALHO, 2005).

A secagem das sementes apresenta dois estágios. O primeiro se inicia a partir de qualquer teor de água elevado (acima de 30% de água, com base na massa úmida da semente) e é reduzida até teores de água entre 17 e 16%. Esta fase também é chamada de secagem a taxas constantes, pois a quantidade de água removida durante o processo é sempre a mesma. Após atingir 16% de água as sementes passam por uma fase de secagem variável, sendo uma das características mais marcantes desse processo a dificuldade na remoção da água, demonstrando a existência de forças intermoleculares entre a molécula de água e os compostos celulares (CARVALHO, 2005).

Na prática, quando a camada periférica das sementes permanece seca por muito tempo ela pode sofrer um encolhimento impedindo que ocorra a saída de água das sementes. No entanto, após quatro meses de armazenamento as células do tegumento da semente voltam à sua conformação normal permitindo que a água que estava no interior

migre para a periferia umedecendo o lote de sementes e acelerando o processo de deterioração (CARVALHO, 2005).

Dentre os fatores que podem influenciar o sucesso da secagem de sementes pode-se destacar a temperatura utilizada para a secagem. A temperatura utilizada nesse processo pode provocar alterações na membrana celular, provavelmente por causar alterações nos lipídeos de membrana, além disso, temperaturas elevadas podem desnaturar proteínas. Além dessas alterações primárias, a temperatura de secagem pode refletir em alterações nas mitocôndrias e aumentar a lixiviação de material celular (CAVARIANI, 1996).

Sementes ortodoxas apresentam variação quanto à sensibilidade aos danos térmicos decorrentes da secagem, sendo essa variabilidade influenciada pela espécie, cultivar, teor de água da semente, método de secagem e tempo de exposição (VILLELA & PEREZ, 2004)

Sementes de trigo após a colheita normalmente apresentam teores de água maiores do que o ideal para o armazenamento que são 13% de água, sendo necessário reduzir o teor de água dessas sementes após a colheita. Lotes com teores de água acima de 16% recomendam-se a secagem lenta sendo a temperatura média que as sementes podem atingir durante a secagem é de 60°C para evitar danos fisiológicos ao material (PORTELLA & EICHELBERGE, 2002).

No caso das sementes de arroz (*Oriza sativa*), não se recomenda a utilização de secadores contínuos para a secagem, pois a retirada de grande quantidade de água de uma vez a elevadas temperaturas leva a formação de plântulas anormais e fissuras no tegumento que reduzem a qualidade das sementes durante o armazenamento (FUNGUETTO et al., 2003). Esses danos refletem na qualidade das sementes e na emergência das plântulas em campo (POPININGS, 1985).

A secagem intermitente, na qual a semente passa várias vezes por uma câmara com ar aquecido a elevadas temperaturas, neste caso a 70°C não prejudicou a germinação das sementes de arroz (*Orizza sativa*) além das elevadas temperaturas servirem na superação da dormência destas sementes (FUNGUETTO et al., 2003).

Assim, é importante estabelecer protocolos de secagem adequados visando à redução na velocidade de deterioração e obtenção de sementes com qualidade superior e com teor de água para o armazenamento (VILLELA & PEREZ, 2004; CARVALHO, 2005).

2.4. ARMAZENAMENTO DE SEMENTES

O teor de água das sementes e a tolerância à dessecação estão relacionados com o período de armazenamento suportado pela espécie. Basicamente o objetivo do armazenamento das sementes é manter a qualidade e a viabilidade das sementes durante o tempo que estas ficam armazenadas (VILLELA & PERES, 2004).

A manutenção da qualidade das sementes entre o beneficiamento dos frutos até a semeadura é obtida através do emprego de técnicas adequadas de armazenamento, as quais procuram controlar os principais fatores que afetam o armazenamento das sementes, que correspondem à temperatura e umidade (ROBERTS, 1973; OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo Rathi et al. (2000) a técnica mais adequada para o armazenamento das sementes pode ser feita em câmara seca com temperatura baixa e atmosfera controlada, porém, algumas espécies apresentam exigências de armazenamento diferentes daquelas que empregam baixa temperatura e umidade (SCALON et al., 2004).

Para algumas espécies como *Dovyalis caffra* o ambiente de armazenamento é indiferente para a manutenção da viabilidade do lote de sementes, sendo significativo apenas o tempo em que as sementes permanecem armazenadas (OLIVEIRA et al., 2006). Diferente das sementes de *Dovyalis caffra* e sementes de uvaia (*Eugenia uvalha*) que apresentam maior porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência de plântulas ao serem armazenadas em geladeira (13°C) quando comparado com o armazenamento em ambiente (30°C) (SCALON et al., 2004).

Além do ambiente e o tempo que as sementes são armazenadas, o teor de água que elas se encontram também pode interferir na viabilidade do material durante o armazenamento (ROSA, 2004). Sementes armazenadas com teores de água elevados (acima de 15%) sofrem danos maiores durante o armazenamento do que aquelas que passaram por uma secagem prévia (CARVALHO, 2005).

Segundo Villela & Perez (2004) sementes que toleram secagem até níveis entre 5% e 7% de água podem ser armazenadas a baixas temperaturas, pois podem resistir a condições de adversidades durante o período de latência sendo que ao serem expostas a condições de temperatura e umidade adequadas retomam seu desenvolvimento e completam o processo de germinação.

Durante o armazenamento das sementes ocorrem alterações que resultam na deterioração das sementes, como o esgotamento das reservas destinadas a fornecer energia para o crescimento do embrião (VILLELA & PERES, 2004). Este fato foi

observado por Veiga et al. (2007) em trabalhos com sementes de café (*Coffea arabica* L.), que foi possível observar maior atividade da enzima endo beta mananase durante o armazenamento dessas sementes.

A enzima endo beta mananase está relacionada com a degradação de reservas de parede celular para o fornecimento de energia durante a germinação das sementes de cafeeiro. Dessa forma, com a elevada atividade de enzimas relacionadas com a mobilização de substâncias pode levar ao esgotamento das reservas das sementes e conseqüente perda do material vegetal (VEIGA et al., 2007; VERTUCI & ROOS, 1993).

Sabe-se que as sementes de espécies da família Annonaceae apresentam dificuldades para germinar devido a imaturidade do embrião. No entanto, Bernardes et al. (2007) verificaram que o armazenamento das sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.) em sacos de papel, reduz significativamente a porcentagem de germinação dessas sementes, sendo este parâmetro quase nulo após um ano de armazenamento.

Segundo Machado & Parente (1986) as sementes de anonáceas devem permanecer em meio úmido após a extração dos frutos, caso contrário a viabilidade das sementes pode ser reduzida, influenciando na porcentagem final de germinação.

A taxa de atividade celular durante o armazenamento das sementes varia em função do teor de água, pois a energia livre da água descreve a tendência para que uma reação química ocorra em determinada temperatura (VERTUCI & ROOS, 1993).

Sementes que toleram a secagem, seja ela natural o artificial, podem ser armazenadas por longos períodos sem maiores problemas de perda de viabilidade, no entanto, aquelas que não suportam a retirada de água de suas células, requerem alternativas de armazenamento para a manutenção da viabilidade (HONG & ELLIS, 2003).

O tipo de embalagem escolhida para o armazenamento das sementes é um dos fatores que pode influenciar a viabilidade do material vegetal. As embalagens podem ser abertas ou fechadas, permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis (ROSA, 2004).

No caso do armazenamento de sementes sensíveis à dessecação é comum a utilização de embalagens que evitem as trocas gasosas entre as sementes e o meio em que estas estão armazenadas. Porém, mesmo com a redução das trocas gasosas, outros problemas como o aumento da proliferação de microorganismos, podem surgir durante o armazenamento do material (HONG & ELLIS, 2003).

2.5. REPOUSO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS

Uma forma de minimizar os efeitos da dormência embrionária em sementes é o repouso pós-colheita dos frutos. Neste procedimento os frutos são armazenados em condições adequadas que irão permitir o término do desenvolvimento das sementes garantindo maior qualidade fisiológica (SILVA et al., 2009). Porém, se o tempo de armazenamento pós-colheita for maior do que o necessário o processo de deterioração leva a redução na qualidade fisiológica das sementes (BARBEDO et al., 1998; VIDIGAL et al., 2006).

Dias (2001) e Silva et al. (2009) relatam que sementes mantidas nos frutos após a colheita podem ser favorecidas por um período de repouso, que permite a conclusão do processo de maturação. Neste caso, sementes imaturas presentes no fruto mesmo desligado da planta mãe completam seu desenvolvimento resultando em aumento do potencial germinativo da espécie e superação da dormência.

Segundo Aroucha (2004) sementes de mamão apresentam altos níveis de ABA em relação aos níveis de giberelinas, quando recém formadas, sendo verificado que o repouso pós-colheita desses frutos por 12 dias a 25°C favorece a germinação das sementes dessa espécie.

Espécies de frutos carnosos, têm sido bons exemplos dos benefícios do repouso pós-colheita quando se procura melhorar o rendimento das sementes, pois este processo reduz os riscos no campo além de proporcionar superação da dormência como ocorre nas sementes de mamão, que quando recém extraídas possuem germinação por volta de 45% (MARTINS et al., 2006) e após armazenamento dos frutos a 25°C por 12 dias aumentam o seu potencial germinativo (AROUCHA, et al., 2004).

O tempo e as condições de permanência dos frutos no repouso pós-colheita variam com a espécie (SILVA et al., 2009). Martins et al. (2006) verificaram que armazenar sementes de mamão à 10°C aumentam a germinação dessa espécie de 45% (germinação inicial) para 86%, concluindo que a baixa temperatura pode ter contribuído para a superação da dormência dessas sementes.

O efeito positivo do armazenamento dos frutos à baixa temperatura na germinação das sementes que apresentam dormência pode estar relacionado com modificações internas no balanço entre promotores e inibidores da germinação (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). As sementes mantidas no interior dos frutos permanecem com umidade elevada e com a temperatura baixa, e neste caso o que pode

ocorrer é uma alteração no balanço hormonal das sementes com aumento de promotores da germinação (CUQUEL, 1994).

O aumento na germinação das sementes mantidas em repouso pós-colheita também pode estar relacionado com o incremento na massa seca das mesmas. No entanto, Vidigal et al. (2006) verificaram que sementes de tomate quando mantidas nos frutos em repouso pós-colheita reduzem o conteúdo de matéria seca, sendo os maiores valores encontrados para as sementes que não passaram pelo armazenamento.

Assim, vale ressaltar que apesar de permitir o término do desenvolvimento das sementes, deve ser respeitado um tempo mínimo de repouso pós-colheita dos frutos, pois quanto maior o período de armazenamento dos frutos, menor será a qualidade fisiológica das sementes (BARBEDO et al., 1999; COSTA et al., 2006).

3 Capítulo 1

NÍVEIS DE TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO, REGULADORES VEGETAIS E AÇÚCARES SOLÚVEIS EM SEMENTES DE *Annona emarginata* (SCHLDTL.) H. RAINER¹

¹ Artigo nas normas da Revista Seed Science Research

NÍVEIS DE TOLERÂNCIA A DESSECAÇÃO, REGULADORES VEGETAIS E AÇÚCARES SOLÚVEIS EM SEMENTES DE *Annona emarginata* (SCHLDTL.)

H. RAINER*

Jaqueline Malagutti Corsato²; Gisela Ferreira³; Claudio Jose Barbedo⁴

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar a tolerância à dessecação de sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer), os açúcares envolvidos no processo e o efeito de GA₄₊₇+N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação das sementes submetidas aos níveis de secagem. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x5 (níveis de secagem x concentrações dos reguladores). As sementes foram secas em estufa de circulação forçada de ar (50°C) obtendo-se níveis de água de: 31% testemunha, 19%, 12% e 5%. Após secagem, as sementes foram embebidas em GA₄₊₇+N-(fenilmetil)-aminopurina (0, 250, 500, 750 e 1000 mg L⁻¹) por 60 horas. O experimento foi mantido em câmara de germinação, com temperatura alternada (20°C por 18 horas de escuro e 30°C por seis horas de claro). As variáveis analisadas foram condutividade elétrica, porcentagem, tempo médio, índice de velocidade, frequência e sincronização da germinação, porcentagem de sementes dormentes, análise quantitativa dos açúcares solúveis e redutores totais e perfil dos açúcares por HPLC. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados permitiram concluir que as sementes de *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer toleram a secagem até níveis de 12% de água e que a sacarose é o principal açúcar envolvido nesse processo. Porém é necessário o uso de GA₄₊₇+N-(fenilmetil)-aminopurina pra superação da dormência, sendo que quanto maior o nível de secagem, maior a concentração do regulador a ser empregada.

Palavras-chaves: Araticum-de-terra-fria, secagem, giberelinas, citocininas, sacarose.

² Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, SP. email: jaque_corsato@hotmail.com

³ Prof^a Dr^a do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, SP.

⁴ Prof. Dr. Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, SP.

*Parte Integrante da Dissertação do Primeiro Autor.

**LEVELS OF TOLERANCE TO DESICCATION, PLANT GROWTH
REGULATORS AND SOLUBLE SUGARS IN *Annona emarginata* (SCHLDTL.)
H. RAINER SEEDS**

Jaqueline Malagutti Corsato²; Gisela Ferreira³; Claudio Jose Barbedo⁴

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the tolerance to desiccation of “araticum-de-terra-fria” (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) seeds, the sugars involved in this process, and the effect of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine on the germination of seeds subjected to different desiccation levels. Experimental design was completely randomized, in 5x5 factorial arrangement (desiccation levels x concentrations of plant growth regulators). Seeds were drought in a forced aeration oven (50°C) and the following water levels were obtained: 31% control, 19%, 12%, and 5%. After desiccation, seeds were immersed in GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine (0, 250, 500, 750, and 1000 mg L⁻¹) for 60h. The experiment was kept in a germination chamber, at alternate temperature (20°C for 18h dark and 30°C for 6h light). The evaluated variables were electrical conductivity; germination percentage, mean time, speed index, frequency and synchronization; percentage of dormant seeds; quantitative analysis of total and reducing soluble sugars; and sugar profile by using HPLC. The results were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey’s test at 5% significance. *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer seeds tolerated desiccation until the level of 12% water, and sucrose is the main sugar involved in this process. However, the use of GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine is needed to break dormancy; the higher the desiccation level, the higher the concentration of this regulator to be adopted.

Keywords: “Araticum-de-terra-fria”, desiccation, gibberellins, cytokinins, sucrose.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer, sinóníma da espécie *Rollinia* sp. (Rainer, 2007), popularmente conhecida como araticum-de-terra-fria é nativa do território brasileiro e sua elevada importância está relacionada com sua rusticidade, o que justifica seu uso em programas de melhoramento genético e como porta-enxerto para espécies da família Annonaceae. Quando utilizada como porta-enxerto para atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.) e cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), proporciona maior compatibilidade entre enxerto e porta-enxerto, vigor à copa e resistência a fungos, podridão de raízes e brocas que atacam o colo das plantas (Kavati et al., 1997; Bonaventure, 1999; Tokunaga, 2000). Além disso, a planta comporta-se bem em solos secos, tem resistência a solos úmidos e adaptação em locais situados a 950m acima do nível do mar (Tokunaga, 2000).

De modo geral a família Annonaceae apresenta sementes com dormência embrionária, o que resulta em germinação lenta e desuniforme (Rizzini, 1973). Pawshe et al. (1997) e Smet et al. (1999) sugerem ainda que a germinação é afetada pela presença de ácido abscísico no embrião, impermeabilidade e resistência do tegumento.

Assim, estes relatos sustentam os trabalhos com reguladores em anonáceas (Ferreira et al., 2002; Stenzel et al., 2003). Porém quanto a impermeabilidade das sementes, Costa (2009) e Ferreira et al., (2006) verificaram que sementes de araticum-de-terra-fria e de atemóia respectivamente não apresentam impermeabilidade do tegumento, embora a entrada de água nas sementes seja lenta.

Além da dormência embrionária há relatos de que anonáceas como a *Annona crassiflora* Mart., não permitem armazenamento por longos períodos, sendo necessário que a semeadura seja realizada logo após a extração dos frutos (Bernardes et al., 2007) concentrando a produção de mudas em um único período do ano. Por outro lado, Carvalho et al. (2001) relatam que sementes de *Annona glabra* L. suportam redução no teor de água e congelamento, com germinação elevada após 365 dias de armazenamento.

As sementes que toleram redução no conteúdo de água a partir da segunda metade do período de acúmulo de matéria seca e depois de maduras permitem armazenamento por um longo período são consideradas como ortodoxas (tolerantes a dessecação) e aquelas intolerantes à retirada de água são chamadas de recalcitrantes (Roberts, 1973; Barbedo et al., 2002; Marcos Filho, 2005).

Para que uma semente possa tolerar a retirada de água durante a fase final de sua maturação são necessários alguns pré-requisitos que irão agir conjuntamente na proteção às proteínas, enzimas, membranas, redução do movimento de moléculas no interior das células, sistemas de proteção ao ataque de radicais livres, redução das atividades metabólicas e reparo dessas mesmas atividades durante o processo de embebição (Moore et al., 2009). Dessa forma é possível afirmar que a aquisição da tolerância à dessecação corresponde a um complexo mecanismo que envolve um sinergismo entre várias substâncias, dentre elas os carboidratos (Walters, 2000).

Os carboidratos solúveis são importantes componentes envolvidos na tolerância à dessecação. Estes compostos apresentam característica hidrofílica e durante a perda de água pela semente agem como moléculas osmoprotetoras, substituindo a água e evitando que ocorram danos à membrana durante a embebição (Koster & Leopold, 1988; Pammenter & Berjak, 2000).

A sacarose é um dos principais carboidratos encontrados em sementes maduras e pode atuar como substrato para reações metabólicas ou ter efeito protetor sobre as membranas celulares quando em elevadas concentrações (Uemura & Steponkus, 2003). Outros açúcares relacionados à tolerância à dessecação são a rafinose e a estaquiose, os quais também podem ser acumulados em algumas sementes durante o desenvolvimento e em resposta à dessecação (Peterbauer & Richter, 2001).

Quanto ao araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) Tokunaga (2000) sugere que a semeadura seja feita logo após a extração das sementes, devido à baixa porcentagem de germinação observada após armazenamento, porém tais informações foram obtidas na prática e não a partir de metodologia científica.

Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a tolerância à dessecação de sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer), os açúcares envolvidos no processo e o efeito de GA₄₊₇+N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação das sementes submetidas aos níveis de secagem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer (araticum-de-terra-fria) foram obtidos de 20 matrizes localizadas no Viveiro de Mudas da CATI (Coordenadoria de Assistência Técnica Integral) no município de São Bento do Sapucaí, SP e exsiccadas da espécie estão depositadas no herbário BOTU da UNESP de Botucatu, SP.

Após a coleta, os frutos maduros (casca de coloração verde e sementes com tegumento apresentando coloração marrom escuro) foram mantidos em sacos de polietileno escuro à temperatura ambiente para que ocorresse o processo de fermentação e posteriormente foram despulpados manualmente com o auxílio de peneira e água corrente. Para evitar contaminação, as sementes passaram por processo de assepsia com solução fungicida (N-triclorometiltio-4-ciclohexano-1,2-dicarboximida - Captan[®]) a 2% por dez minutos e solução bactericida (cloridrato de oxitetraciclina - Terramicina[®]) a 2% por vinte minutos.

2.1. Análise Histoquímica

As sementes de araticum-de-terra-fria foram submetidas à análise histoquímica para determinação dos tipos de reserva. A metodologia utilizada para identificação de amido foi o teste do Lugol (Johansen, 1940), proteína através da metodologia Azul de Bromofenol (Mazia et al., 1953) e lipídio pelo teste de Sudan (Johansen, 1940).

2.2. Tolerância à dessecação

Após beneficiamento dos frutos, lavagem das sementes em água corrente e leve secagem do tegumento externo o teor de água foi determinado pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, sendo os resultados expressos em porcentagem com base no peso úmido das sementes (Brasil, 2009).

As sementes recém extraídas passaram por processo de secagem em estufa de circulação forçada de ar a 50°C durante os períodos de 4, 8, 12, 16, 20, 24, 32, 40 e 48 horas para caracterização da curva de secagem da espécie e obtenção dos diferentes níveis de secagem 31% (testemunha), 19%, 12% e 5%.

Após obtenção dos níveis de secagem desejados as sementes foram colocadas para embeber em solução contendo $\text{GA}_{4+7}+\text{N}-(\text{fenilmetil})\text{-aminopurina}$ ($\text{GA}_{4+7}+\text{CK}$) nas concentrações de 0 (testemunha), 250, 500, 750 e 1000 mg L^{-1} por 60 horas sob aeração constante (Costa, 2009).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes por parcela, em esquema fatorial (4x5), sendo os 20 tratamentos constituídos pela combinação entre os níveis de secagem (31%, 19%, 12% e 5%) e as concentrações de $\text{GA}_{4+7}+\text{CK}$ (0, 250, 500, 750 e 1000 mg L^{-1}). Após embebição as sementes foram acondicionadas em rolos de papel ‘Germitest’ umedecidos com água destilada na proporção de duas vezes e meia o seu peso seco

(Brasil, 2009). O experimento foi mantido em câmara de germinação, com temperatura alternada de 20°C durante 18 horas de escuro e 30°C por seis horas de claro (Costa, 2009).

As avaliações foram constituídas de contagem diária do número de sementes germinadas, sendo considerada como germinada aquela que apresentou pelo menos dois milímetros de raiz primária (Hadas, 1976). Após o encerramento do experimento (40 dias), foram calculados porcentagem, tempo médio, índice de velocidade, frequência e sincronização da germinação (Laboriau, 1983; Laboriau & Agudo, 1987; Silva & Nakagawa, 1995).

Após 40 dias de contagem da germinação, realizou-se o teste do Tetrazólio seguindo metodologia descrita pela RAS (Regra de Análises de Sementes), a fim de determinar a porcentagem de sementes dormentes (Brasil, 2009).

Outra variável analisada foi à condutividade elétrica, empregando-se o método de massa, com delineamento experimental inteiramente casualizado com os tratamentos constituídos pelos níveis de secagem (31%, 19%, 12% e 5%) cada um com quatro repetições de 25 sementes por parcela, que foram pesadas, colocadas para embeber em 100 mL de água deionizada em copos plásticos de 200 mL, mantidos em câmara de germinação a 25°C por 24 horas (Brasil, 2009). A leitura foi realizada gradativamente após a retirada do material da incubadora com o auxílio de um condutivímetro de bancada, agitando-se cuidadosamente cada recipiente com o intuito de uniformizar os eletrólitos lixiviados na solução (Vieira & Krzyzanowski, 1999 citado por Vieira & Dutra, 2006).

2.3. Análise de açúcares solúveis totais e redutores totais

Após a obtenção dos diferentes teores de água (31%, 19%, 12% e 5%) as amostras para análise de açúcares, foram acondicionadas em sacos de polietileno, envoltas por papel alumínio e congelado em nitrogênio líquido. Após congelamento, as amostras foram armazenadas em ultra-freezer (-80°C) até o momento da realização das análises.

Para a extração dos açúcares solúveis totais, foram utilizadas 100 mg de sementes de araticum-de-terra-fria, as amostras moídas foram extraídas por fervura em água destilada resultando na fração de açúcares solúveis totais sendo o volume ajustado com água destilada. A quantificação foi realizada através da análise colorimétrica utilizando-se o método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956).

Os açúcares redutores totais foram determinados pelo método de Somogy (1945) e Nelson (1944). Para a extração foram utilizados 500 mg do material vegetal, o qual foi extraído em água destilada resultando na fração de açúcares redutores totais. A quantificação foi realizada através de análise calorimétrica utilizando o comprimento de onda de 500nm.

Para a inativação e extração das amostras submetidas à separação de carboidratos pelo método da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi adicionado etanol a 70% em 100 mg de amostra e em seguida o material foi submetido a extração por fervura tripla em etanol por 5 minutos (Durda et al., 2007).

Os extratos foram centrifugados a 3000 giros a 20°C por dez minutos e em seguida filtrados. Da combinação dos três extratos alcoólicos foi obtida a proporção correspondente a fração de açúcares solúveis. Os extratos foram submetidos à leitura em HPLC para a determinação do perfil de carboidratos solúveis, sendo possível a identificação de açúcares como rafinose, sacarose, estaquiose, glicose, frutose e ciclitóis (Garcia et al., 2006).

2.4. Análise estatística

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

3. RESULTADOS

Os testes histoquímicos demonstraram que as sementes de araticum-de-terra-fria armazenam nas células do endosperma lipídeos e proteínas, sendo encontrados apenas traços de amido (figura 1).

O teor de água das sementes recém extraídas foi de 31%. Pode-se observar que a perda de água foi progressiva durante a secagem, estabilizando-se após 16 horas quando foi atingido o teor de água de 5% (figura 2).

A redução no teor de água de 31% para 19% não afetou a germinação das sementes, que variou de 57,5% a 57,5%, enquanto com a redução do teor de água para 5% a germinação foi significativamente reduzida para 35%. Quando empregado GA₄₊₇+CK verificou-se que nas sementes com teores de água de 31% e 19% as maiores porcentagens de germinação foram observadas quando empregou-se 250 mg L⁻¹ e 500 mg L⁻¹ dos reguladores obtendo-se 70,5% de germinação para as sementes com 31% de água em ambas concentrações e 61% e 68% de germinação quando as sementes

apresentaram 19% de água em cada concentração respectivamente. Ao reduzir o teor de água das sementes para 12% a maior porcentagem de germinação (70%) passa a ser para as sementes embebidas em 750 mg L⁻¹ de GA₄₊₇+CK (tabela 1).

As sementes de araticum-de-terra-fria secas à 5% de água além de apresentarem germinação menor se comparada com os outros níveis de secagem, não responderam às concentrações dos reguladores vegetais (tabela 1).

Além de aumentar a porcentagem de germinação os reguladores vegetais reduziram o tempo médio de germinação e incrementaram o índice de velocidade de germinação das sementes com os diferentes teores de água antecipando a germinação (tabela 1). Apesar de ter sido verificado que com 5% de água as sementes de araticum-de-terra-fria apresentam menor tempo médio de germinação (22 dias) quando comparado com os demais teores de água das sementes embebidas apenas em água, vale ressaltar que este tratamento apresentou germinação de apenas 35% (tabelas 1).

Os maiores valores para o índice de velocidade de germinação foram observados com 31% de água e 750 mg L⁻¹ dos reguladores, enquanto com 19% de água os maiores valores foram obtidos com 250 mg L⁻¹ e 750 mg L⁻¹. Com a redução da água para 12% verificou-se que o aumento na concentração dos reguladores resultou em aumento na velocidade de germinação, apesar de não ser reflexo do que ocorreu com a porcentagem de germinação. Desta forma, como demonstrado até o momento, quanto menor o teor de água maior a concentração de reguladores necessária para incrementar as variáveis estudadas (tabela 1).

Pelos valores encontrados para a condutividade elétrica, foi observado que em nenhum dos níveis de secagem a perda de material celular foi maior do que as sementes sem dessecação (tabela 2). O que ocorreu foi redução na quantidade de material lixiviado quando o teor de água foi reduzido de 31% para 19% demonstrando efeito de mecanismos de proteção das sementes quanto à tolerância à dessecação, uma vez que a germinação não foi afetada.

Os resultados para o índice de sincronização (U) demonstram que a aplicação de diferentes concentrações dos reguladores vegetais não foi suficiente para sincronizar a germinação (tabela 3), resultando em polígonos de frequência polimodais (figuras 3, 4, 5 e 6).

Porém, comparando-se os teores de água, verifica-se que embora não tenha sincronizado a germinação, a redução nos teores de água deslocou a curva para a esquerda, o que significa antecipação do início da germinação. Assim, quanto menor foi

o teor de água das sementes, mais rápido foi o início da germinação das sementes sem a aplicação de reguladores vegetais, com a porcentagem, tempo médio e índice de velocidade de germinação, semelhantes entre os teores de água de 31%, 19% e 12% (figuras 3a, 4a, 5a e 6a).

Com o uso de 500 mg L^{-1} de $\text{GA}_{4+7}+\text{CK}$, além das sementes com teores de água de 31% apresentarem elevada porcentagem e velocidade de germinação, deslocou a curva da frequência de germinação, que foi deslocada para a esquerda, demonstrando antecipação da germinação. Para as sementes com 19% de água, apesar das concentrações de 250 mg L^{-1} e 750 mg L^{-1} aumentarem a germinação, ela ocorreu de modo polimodal.

Ao final do teste de germinação as sementes que não germinaram foram submetidas ao teste de Tetrazólio. Observou-se que as maiores porcentagens de sementes dormentes (tabela 3) foram encontradas naquelas que apresentavam 12% de água e embebidas em água destilada (11,5%) e aquelas com 5% de água, embebidas em 250 mg L^{-1} de $\text{GA}_{4+7} + \text{CK}$ (18,5%).

Os resultados das análises de açúcares solúveis totais (figura 7) mostraram que não há diferença no conteúdo desses açúcares à medida que as sementes passaram pelo processo de secagem. Porém, em análise mais detalhada do perfil dos açúcares solúveis (figura 8), verifica-se que há variação no conteúdo dos diferentes açúcares, o que em média pode ter mascarado os resultados dos açúcares solúveis totais (figura 7). Em contrapartida a quantidade de açúcares redutores totais (figura 7) foi reduzida em sementes com 5% de água.

Os níveis de glicose estavam em torno de 61% quando as sementes apresentavam 31% de água. O conteúdo de glicose reduziu com a secagem até 5%. Já os níveis de sacarose quando as sementes estavam com o teor de água inicial (31%) era baixo (11,58%), com a secagem houve concentração da sacarose, sendo encontrado 42% deste açúcar para as sementes com 5% de água (figura 8).

O conteúdo de frutose foi de 20% nas sementes com 31% de água e reduziu para 11,84%, 14,02% e 13,97% nas sementes com 19%, 12% e 5% de água respectivamente (figura 8). Também foi identificado mioinositol (classe dos ciclitóis) em baixas porcentagens (em torno de 5%) nas sementes.

Em todos os teores de água, a quantidade de rafinose e estaquiose foi pequena e não estão demonstradas no gráfico (figura 8). Apesar de pequenas as concentrações de

rafinose, foram detectadas (0,04%) para as sementes com 31% de água e 0,02% e 0,03% nas sementes com 19% e 12% de água respectivamente.

4. DISCUSSÃO

A estabilização da perda de água nas sementes após 16h de secagem ocorreu devido às forças intermoleculares que atuam por adsorção entre as moléculas de água e as macromoléculas, dificultando a eliminação da água das sementes (Carvalho, 2005).

Além disso, o tipo de reserva das sementes está diretamente relacionado com a velocidade na perda de água, pois as sementes que possuem amido como reserva, apresentam maior teor de água de equilíbrio do que as ricas em lipídeos, devido ao fato dos carboidratos apresentarem mais afinidade higroscópica do que os lipídeos. Enquanto as sementes que apresentam proteínas como reserva apresentam maior teor de água de equilíbrio, pois estas correspondem a compostos mais higroscópicos que os carboidratos e lipídeos (Vilela & Perez, 2004). Isto explica o comportamento das sementes de araticum quanto à perda de água, uma vez que os testes histoquímicos do tecido endospermático das sementes de araticum-de-terra-fria demonstraram que há grande quantidade de lipídeos como reserva nessas sementes.

Cabe acrescentar que, pelo fato da segunda fase da secagem (após 16h) ser mais lenta se comparada com a primeira (das 0h até as 16h) o tegumento das sementes permanece por um longo período desidratado e exposto aos elementos de secagem, resultando em um brusco encolhimento dos tecidos dessa camada, a ponto de ficarem totalmente compactos impedindo que a água saia da semente (Carvalho, 2005), o que auxiliou na manutenção dos 5% de água.

O teor de água das sementes recém extraídas dos frutos de araticum-de-terra-fria (31%) situa-se na faixa de água classificada como tipo III e corresponde ao teor de água com propriedades solventes e que se associa a sítios hidrofóbicos das macromoléculas além de permitir algumas atividades metabólicas (Roberts & Ellis, 1989; Marcos Filho, 2005).

Deste modo, sementes que apresentam teores de água por volta de 30%, por permitirem a ocorrência de atividades metabólicas, não são adequadas para o armazenamento por longos períodos. Um dos problemas seria a rápida deteriorização do material vegetal e a perda de viabilidade (Roberts & Ellis, 1989; Pamenter & Berjak, 2000). Neste contexto, o ideal é secar as sementes com a finalidade de manter a viabilidade do lote por maior tempo durante o armazenamento (Carvalho, 2005).

Quanto às sementes de araticum-de-terra-fria, Tokunaga (2000) relata que devem ser semeadas assim que extraídas do fruto, pois se armazenadas elas perdem rapidamente a viabilidade. Porém, neste experimento, foi possível verificar que as sementes de araticum-de-terra-fria toleram secagem até 12% de água e mesmo com a redução da germinação para 35% quando com teor de água de 5% estas sementes demonstraram algum nível de tolerância à dessecação (Walters, 2000). Assim, há possibilidade de retirar uma quantia considerável de água dessas sementes sem que o potencial germinativo seja totalmente perdido.

Carvalho et al. (2001) mostraram que sementes de *Annona glabra* L. suportam o dessecação e congelamento, apresentando comportamento típico de sementes ortodoxas. Os autores verificaram 90% de germinação para as sementes independente do teor de água que apresentavam, porém a germinação continuou lenta e desuniforme.

O fato das sementes de araticum terem tolerado a dessecação está relacionado com algum mecanismo de proteção às membranas, uma vez que se sabe que a retirada de água das células causa vários danos devido ao metabolismo desordenado durante a secagem o que pode minimizar ou inviabilizar a ocorrência da germinação (Pammenter & Berjak, 2000; Walters, 2000; Berjak & Pammenter, 2007).

Uma das formas de verificar os danos celulares causados pela secagem é através da condutividade elétrica, que consiste em medir os eletrólitos liberados pelas sementes na água durante a embebição, sendo os resultados diretamente proporcionais ao grau de desorganização das membranas (Costa & Carvalho, 2006). Assim, observa-se que a secagem das sementes de araticum-de-terra-fria não danificou significativamente o sistema de membranas pois, segundo Montovineli (2001) valores elevados para a condutividade elétrica significa que o processo de deterioração das sementes está avançado, diferindo dos resultados encontrados neste experimento.

Diversos estudos têm sido realizados para identificar mecanismos de proteção às membranas, que são complexos e envolvem sinergismo entre várias substâncias, dentre elas proteínas, complexos enzimáticos e carboidratos, que irão garantir a sobrevivência das sementes quando desidratadas (Walters, 2000; Berjak, 2006).

No caso das sementes de araticum-de-terra-fria, foi possível verificar que a secagem aumentou os níveis de sacarose nas sementes (figura 8). Dessa forma, conforme proposto por Koster & Leopold (1988) e Delseny et al. (2001), a sacarose pode ter atuado como molécula osmoprotetora, substituindo a água e evitando danos à membrana durante a embebição, uma vez que em nenhum dos níveis de secagem a

quantidade de material lixiviado foi maior do que para as sementes sem dessecação (tabela 2).

Além disso, vale ressaltar que a sacarose é um dos açúcares solúveis envolvidos na tolerância à dessecação e na formação do estado viscoso sendo capaz de atenuar a atividade de espécies reativas do metabolismo do oxigênio e assim auxiliar na tolerância a dessecação (Pammenter & Berjak, 2000; Darosa, et al., 2005), conforme observado nas sementes de araticum-de-terra-fria. Porém, embora a sacarose seja um açúcar abundante em sementes tolerantes a dessecação e seu conteúdo aumente em resposta a secagem dos tecidos (Iling et al., 2005) como ocorreu com as sementes de araticum-de-terra-fria (figura 8), salienta-se que quando a redução no teor de água nas sementes atingiu 5%, a germinação foi reduzida. Neste caso, como não foram observados danos à membrana (tabela 2) a redução da porcentagem de germinação pode estar relacionada com outros fatores como o balanço hormonal e sensibilidade à elevada temperatura de secagem.

As sementes de araticum-de-terra-fria quando embebidas apenas em água apresentaram baixa porcentagem de germinação, acompanhada de elevado tempo médio e baixo índice de velocidade de germinação. As anonáceas de modo geral apresentam problemas de germinação devido à presença de embrião rudimentar e dormência classificada como morfofisiológica (Mello, 2006).

Os embriões de anonáceas apesar de rudimentares, apresentam diferenciação entre o eixo embrionário e cotilédones, no entanto o embrião ainda precisa terminar seu desenvolvimento para que ocorra a germinação (Silva et al., 2007). Rizzini (1973) e Silva et al. (2007) ressaltam que a germinação de espécies Annonaceae é lenta e desuniforme, característica também observada nas sementes de araticum-de-terra-fria, pois não foi observada sincronização da germinação ao longo do tempo.

A aplicação de reguladores vegetais é uma maneira de minimizar o tempo necessário para que ocorra a germinação de sementes que necessitam completar seu desenvolvimento embrionário (Zaidan & Barbedo, 2004). Para a maioria dos teores de água, exceto quando as sementes de araticum-de-terra-fria estavam com 5% de água, a aplicação de reguladores vegetais foi satisfatória no incremento da porcentagem de germinação além de reduzir o tempo necessário para que ela ocorresse.

A giberelina é um promotor da germinação que, quando em maior concentração que os inibidores, a germinação ocorre (Taiz & Zeiger, 2009). Este hormônio apresenta receptores nas células das sementes e desencadeia a expressão de genes relacionados

com a síntese de hidrolases que irão agir na degradação das reservas do endosperma. Esta degradação das reservas libera compostos mais simples que podem ser utilizados como fonte energética para o crescimento do embrião (Borghetti, 2004).

A citocinina também auxilia na superação da dormência e induzir a germinação junto às giberelinas, através da regulação do ciclo celular, o qual corresponde ao processo central de crescimento e desenvolvimento vegetal (Taiz & Zeiger, 2009). Assim, a aplicação exógena de giberelinas e citocininas nas sementes de araticum-de-terra-fria permitiu que o desenvolvimento do embrião fosse completado com conseqüente incremento na germinação.

Neste contexto, pesquisas têm sido desenvolvidas ao longo do tempo com o uso de reguladores vegetais com o propósito de superar a dormência e melhorar a germinação de espécies usadas para copa e porta-enxerto. Dentre os trabalhos relata-se o de Campbell e Popenoe (1968) que obtiveram 77% de germinação com uso de 350 mg L⁻¹ de GA₃ em sementes de *Annona diversifolia* Saff. e o de Jubes et al. (1975) que observaram 77,32 % de germinação empregando-se 500 mg L⁻¹ de GA₃ em sementes de *Annona cherimola* Mill. Outros trabalhos foram realizados com sementes de *Annona muricata* (Pinto, 1976), de *A. esquamosa* L. (Pawshe et al. , 1997; Ferreira et al., 2002; Stenzel et al., 2003), de *A. reticulata* (Valezuela & Osório, 1998), de *A. cherimola* Mill. (Smet et al., 1999) e de *A. crassiflora* Mart. (Silva et al., 2007).

Dessa forma, verificou-se que para que ocorra a germinação é necessário um balanço entre hormônios promotores e inibidores, sendo necessária a produção de giberelinas durante a embebição ou adição exógena de promotores para que as sementes germinem (Taiz & Zeiger, 2009), conforme observado com as sementes do gênero *Annona* e com o araticum-de-terra-fria, havendo concentrações adequadas para cada espécie, que neste caso foi de 250 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ +CK. Porém, com a secagem das sementes, o teor de ABA pode ter sido aumentado, uma vez que é produzido em resposta a tolerância à dessecação, regulado por vários genes que levam ao acúmulo de açúcares solúveis, principalmente da sacarose nas células vegetais durante a perda de água (Wang et al., 2002).

Como nas sementes de araticum-de-terra-fria houve aumento nos níveis de sacarose à medida que as sementes foram secas e, como o ácido abscísico é um dos responsáveis pelo acúmulo desse açúcar em células mediante a perda de água (Leung & Giraudat, 1998), pode-se correlacionar o aumento nos níveis de sacarose com um aumento nos níveis desse hormônio durante a secagem dessas sementes. Assim, ao

secar as sementes, maior a concentração de ABA e de sacarose, no entanto, este hormônio possui um efeito antagônico à germinação e com o aumento dos seus níveis a germinação não ocorre (Taiz & Zeiger, 2009).

Assim, justifica-se a necessidade de maiores concentrações de GA₄₊₇ +CK para manter o balanço favorável da germinação à medida que as sementes eram secas (tabela 1). Porém, quando as sementes atingiram 5% de água, as concentrações de GA₄₊₇ +CK empregados não foram suficientes para promover a germinação.

Um fator que justifica a baixa porcentagem de germinação das sementes quando estavam com 5% de água é a sensibilidade a secagem a elevadas temperaturas (50°C), pois segundo José (2006) a secagem artificial reduz significativamente a qualidade fisiológica das sementes, principalmente quando estas são colhidas com elevado teor de água. Assim, como houve pouca variação entre os níveis de sacarose para as sementes de araticum-de-terra-fria com 19%, 12% e 5% de água, não convêm correlacionar a baixa porcentagem de germinação somente com aumento no conteúdo de ABA nestas sementes, mas também com a sensibilidade a elevada temperatura de secagem.

Verifica-se, portanto que para as sementes de araticum-de-terra-fria a sacarose foi o açúcar mais relacionado com a tolerância à dessecação, enquanto os teores de frutose pouco se alteraram, independente da secagem; a porcentagem de glicose foi reduzida quando a secagem foi de 19% e 12%, parecendo auxiliar a sacarose na função de osmoproteção; as porcentagens de ciclitóis também se mantiveram inalteradas e, baixíssimas concentrações de rafinose e estaquiase foram identificadas para alguns teores de água.

Observa-se ainda que, embora a estaquiase e a rafinose sejam indicativas de tolerância à dessecação, uma vez que suas concentrações aumentam no final da maturação de sementes tolerantes à secagem (Pukacka & Wojkiewicz, 2002) e que a rafinose atua em conjunto com a sacarose (José, 2006), as baixas concentrações de estaquiase e rafinose verificadas nas sementes de araticum-de-terra-fria secas a 19% e 12% não reduziram a tolerância à secagem e assim, não podem ser relacionadas com a baixa germinação quando as sementes foram secas a 5%, uma vez que há outros mecanismos envolvidos como o balanço hormonal e a sensibilidade a temperatura de secagem.

5. CONCLUSÃO

As sementes de *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer são tolerantes à secagem até níveis de 12% de água e a sacarose é o açúcar mais envolvido na tolerância à dessecação. A aplicação de GA₄₊₇+CK é adequada para superar a dormência dessa espécie e quanto maior o nível de secagem das sementes, maior a concentração necessária para a germinação.

REFERÊNCIAS⁵

- BARBEDO, C.J.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da mata atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.4, p.431-439, 2002.
- BARBEDO, C.J.; BILIA, D. A. C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.55, n. especial, p.121-125, 1998.
- BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. **Seed Science Research**, Cambridge, v.16, p.1–15, 2006.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From Avicennia to Zizania: Seed Recalcitrance in Perspective. **Annals of Botany**, Oxford, p. 1-16, 2007.
- BERNARDES, T.G.; ESTRELA, C.T.; NAVES, R.V.; REZENDE, C.F.A.; MESQUITA, M.A.M.; PIRES, L. L. Efeito do Armazenamento e de Fitohormônios na Qualidade Fisiológica de Sementes de Araticum (*Annona crassiflora* Mart.). **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v.37, n.3, p.163-168, 2007.
- BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, v. 96, p. 868-874, 1992.
- BONAVENTURE, L. El cultivo de la chirimoya e de su híbrido atemoya em Brasil. In: **First International Symposium on Cherimoya**, Equador, 1999.
- BORGHETTI, F. Dormência embrionária. In: FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**, Porto Alegre: Artmed, 2004. p.109-123
- BRADFORD, K. J.; CHANDLER, P. M. Expression of “dehydrin-like” proteins in embryos and seedlings of *Zizania palustris* and *Oryza sativa* during dehydration. **Plant Physiology**, v.99, p.488-494, 1992.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regra de Análise de Sementes**. Brasília: departamento de produção vegetal, 2009, 398p.

⁵ Referências nas normas da ABNT.

CARVALHO, N.M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 2005, 165p.

CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 51-68.

CAMPBELL, C.W.; POPENOE, J. Effect of gibberellic acid on seed dormancy of *Annona diversifolia* saff. **Tropical Region America sociedad Horticultural Service**, v.11, p. 31-36, 1968.

CARVALHO, J.E.U de; NASCIMENTO, W.M.O do; MULLER, C.H. Tolerância de sementes de araticum-do-brejo (*Annona glabra* L.) ao dessecamento e ao congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, v.23, n.1, p.179-182, 2001.

DELSENY, M.; BIES-ETHEVE, N.; CARLES, C.; VICIENT, C.; RAYNAL, M.; GRELLET, F.; ASPART, L. Late embryogenesis abundant (LEA) protein gene regulation during Arabidopsis seed maturation. **Journal of Plant Physiology**, v.158, p.419-427, 2001.

DUBOIS, M. GILLES, K. A. , HAMILTON, J. K. , REBERS, P. A. , SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

DURDA, F., UHLMANN, A.; PESCADOR, R. Dosagem de carboidratos nas sementes de *Shizolobium parahyba* e *Talauma ovata* de acordo com o tamanho seminal. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 2, p. 465-467, jul. 2007.

FERREIRA, G.; ERIG, P.R.; MORO, E. Uso de ácido giberélico em sementes de frutido-conde (*Annona squamosa* L.) visando à produção de mudas em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 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**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 121-124. 2006.

GARCIA, I.S.; SOUZA, A.; BARBEDO, C.J.; DIETRICH, S.M.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Changes in soluble carbohydrates during storage of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered leguminous tree from the brazilian atlantic forest. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v.66, p.739-745, 2006.

GEET, O.H.; PROBERT, R.J.; COOMBEER, S.A. 'Dehydrin-like' proteins and desiccation tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v.4, p.135-141, 1994.

GOMES, F.P. **Curso de Estatística Experimental**, Nobel, São Paulo, 1990. 468p.

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

ILLING, N.; DENBY, K.J.; COLLETT, H.; SHEN, A.; FARRANT, J.M. The signature of seeds in resurrection plants: a molecular and physiological comparison of desiccation tolerance in seeds and vegetative tissues. **Integr. Comp. Biol.**, v.45, p.771–787, 2005.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1940, 523p.

JOSÉ, S.C.B.R.; PINHO, É.V.R.V.; DIAS, M.A.G.S. Açúcares e tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.2, p.60-68, 2006.

JUBES, J.T.; MARTINEZ, H.; PADILLA, E.; OSTE, C. A. Efectos de escarificación, medio, posición de siembra y ácido gibberellico, sobre la germinación de semillas em cherimoyas (*Annona cherimola* Mill) **Revista Agronómica N.O. Argentina**, v.12, n. 1-2, p.161-171, 1975.

KAVATI, R.O. **A cultura da atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.)**. Campinas: Departamento de Comunicação e Treinamento (DCT) – SAA/CATI, 1997, 22p.

KOSTER, K. L.; LEOPOLD, A. C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, v. 88, p.829-832, 1988.

LABOURIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *S. hispanica* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.59, n.1, p.37-56, 1987.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria – Geral da OEA, Série Biologia, Monografia 24, 1983. 170p.

LEUNG J, GIRAUDAT J. Abscisic acid signal transduction. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, p.199-222, 1998.

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

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

MISCHAN, M.M. & PINHO, S.Z. de. **Experimentação Agronômica-Dados Não Balanceados**. Fundibio, Botucatu, SP, 1996. 456p.

MOORE, J.P.; LE, N.T.; BRANDT, W.F.; DRIOUICH, A.; FARRANT, J.M. Towards a systems-based understanding of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.14, n.2, p.110-117, 2009.

NELSON, N.A. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.153, n.2, p.375-380, 1944.

PAMMENTER N.W, BERJAK P. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, Cambridge, v.10, p.301–306, 2000.

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.

PETERBAUER, T.; RICHTER, A. Biochemistry and physiology of raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 11, p.185-197, 2001.

PINTO, A.C.Q. Influência de hormônios sobre o poder germinativo de sementes de graviola. CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3, 1975, Rio de Janeiro. **Anais...**, Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1976.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A.ST.-Hil. **Annals Nat. Hist. Mus. Wien**, v.108, p.191-205, 2007.

RIZZINI, C.T. Dormancy in seeds of *Annona crassiflora* Mart. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 24, n. 78, p. 117-123, 1973.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v.1, p.499-514, 1973.

ROSA, S.D.V.F. da; PINHO, E.R.V.; VIEIRA, E.S.N.; VEIGA, R.D.; VEIGA, A.D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *LEA* associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.

SILVA, J.B.; NAKAGAWA, J. Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. **Informativo Abrates**, v.5, p.62-73, 1995.

SILVA, E.A.A.da; MELO, D.L.B.de; DAVIDE, A.C.; BODE, N. de; ABREU, G.B.; FARIA, J.M.R.; HILHORST, H.W.M. Germination ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. **Annals of Botany**, Oxford, v.99, p.893-830, 2007.

SMET, S. DE; DAMME, P. VAN; SCHELDEMAN, X.; ROMERO, J. Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.497, p.269-278, 1999.

SRIVASTAVA, L.M. **Plant Growth and Development: Hormones and Environment**, Elsevier, 2002. 756p.

SOMOGYI, M. Determination of blood sugar. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.160, n.1, p.69-73, 1945.

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**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.305-308, 2003.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed., Artmed editora, Porto Alegre, 2009. 820p.

TOKUNAGA, T. **A cultura da Atemóia**. Campinas: CATI, p.80, 2000. (Boletim técnico, 233).

UEMURA, M.; STEPONKUS, P.L. 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**, v.26, p.1083-1096, 2003.

VALENZUELA, J.R.C.; OSORIO, J.D.B. Efecto del acido giberelico y el metodo de siembra em la germinacion de semillas y crecimiento de plántulas de anona colorada (*Annona reticulata* L.). **Revista Facultad Nacional de Agronomia**, Medellin, v.51, n.2, p. 235-244, 1998.

VIEIRA, R.D.; DUTRA, A. S. Condutividade elétrica em sementes de abóbora, híbrido Bárbara. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.24, n.3, p. 305-308, 2006.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, secagem e beneficiamento de sementes. In: FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, R. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.265-281.

WALTERS, C.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P.; CRANE, J. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v.11, p.135-148, 2001.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.135-146.

Tabela 1: Germinação [G (%)], tempo médio de germinação [TMG (dias)] e índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer) submetidas a níveis de secagem e concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

Teores de Água (%)	GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (mg L ⁻¹)					Médias
	0	250	500	750	1000	
	PG (%)					
31	54,5 a BC	70,5 a A	70,5 a A	67,5 a AB	53,0 a C	63,2 a
19	55,5 a AB	61,0 a A	68,0 a A	46,0 b B	44,0 a B	54,9 b
12	57,5 a AB	43,5 b B	45,0 b B	70,0 a A	55,0 a B	54,2 b
5	35,0 b A	39,0 b A	36,5 b A	28,0 c A	26,0 b A	32,9 c
Médias	50,62 AB	53,50 A	55,00 A	52,87 A	44,50 B	
C.V. (%)			13,93			
	TMG (dias)					
31	25,50 a A	21,00 a B	21,75 a B	22,00 a B	22,00 ab B	22,45 a
19	25,25 a A	21,25 a BC	19,75 ab C	20,75 ab C	23,50 a AB	22,10 a
12	24,25 a A	20,25 a B	19,50 b B	19,75 b B	20,00 b B	20,75 b
5	21,50 b A	17,50 b C	18,75 b BC	20,00 ab AB	20,25 b AB	19,60 c
Médias	24,12 A	20,00 C	19,93 C	20,62 BC	21,43 B	
C.V. (%)			5,66			
	IVG					
31	14 a B	25,25 b AB	27,25 ab AB	29,25 a A	26,25 b Ab	24,5 ab
19	11,25 a B	28,75 b A	24 ab AB	29,75 a A	13,75 bc B	21,5 b
12	19,5 a BC	16,5 b C	32,25 a B	26,25 a BC	54,75 a A	29,85 a
5	18,75 a B	45,75 a A	14,75 b B	10 b B	11,25 c B	20,1 b
Médias	15,87 B	29,06 A	24,68 A	23,81 A	26,50 A	
C.V. (%)			29,58			

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2: Condutividade elétrica C.E (μScm²/g) das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer), submetidas à níveis de secagem e concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina.

Teor de Água (%)	C.E (μScm ² /g)
31	0,083 ab
19	0,080 c
12	0,098 a
5	0,093 ab
C.V. (%)	6,75

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3: Índice de Sincronização (U) e estimativa das sementes dormentes ao final do teste de germinação (%) das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer) submetidas à níveis de secagem e concentrações de GA₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina..

Teores de Água (%)	GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (mg L ⁻¹)					Médias
	0	250	500	750	1000	
	Sincronização (U)					
31	2,63 a A	3,15 a A	3,03 a A	2,76 a A	2,77 a A	2,9 a
19	2,92 a A	3,07 a A	3,12 a A	2,78 a A	2,58 a A	2,95 a
12	2,73 a A	2,84 a A	2,97 a A	2,97 a A	2,65 a A	2,9 a
5	2,34 a A	2,73 a A	2,74 a A	2,61 a A	2,82 a A	2,75 a
Médias	2,62 B	2,93 A	3,00 A	2,93 A	2,87 AB	
C.V. (%)			10,53			
	Dormentes (%)*					
31	2,00 b A	3,00 b A	1,00 a A	1,00 a A	3,00 a A	2,00 c
19	1,50 b A	2,00 b A	1,00 a A	2,50 a A	1,00 a A	1,90 bc
12	11,50 a A	4,50 b B	4,00 a B	2,50 a B	1,00 a B	4,10 ab
5	3,00 b B	18,50 a A	1,00 a B	2,00 a B	2,50 a B	5,30 a
Médias	4,50 AB	7,00 A	1,50 C	2,00 BC	1,62 C	
C.V. (%)						

Médias seguidas da mesma letra minúsculas na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*Obs.: a porcentagem de sementes dormentes foi calculada em relação ao total de sementes que não germinaram ao final do teste.

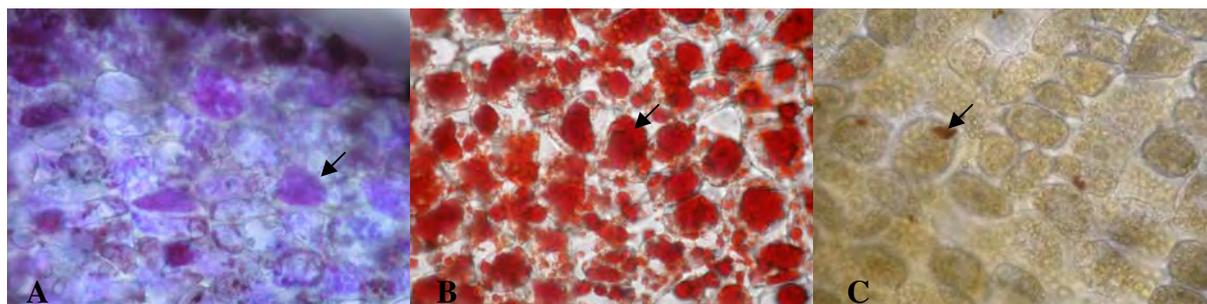


Figura 1: Testes histoquímicos no tecido endospermático das sementes de (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer): **A:** proteínas, **B:** lipídios, **C:** amido.

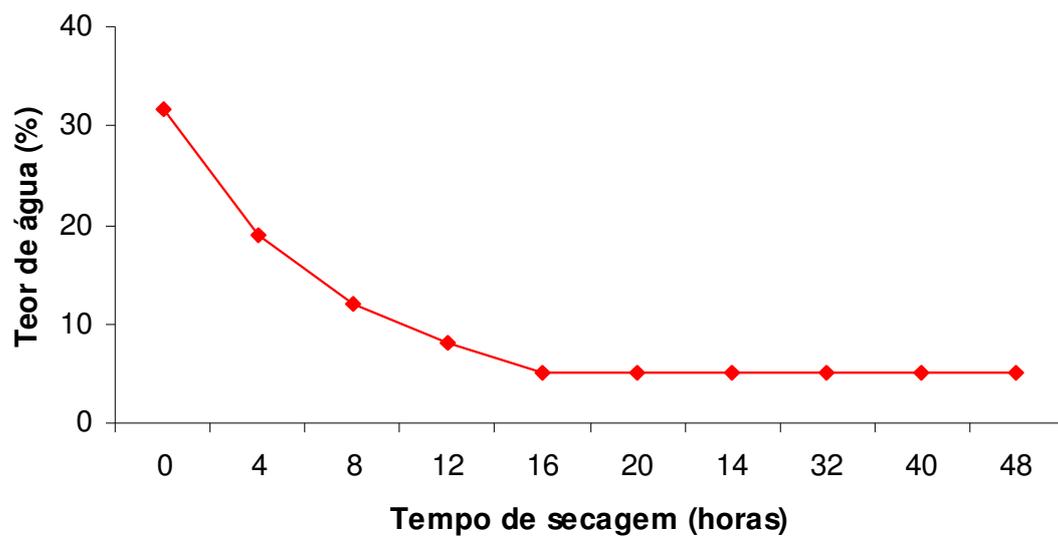


Figura 2: Secagem das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer), submetidas à secagem a 50°C.

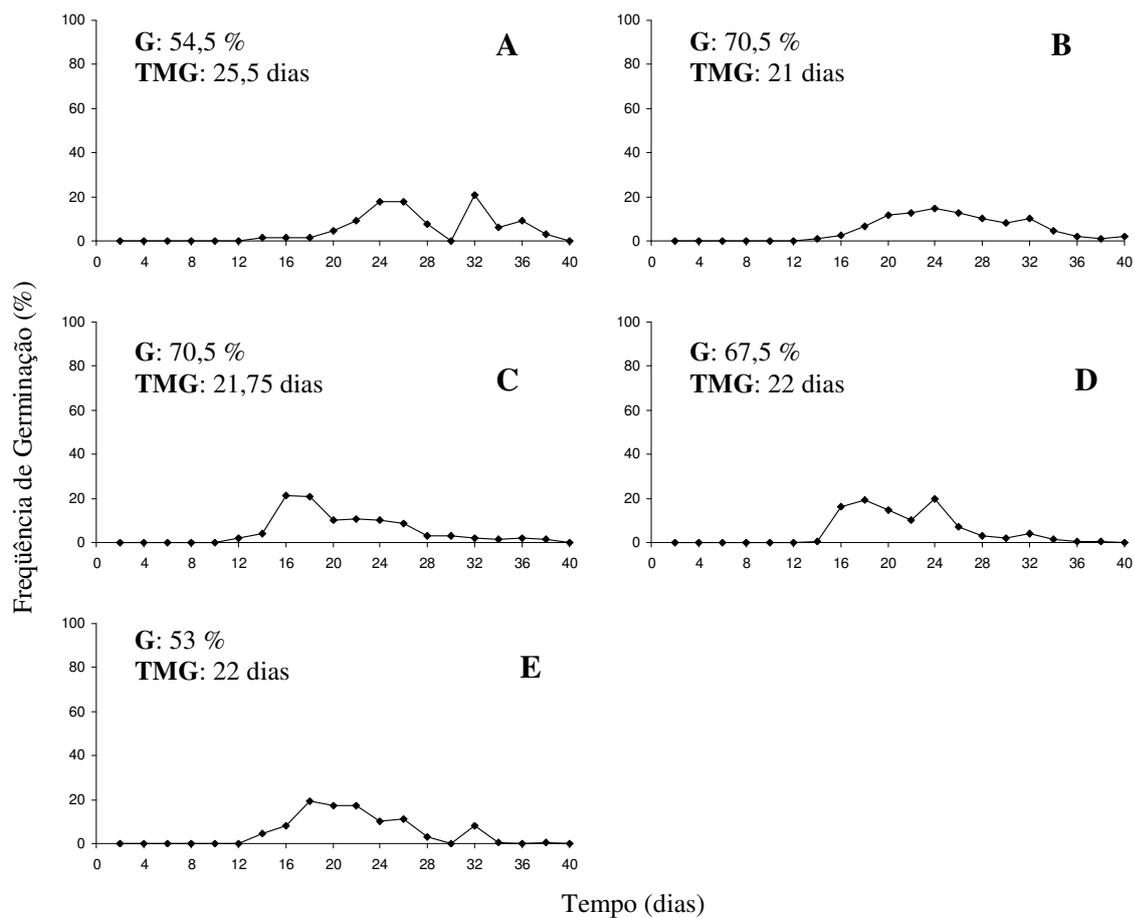


Figura 3: Freqüência relativa de germinação das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) com teor de água inicial (31%) e embebidas em diferentes concentrações de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina: **a:** 0 mg L⁻¹, **b:** 250 mg L⁻¹, **c:** 500 mg L⁻¹, **d:** 750 mg L⁻¹, **e:** 1000 mg L⁻¹.

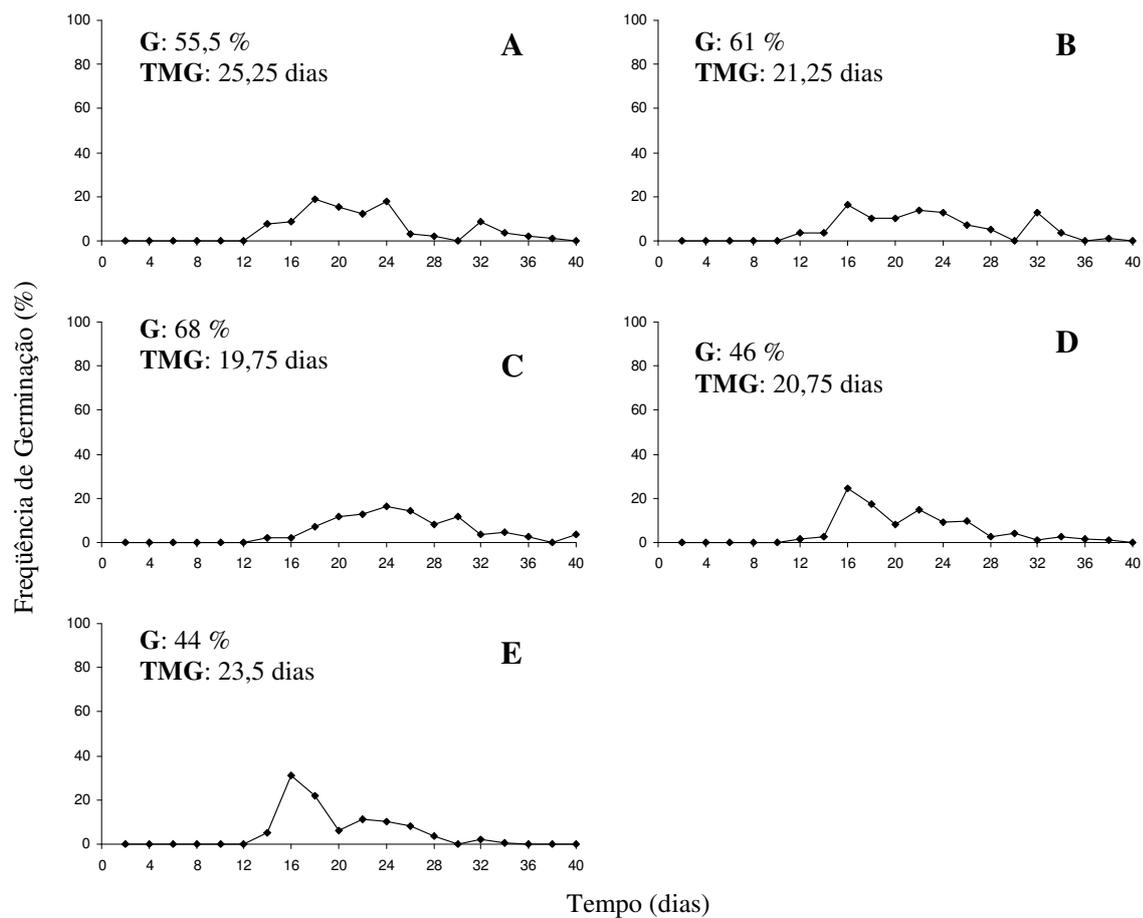


Figura 4: Freqüência relativa de germinação das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) com teor de água 19% e embebidas em diferentes concentrações de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina: **A:** 0 mg L⁻¹, **B:** 250 mg L⁻¹, **C:** 500 mg L⁻¹, **D:** 750 mg L⁻¹, **E:** 1000 mg L⁻¹.

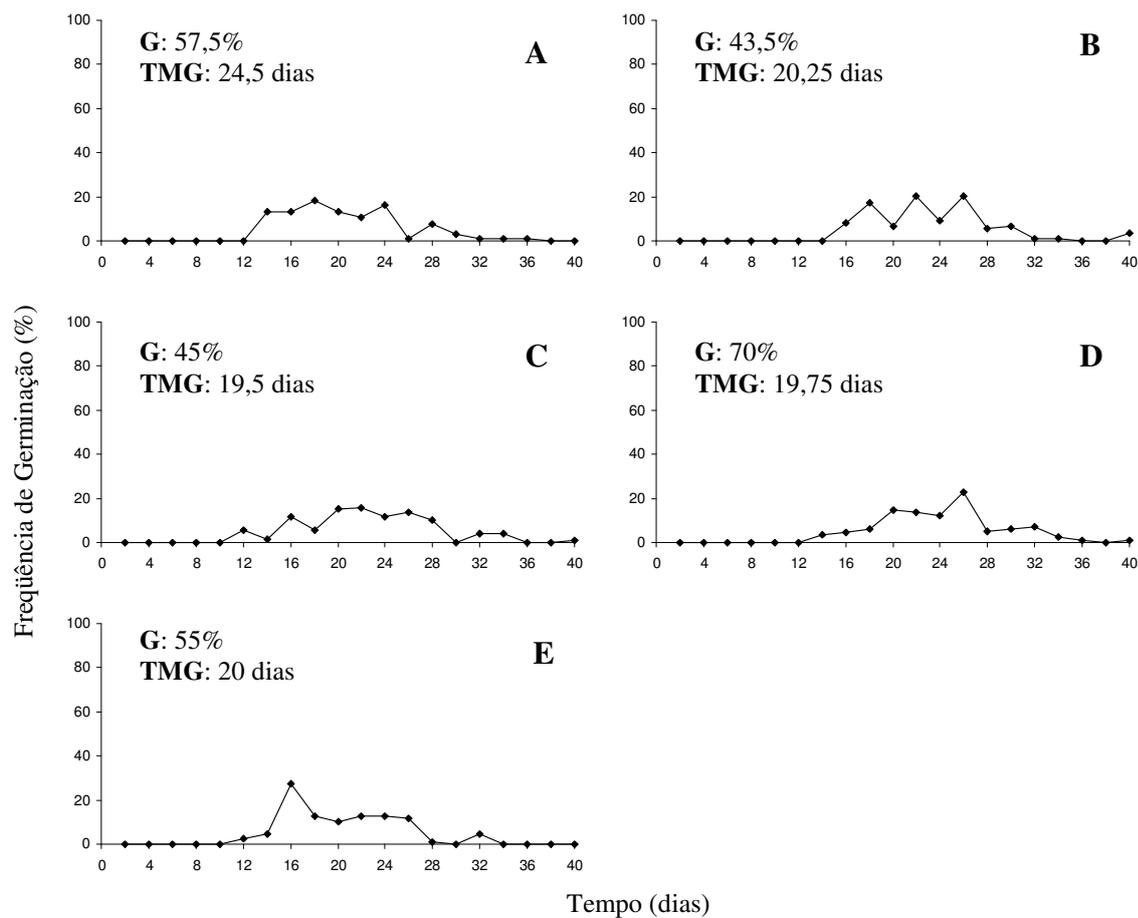


Figura 5: Freqüência relativa de germinação das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) com teor de água 12% e embebidas em diferentes concentrações de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina: **A:** 0 mg L⁻¹, **B:** 250 mg L⁻¹, **C:** 500 mg L⁻¹, **D:** 750 mg L⁻¹, **E:** 1000 mg L⁻¹.

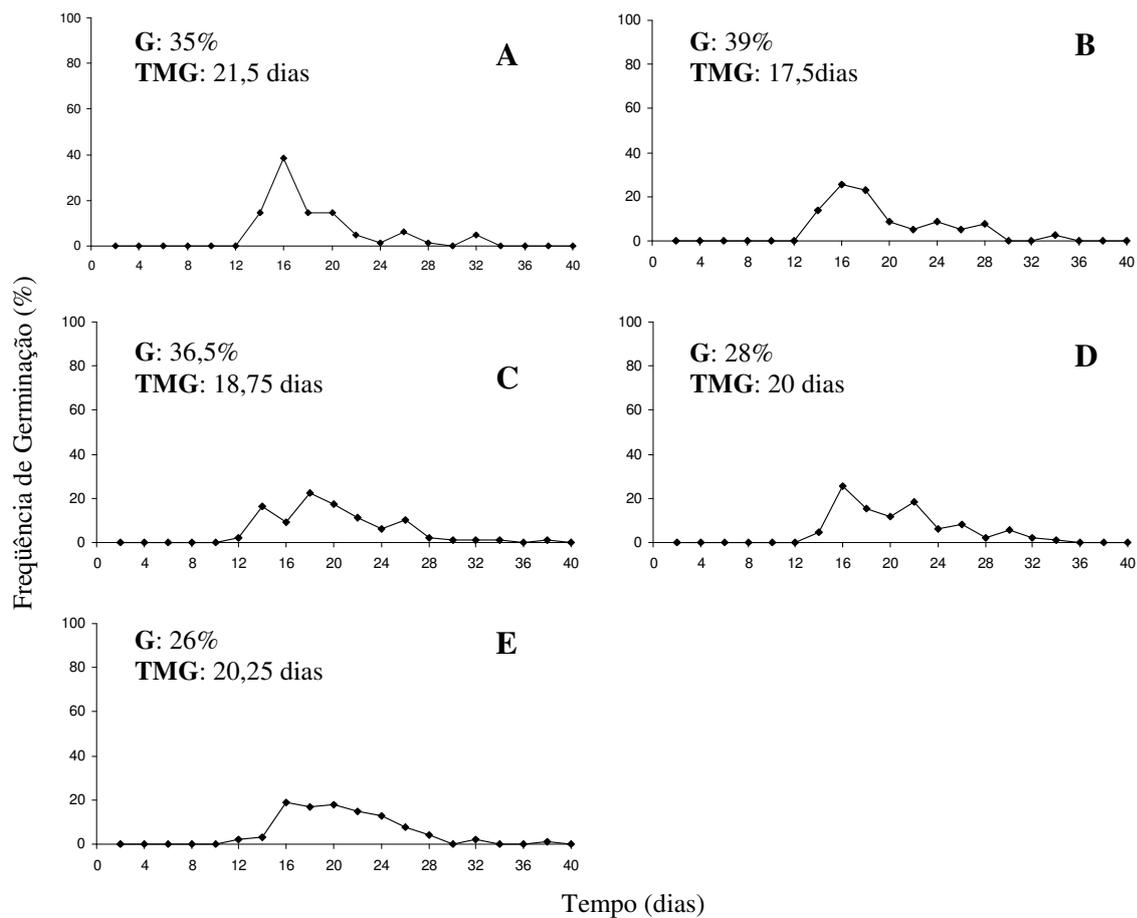


Figura 6: Freqüência relativa de germinação das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) com teor de água 5% e embebidas em diferentes concentrações de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina: **A:** 0 mg L⁻¹, **B:** 250 mg L⁻¹, **C:** 500 mg L⁻¹, **D:** 750 mg L⁻¹, **E:** 1000 mg L⁻¹.

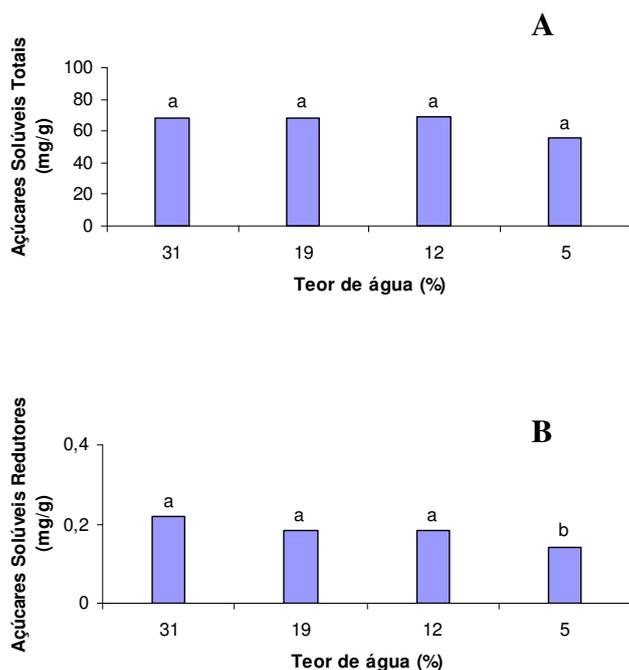


Figura 7: Conteúdo de açúcares solúveis totais (A) e açúcares solúveis redutores totais (B), das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) submetidas à níveis de secagem (50°C).

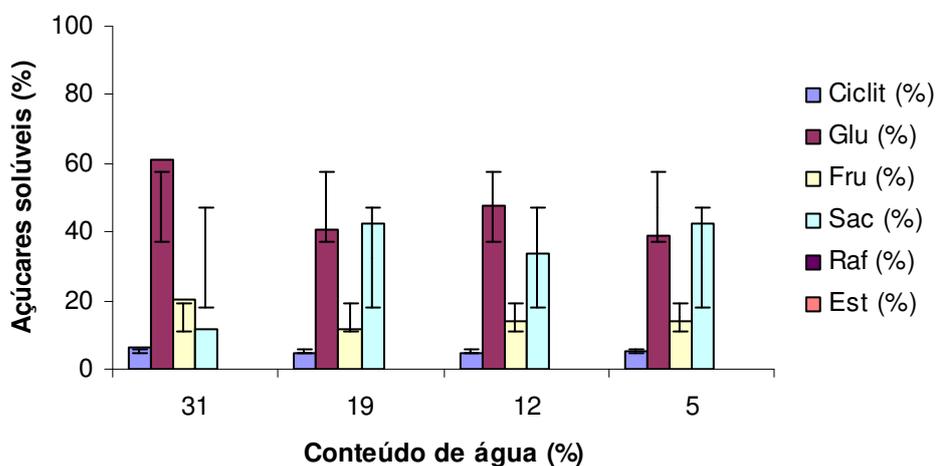


Figura 8: Perfil dos açúcares solúveis (%) das sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) submetidas à níveis de secagem (50°C). Desvio padrão comparando cada açúcar nos diferentes níveis de secagem.

4. Capítulo 2

REPOUSO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER⁶

⁶ Artigo nas Normas da Revista Seed Science Reserach.

REPOUSO PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER

Jaqueline Malagutti Corsato⁷; Gisela Ferreira⁸; Claudio Jose Barbedo⁹

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento fisiológico das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer armazenadas no fruto (repouso pós-colheita) e armazenadas após extração dos frutos. Foram realizados dois experimentos: no primeiro o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2 (épocas de armazenamento do fruto x tipo de embebição das sementes). Os frutos maduros foram armazenados a 5°C pelo período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Após armazenamento os frutos foram despulpados manualmente e as sementes colocadas para embeber em água destilada e em solução de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na concentração de 800 mg L⁻¹ por 60 horas. No segundo experimento, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x5x2 + testemunha (temperatura de armazenamento x tempo de armazenamento x tipo de embebição). As sementes foram armazenadas em sacos de papel tipo Kraft, envoltas por um saco de polietileno e acondicionadas em B.O.D. nas temperaturas de 5°C, 15°C e 25°C, onde permaneceram armazenadas por 30, 60, 90, 120 e 150 dias sendo o tempo 0 a testemunha. Após armazenamento as sementes foram colocadas para embeber em água destilada e em solução de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na concentração de 800 mg L⁻¹ por 60 horas. As variáveis analisadas foram condutividade elétrica, porcentagem, tempo médio, índice de velocidade, frequência e sincronização da germinação, porcentagem de plântulas normais, comprimento médio de raiz e da parte aérea e análise quantitativa dos açúcares solúveis e redutores totais. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As maiores porcentagens e menores tempos médios de germinação foram observados para as sementes que permaneceram por sete e 21 dias nos frutos e foram embebidas em reguladores vegetais. Os maiores conteúdos de açúcares solúveis totais foram para as sementes que permaneceram por 14 e 21 dias nos frutos. O armazenamento com teor de água inicial reduz a viabilidade das sementes a partir de 60 dias, sendo maior a deterioração e o conteúdo de açúcares redutores totais; menor a quantidade de açúcares solúveis totais quando efetuado o armazenamento a 25°C. Concluiu-se que o repouso pós-colheita do fruto auxilia na germinação das sementes de araticum-de-terra-fria e as sementes recém-extraídas dos frutos (teor de água de 30%) devem ser armazenadas a baixas temperaturas (5°C e 15°C) por no máximo 90 dias.

Palavras-chave: araticum-de-terra-fria; giberelinas, citocininas, açúcares solúveis totais

⁷ Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, SP. Email: jaque_corsato@hotmail.com

⁸ Prof^a Dr^a do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu, SP.

⁹ Prof. Dr. Instituto de Botânica de São Paulo, São Paulo, SP.

*Parte Integrante da Dissertação do Primeiro Autor.

POSTHARVEST RESTING PERIOD OF FRUITS AND STORAGE OF SEEDS
IN *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER

Jaqueline Malagutti Corsato⁷; Gisela Ferreira⁸; Claudio Jose Barbedo⁹

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the physiological behavior of *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer seeds stored in the fruit (postharvest resting period) and stored after fruit extraction. Two experiments were carried out: in the first one, experimental design was completely randomized in 5x2 factorial arrangement (fruit storage periods x seed imbibition types). Mature fruits were stored at 5°C for 0, 7, 14, 21 and 28 days. Then, the fruits were manually pulped and seeds were allowed to imbibe in distilled water and in GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine solution at the concentration of 800 mg L⁻¹ for 60h. In the second assay, experimental design was completely randomized in 3x5x2 factorial arrangement (storage conditions x storage periods x imbibition types) + control. The seeds, involved with polyethylene bags, were placed inside Kraft-type paper bags and stored in a B.O.D. chamber at 5°C, 15°C and 25°C for 30, 60, 90, 120 and 150 days; time 0 was adopted as control. Following storage, seeds were allowed to imbibe in distilled water and in GA₄₊₇ + N-(phenylmethyl)-1H-purine-6-amine solution at the concentration of 800 mg L⁻¹ for 60h. The analyzed variables were electrical conductivity; germination percentage, mean time, speed index, frequency and synchronization; percentage of normal seedlings; root and shoot mean length; and quantitative analysis of total and reducing soluble sugars. The results were subjected to analysis of variance and means were compared by Tukey's test at 5% significance. The highest percentages and the shortest mean times of germination were obtained for seeds stored during seven and 21 days in the fruits and imbibed in plant growth regulators. The highest levels of total soluble sugars were found for seeds stored for 14 and 21 days in the fruits. Storage with initial water level decreases seed viability from 60 days, increasing deterioration and total reducing sugar level; total soluble sugars decreased when stored at 25°C. Thus, fruit postharvest resting period helps breaking dormancy in "araticum-de-terra-fria" seeds; in addition, seeds presenting initial water level should be stored at low temperatures (5°C and 15°C) for a maximum period of 90 days.

Keywords: "Araticum-de-terra-fria", gibberellins, cytokinins, soluble sugars.

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer, sinóníma da espécie *Rollinia* sp., é popularmente conhecida como araticum de terra fria, nativa do território brasileiro e tem sido encontrada desde o estado do Rio Grande do Sul até Minas Gerais (Tokunaga, 2000; Rainer, 2007).

A importância desta espécie está relacionada com sua rusticidade o que justifica seu uso em programas de melhoramento genético e como porta-enxerto para Anonáceas, pois quando utilizada como porta-enxerto para atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.) e cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), proporciona maior compatibilidade, vigor à copa, resistência a fungos (*Phytophthora nicotianae*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*), podridão de raízes e brocas (*Cratosomus bombina*) que atacam o colo das plantas e tolerância tanto a solos alagados como secos (Kavati et al., 1997; Bonaventure, 1999; Tokunaga, 2000).

Apesar das espécies utilizadas como porta-enxerto serem propagadas por sementes é importante ressaltar que as espécies da família Annonaceae apresentam dormência, o que resulta em germinação lenta e desuniforme (Rizzini, 1973). Pawshe et al. (1997) e Smet et al. (1999) sugerem ainda que a germinação é afetada pela presença de ácido abscísico no embrião, impermeabilidade e resistência do tegumento à entrada de água. Porém Melo et al. (2007) verificaram que a dormência das sementes de Anonáceas é devido a presença de um embrião rudimentar.

Uma forma de minimizar os efeitos da dormência embrionária é o repouso pós-colheita dos frutos. Neste procedimento os frutos são armazenados em condições adequadas que irão permitir o término do desenvolvimento das sementes garantindo maior qualidade fisiológica (Silva et al., 2009). Porém se o tempo de armazenamento pós-colheita for maior do que o necessário o processo de deterioração leva a redução na qualidade fisiológica das sementes (Vidigal et al., 2006).

Outra forma de manter a qualidade das sementes entre o beneficiamento dos frutos até a sementeira pode ser através do emprego de técnicas adequadas para o armazenamento, as quais procuram controlar a temperatura e umidade, principais fatores que afetam o armazenamento das sementes (Roberts, 1973; Oliveira et al., 2006).

Além do ambiente e o tempo em que as sementes são armazenadas, o teor de água que elas se encontram também pode interferir na viabilidade do material durante o armazenamento, tanto para sementes com comportamento ortodoxo quanto as

recalcitrantes (Rosa, 2005). Sementes armazenadas com teores de água elevados (acima de 15%) sofrem danos maiores durante o armazenamento do que aquelas que passaram por secagem prévia (Carvalho, 2005).

Durante o armazenamento das sementes ocorrem alterações que resultam na deterioração das sementes, como o esgotamento das reservas que fornecem energia para o crescimento do embrião (Villela & Peres, 2004). Este fato foi observado por Veiga et al. (2007) em trabalhos com sementes de café (*Coffea arabica* L.), onde foi possível observar maior atividade da enzima endo-betamananase durante o armazenamento dessas sementes.

Em relação às sementes da família Annonaceae, Bernardes et al. (2007) verificaram que o armazenamento das sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.) em sacos de papel, reduz significativamente a porcentagem de germinação dessas sementes, sendo este parâmetro nulo após 365 dias de armazenamento. Segundo Machado & Parente (1986) as sementes de anonáceas devem permanecer em meio úmido após a extração dos frutos, caso contrário a viabilidade das sementes pode ser reduzida, influenciando na porcentagem final de germinação.

O objetivo do trabalho foi avaliar o comportamento fisiológico das sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer armazenadas no fruto (repouso pós-colheita) e armazenadas após extração dos frutos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Germinação de Sementes do Departamento de Botânica, do Instituto de Biociência (IB) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), *Campus* Botucatu-SP.

Os frutos de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer (araticum-de-terra fria) foram coletados em fevereiro de 2009 e divididos em dois lotes, que correspondem a dois experimentos distintos, os quais estão descritos a seguir.

Após beneficiamento dos frutos, foi determinado o teor de água das sementes de araticum-de-terra-fria pelo método da estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas, sendo os resultados expressos em porcentagem com base no peso úmido das sementes (Brasil, 2009).

2.1. Experimento I: Repouso Pós-Colheita dos Frutos de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2 (épocas de armazenamento do fruto x tipos de embebição das sementes) totalizando 20 tratamentos com quatro repetições de 25 sementes por parcela.

Os frutos maduros, os quais apresentavam casca verde e as sementes com coloração marrom escura foram armazenados a 5°C pelo período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias. Após o armazenamento os frutos foram despulpados manualmente e as sementes foram tratadas em solução fungicida contendo N-triclorometiltio-4-ciclohexano-1,2-dicarboximida (Captan[®]) a 2% por dez minutos e solução bactericida de cloridrato de oxitetraciclina (Terramicina[®]) a 2% por vinte minutos, sendo posteriormente colocadas para embeber em água destilada e em solução de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na concentração de 800 mg L⁻¹ por 60 horas (Costa, 2009).

As sementes foram acondicionadas em rolos de papel 'Germiteste' umedecidos com água destilada na proporção de duas vezes e meia o seu peso seco (Brasil, 2009). O experimento foi mantido em câmara de germinação, com temperatura alternada de 20°C durante 18 horas de escuro e 30°C por seis horas de claro.

2.2. Experimento II: Armazenamento de Sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Após a coleta, os frutos foram fermentados e despulpados manualmente com o auxílio de peneira e água corrente. Para evitar contaminação realizou-se assepsia das sementes com imersão em solução fungicida contendo N-triclorometiltio-4-ciclohexano-1,2-dicarboximida (Captan[®]) a 2% por dez minutos e solução bactericida de cloridrato de oxitetraciclina (Terramicina[®]) a 2% por vinte minutos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x5x2 + testemunha (temperaturas de armazenamento x tempos de armazenamento x tipos de embebição), totalizando 31 tratamentos com quatro repetições de 25 sementes por parcela.

As sementes foram separadas manualmente e armazenadas em sacos de papel do tipo Kraft, envoltas por um saco de polietileno e acondicionadas nas temperaturas de 5°C, 15°C e 25°C. As sementes permaneceram armazenadas nestas temperaturas por 30, 60, 90, 120 e 150 dias sendo o tempo 0 considerado como testemunha. Após o período

de armazenamento as sementes foram colocadas para embeber em água destilada e em solução de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na concentração de 800 mg L⁻¹ por 60 horas (Costa, 2009).

As sementes foram acondicionadas em rolos de papel ‘Germiteste’ umedecidos com água destilada na proporção de duas vezes e meia o seu peso seco (Brasil, 2009). O experimento foi mantido em câmara de germinação, com temperatura alternada de 20°C durante 18 horas de escuro e 30°C por seis horas de claro (Costa, 2009).

Nos dois experimentos realizou-se contagem diária do número de sementes germinadas até 60 dias após a sementeira, sendo considerada como germinada as sementes que apresentaram pelo menos dois milímetros de raiz primária (Hadas, 1976). Com os dados foram calculados: porcentagem, índice de velocidade (IVG), frequência e sincronização (U) da germinação, porcentagem de plântulas normais, comprimento médio de raiz e de parte aérea (Brasil, 2009; Laboriau, 1983; Laboriau & Agudo, 1987; Silva & Nakagawa, 1995). Foi considerada como plântula normal aquela que apresentou estruturas de plântulas intactas.

As Equações utilizadas foram:

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

$$IVG = (C1/T1-A + C2/T2-A.... + Ci/Ti-A) \times 100/N \times 100/P$$

Onde:

C1 até Ci = contagem diária da germinação

T1 até Ti = tempo da primeira germinação

P = porcentagem de germinação potencial,

A = período que antecede à germinação

N = número de sementes em teste

Outra variável analisada foi à condutividade elétrica, realizada pelo método de massa, com quatro repetições de 25 sementes por parcela, pesadas, colocadas para embeber em 100 mL de água deionizada em copos plásticos de 200 mL, mantidos a 25°C por 24 horas por 24 horas (Brasil, 2009). A leitura foi realizada gradativamente após a retirada do material da incubadora com o auxílio de um condutivímetro de bancada, agitando-se cuidadosamente cada recipiente com o intuito de uniformizar os

eletrólitos lixiviados na solução e os resultados foram expressos em $\mu\text{Scm}^2/\text{g}$ (Vieira & Krzyzanowski, 1999 citado por Vieira & Dutra, 2006).

Para a análise dos açúcares solúveis totais e redutores totais, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes por parcela. As sementes foram trituradas com auxílio de um moinho, posteriormente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em ultra freezer à -80°C até o momento da preparação do extrato.

Para a extração dos açúcares solúveis totais, foram utilizadas 100 mg de massa fresca das sementes de araticum-de-terra-fria, as amostras foram extraídas em água destilada resultando na fração de açúcares solúveis totais sendo o volume ajustado para 100 mL com água destilada. A quantificação foi realizada através da análise calorimétrica utilizando-se o método fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956).

Os açúcares redutores totais foram determinados pelo método de Somogy (1945) e Nelson (1944). Para a extração foram utilizadas 500 mg de massa fresca de sementes de araticum-de-terra-fria, a extração foi realizada em água destilada resultando na fração de açúcares redutores totais. A quantificação foi realizada através de análise colorimétrica utilizando o comprimento de onda de 500nm.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (Teste F) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade e teste de Dunnett a 5% de probabilidade quando necessário (Gomes, 1990; Mischan & Pinho, 1996).

3. RESULTADOS

3.1. Experimento I: Repouso Pós-Colheita dos Frutos de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Sem a aplicação dos reguladores vegetais, a germinação das sementes oriundas dos frutos com repouso por sete, 14 e 21 dias não diferiu das sementes retiradas dos frutos recém colhidos e somente com 28 dias de armazenamento foi observada redução significativa da porcentagem de germinação em relação aos demais tempos de armazenamento (tabela 1).

Com o uso dos reguladores, ocorreu aumento na porcentagem de germinação das sementes quando os frutos foram armazenados por sete e 14 dias, diferindo das sementes provenientes dos frutos recém colhidos e dos armazenados por 21 e 28 dias. No entanto somente aos 14 dias de armazenamento que o uso dos reguladores vegetais aumentou a germinação das sementes de araticum-de-terra-fria em comparação com as sementes sem tratamento (tabela 1). Quanto maior o tempo de repouso pós-colheita dos

frutos de araticum de terra fria (7-28 dias) maior foram os valores para a condutividade elétrica (tabela 2).

A aplicação dos reguladores vegetais reduziu o tempo médio necessário para que a germinação ocorresse, após sete, 14, 21 e 28 dias de repouso pós-colheita dos frutos (Tabela 1). As sementes sem a aplicação dos reguladores e sem armazenamento germinaram mais rápido em relação aquelas que passaram pelos tempos de armazenamento, porém a porcentagem de germinação foi baixa, não diferindo daquelas com reguladores. Com o armazenamento por sete, 14 e 21 a germinação foi maior, porém demorou mais para germinar. Após 28 dias de repouso pós-colheita o tempo médio de germinação sem reguladores começa a reduzir, mas a germinação também diminui.

As sementes que foram embebidas em reguladores vegetais apresentaram menor tempo médio de germinação em todos os tempos de armazenamento do fruto quando comparadas as sem reguladores, exceto aquelas sem armazenamento onde a germinação das sementes embebidas em água foi igual às embebidas em reguladores vegetais.

No entanto, mesmo com a redução do tempo médio de germinação a aplicação de reguladores vegetais e o repouso pós-colheita dos frutos não foram suficientes para aumentar o índice de velocidade de germinação (IVG), pois não houve interação entre o tempo de repouso pós-colheita do fruto e o tipo de embebição que as sementes foram submetidas, observando-se que em média as sementes que permaneceram por 21 dias no interior dos frutos armazenados a 5°C apresentou o maior índice de velocidade de germinação (12,82), o maior se comparado com os tempos zero e 28 dias de armazenamento dos frutos (tabela 1).

Além disso, os tratamentos não foram suficientes para sincronizar a germinação das sementes de *Annona emarginata*. Conforme se observa na figura 1, a germinação foi distribuída ao longo do tempo, com gráficos de frequência de germinação representando polígonos polimodais.

A porcentagem de plântulas normais (tabela 3) foi maior, em média, após sete e 14 dias de repouso pós-colheita, porém apenas as sementes provenientes dos frutos que permaneceram por 14 dias em repouso pós-colheita e foram embebidas em 800 mg L⁻¹ GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina apresentaram maior porcentagem de plântulas normais (69%) em comparação com as sementes embebidas em água destilada.

O comprimento médio de raiz das plântulas normais para os tempos zero, 21 e 28 dias de repouso pós-colheita foi menor quando as sementes foram embebidas em 800

mg L⁻¹ de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina. Já para o comprimento médio da parte aérea, não houve diferença entre as sementes embebidas em água destilada ou em reguladores vegetais. Porém, as sementes embebidas em reguladores vegetais apresentaram maior comprimento médio da parte aérea com sete dias de repouso pós-colheita dos frutos (tabela 3).

Os resultados da análise de açúcares solúveis totais (figura 2A) demonstraram que, o maior acúmulo desses açúcares ocorreu nas sementes que permaneceram armazenadas no fruto por 14 e 21 dias. Quanto ao conteúdo de açúcares redutores (figura 2B), não foi observado alteração na quantidade desses compostos nas sementes de *Annona emarginata* após o repouso pós-colheita dos frutos.

3.2. Experimento II: Armazenamento das Sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

O teor de água inicial das sementes de araticum de terra fria era de 30% de água, permanecendo estável ao longo do armazenamento.

O armazenamento das sementes dentro do fruto permite que o embrião termine o seu desenvolvimento, além de alterar o balanço entre promotores e inibidores favorecendo a germinação. Porém, a retirada das sementes dos frutos recém colhidos e posterior armazenamento reduz a viabilidade das sementes de araticum-de-terra-fria a partir de 60 dias, ou seja, é possível armazenar essas sementes por 60 dias a 5°C sem ter que aplicar reguladores vegetais ou a 15°C, sendo necessária a aplicação dos reguladores vegetais para promover a germinação (tabela 4).

No tempo médio de germinação as diferenças foram apenas para as sementes armazenadas a 25°C por 120 dias e embebidas em 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina, sendo este o menor tempo médio de germinação, mas também a menor porcentagem de germinação do experimento, desconsiderando-se as sementes que não germinaram (tabela 4).

O índice de velocidade das sementes armazenadas a 5°C por 30 dias e embebidas em reguladores vegetais foi maior do que a testemunha. Não houve diferença para a porcentagem de plântulas normais entre a testemunha e os demais tratamentos enquanto para o comprimento médio de raiz na maioria dos tratamentos o comprimento médio de raiz foi menor que o da testemunha exceto para as sementes armazenadas por 60 dias a 15°C e 25°C embebidas em água, 25°C por 30 dias e embebidas em água; sementes armazenadas a 25°C por 90 dias e embebidas em água (tabela 4).

A análise do fatorial condição de armazenamento x tempo de armazenamento mostrou que a porcentagem de germinação das sementes de araticum de terra fria é reduzida quanto maior for o tempo de armazenamento dessas sementes, independente da temperatura em que foram armazenadas, sendo as reduções para esta variável, observadas a partir de 90 dias com 5°C e 25°C e a partir de 120 dias de armazenamento para as sementes armazenadas a 15°C (tabela 5).

Analisando-se a temperatura em que as sementes foram armazenadas, pode-se observar que em todos os tempos as menores porcentagens de germinação foram encontradas para as sementes armazenadas a 25°C. Aos 150 dias de armazenamento apesar de todas as temperaturas apresentarem baixas porcentagens de germinação, as sementes armazenadas a 25°C perderam completamente a capacidade de germinação (tabela 5).

O tempo médio de germinação foi reduzido na temperatura de 25°C quando as sementes foram armazenadas por 120 e nulo após 150 dias, porém apesar da redução no tempo médio de germinação vale ressaltar que as germinações nesses tratamentos foram baixas ou nulas, 4% e 0% respectivamente (tabela 5).

A tabela 5 mostra que o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de araticum de terra fria armazenadas a 5°C e 15°C foi reduzido significativamente após 90 dias de armazenamento enquanto que nas sementes armazenadas a 25°C estes índices mantêm-se baixo desde o início do armazenamento.

Apesar da redução na porcentagem e no índice de velocidade de germinação após as sementes permanecerem armazenadas, ao final do experimento houve redução na porcentagem de plântulas normais apenas para as sementes que permaneceram armazenadas por 120 dias a 25°C. Já o comprimento médio de raiz dessas plântulas reduziu quando as sementes passaram pelo armazenamento de 120 e 150 dias a 15°C, apresentando 0,75 cm e 0,87 cm respectivamente (tabela 5).

O comprimento médio da parte aérea mostrou que após 120 dias de armazenamento as plântulas normais provenientes de sementes armazenadas a 15°C e 25°C apresentaram os menores valores para esta variável, 3,12 cm e 0,25cm respectivamente (tabela 5). Além disso, para os mesmos tempos de armazenamento os menores valores foram encontrados nas sementes armazenadas a 25°C (3,12 cm e 0,25 cm).

A interação entre o tempo de armazenamento x tipo de embebição das sementes (tabela 7) demonstrou que a germinação das sementes embebidas em água destilada foi

reduzida após 120 dias de armazenamento e das sementes embebidas em GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina a redução ocorreu após 90 dias de armazenamento.

Para o tempo médio de germinação a aplicação de reguladores vegetais não proporcionou diferenças significativas, exceto aos 90 dias de armazenamento, sendo os menores valores encontrados para as sementes embebidas em água e em reguladores vegetais após 150 dias de armazenamento, porém a porcentagem de germinação para estes tratamentos foi menor se comparada com os demais (tabela 7).

Apenas para as sementes armazenadas por 30 dias a germinação e o índice de velocidade com aplicação de 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina foram maiores, quando comparados com as sementes embebidas em água destilada, não havendo diferenças entre sementes tratadas ou não com os reguladores vegetais em cada um dos períodos de armazenamento. Porém verificou-se que sem a aplicação dos reguladores não há diferença entre os tempos de armazenamento e o índice de velocidade de germinação enquanto que as sementes tratadas com reguladores a redução na velocidade de germinação a medida que aumenta o tempo de armazenamento (tabela 7).

A porcentagem de plântulas normais das sementes germinadas após 30, 60 e 90 dias de armazenamento foi maior para as sementes embebidas em água destilada, porém após 120 e 150 dias não se observa diferenças. Para as sementes embebidas em GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina não houve alterações na porcentagem de plântulas normais ao longo do período de armazenamento, enquanto com reguladores vegetais o aumento no tempo de armazenamento das sementes reduz a porcentagem de plântulas normais (tabela 7).

O comprimento médio de raiz após 30, 60 e 90 dias de armazenamento foi menor para as sementes embebidas em GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina. Para as sementes embebidas em água houve redução significativa no comprimento médio de raiz após 120 e 150 dias de armazenamento. O maior comprimento médio da parte aérea para as sementes embebidas em água destilada foi após 90 dias de armazenamento e redução aos 120 e 150 dias. As sementes embebidas em reguladores vegetais não apresentaram diferença significativa entre os tempos de armazenamento (tabela 7).

Quanto à análise da interação entre a condição de armazenamento e o tipo de embebição das sementes (tabela 8), observa-se que a germinação e o índice de velocidade de germinação das sementes armazenadas a 25°C é menor independente se estas foram embebidas em água destilada ou nos reguladores vegetais.

Os maiores índices de velocidade de germinação foram observados para as sementes armazenadas a 5°C e a aplicação de reguladores vegetais não auxilia o aumento dessa variável. Já a porcentagem de plântulas normais, o comprimento médio de raiz e de parte aérea são maiores para as sementes que passaram pela embebição em água destilada (tabela 8).

Quanto ao conteúdo de açúcares solúveis totais verifica-se que os valores obtidos na testemunha (sementes que não foram armazenadas e embebidas em água destilada) foi maiores do que para as sementes armazenadas por 60, 120 e 150 dias em todas as temperaturas de armazenamento. Já para o conteúdo de açúcares redutores totais houve pouca variação entre os tratamentos de armazenamento e tipos de embebição em relação à testemunha (sementes que não foram armazenadas e embebidas em água destilada), apenas as sementes armazenadas por 30 e 60 dias a 5°C; 120 e 150 dias a 15°C e 25°C aumentaram o conteúdo de desses açúcares (tabela 6).

A análise dos carboidratos solúveis totais mostra que as sementes armazenadas a 5°C reduziram o conteúdo de açúcar solúvel total quanto maior o tempo de armazenamento (60, 90, 120 e 150 dias). Sementes armazenadas a 15°C aumentaram o conteúdo desses açúcares aos 60 e 90 dias de armazenamento e voltou a diminuir aos 120 e 150 dias. O armazenamento das sementes a 25 °C reduziu o conteúdo de açúcares solúveis totais em relação às demais temperaturas aplicadas, porém dentro da temperatura de 25 °C não houve modificação dos teores de açúcares ao longo do período de armazenamento (tabela 9).

O conteúdo de açúcares redutores nas sementes armazenadas a 25°C foram os maiores encontrados após 30, 60, 120 e 150 dias de armazenamento. Em todas as temperaturas houve redução no conteúdo de açúcares redutores aos 90 dias de armazenamento, no entanto esses compostos voltam a aumentar após 120 e 150 dias (tabela 9).

4. DISCUSSÃO

4.1. Experimento I: Repouso Pós-Colheita dos Frutos de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Segundo Melo et al. (2007) sementes da família Annonaceae possuem dormência embrionária devido à presença de embrião pouco diferenciado descrito como rudimentar, o que justifica a baixa porcentagem, elevado tempo médio e baixo índice de

velocidade de germinação dessas sementes quando recém extraídas dos frutos. Assim, é comum relatos de que a germinação dessas espécies é lenta e desuniforme dificultando a produção de mudas ao longo do ano (Rizzini, 1973).

Desta forma, sementes que apresentam embriões rudimentares, como é o caso do araticum-de-terra-fria, necessitam de um processo de pós-maturação para completar seu desenvolvimento. Dias (2001) e Silva et al. (2009) relatam que sementes mantidas nos frutos após a colheita podem ser favorecidas por um período de repouso o qual permite a conclusão do processo de maturação. Neste caso, sementes imaturas presentes no fruto mesmo desligado da planta mãe completam seu desenvolvimento resultando em aumento do potencial germinativo da espécie e superação da dormência como no caso do mamão e das sementes de araticum-de-terra-fria deste experimento, cujo armazenamento por 1 a 21 dias favoreceram a germinação (tabela 1).

As espécies de frutos carnosos têm sido bons exemplos dos benefícios do repouso pós-colheita quando se procura melhorar o rendimento das sementes, pois este processo reduz os riscos no campo além de proporcionar superação da dormência como ocorre nas sementes de mamão, que quando recém extraídas possuem germinação por volta de 45% (Martins et al., 2006) e após armazenamento dos frutos a 25°C por 12 dias aumentam o seu potencial germinativo (Aroucha, et al., 2004).

O tempo e as condições de permanência dos frutos no repouso pós-colheita variam com a espécie (Silva et al., 2009). Martins et al. (2006) verificaram que armazenar sementes de mamão à 10°C aumentam a germinação dessa espécie de 45% (germinação inicial) para 86%, concluindo que a baixa temperatura pode ter contribuído para a superação da dormência dessas sementes. Comportamento semelhante foi observado para as sementes de araticum de terra fria, onde a temperatura de 5°C aumentou a germinação, quando o armazenamento foi por sete, 14 e 21 dias.

Tal efeito positivo do armazenamento dos frutos a baixa temperatura na germinação das sementes que apresentam dormência está relacionado com modificações internas no balanço entre promotores e inibidores da germinação (Carvalho & Nakagawa, 2000). Com a manutenção das sementes de araticum-de-terra-fria no interior dos frutos a umidade manteve-se elevada e com a temperatura baixa pode haver alteração no balanço hormonal das sementes (Cuquel, 1994), com aumento de promotores da germinação. Além do armazenamento dos frutos a baixa temperatura, cabe ressaltar o efeito do GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina na germinação das

sementes, principalmente com os frutos armazenados por 14 dias, quando a germinação foi maior do que com sementes sem os reguladores (tabela 1).

Dessa forma, a aplicação exógena dos reguladores teve efeito aditivo às concentrações endógenas de promotores, favorecendo a germinação, o que confirma relatos de que espécies com embriões rudimentares respondem a aplicação de reguladores como as giberelinas e citocininas (Zaidan & Barbedo, 2004), conforme observado em diversas espécies do gênero *Annona* (Jubes et al., 1975; Pawshe et al., 1997; Ferreira et al., 2002; Stenzel et al., 2003; Silva et al., 2007).

O aumento no potencial germinativo das sementes também pode estar relacionado com o incremento na massa seca das mesmas (Vidigal, et al., 2006). No caso das sementes de araticum-de-terra-fria a elevada germinação encontrada para as sementes que permaneceram 14 dias em repouso pós-colheita coincidiram com os maiores conteúdos de açúcares solúveis totais

Os açúcares solúveis são um dos primeiros compostos mobilizados durante a germinação das sementes, com a finalidade de fornecer matéria e energia para que este processo ocorra. Neste contexto, a presença de compostos fornecedores de energia imediata nas sementes permite aumento no vigor, resultando em maior porcentagem de germinação e de plântulas normais formadas (Buckeridge et al., 2004).

Durante a reidratação dos tecidos das sementes ocorre reparo de estruturas que podem ter sido danificadas, assim as reservas como a sacarose e alguns oligossacarídeos são utilizadas como energia imediata para realizar esses reparos. De maneira geral, estes compostos estão distribuídos nos vacúolos da maioria das células não havendo a necessidade de mobilização, resultando em ampla eficiência energética no início da germinação (Buckeridge et al., 2004).

Segundo Vidigal et al. (2006) o repouso pós-colheita dos frutos também pode levar à deterioração das sementes e conseqüente redução da porcentagem de germinação após as sementes terem adquirido o máximo potencial germinativo (maturação excessiva), como aconteceu aos 28 dias de armazenamento dos frutos de araticum de terra fria.

A deterioração das sementes leva a liberação de compostos celulares durante a embebição devido aos danos ocasionados nas membranas celulares (Barbedo & Cicero, 1998). A condutividade elétrica representa a quantidade de substâncias lixiviadas durante o processo de embebição das sementes, partindo desses resultados é possível inferir o quanto às membranas celulares foram danificadas (Pinã-Rodrigues et al.,

2004). Assim a redução na porcentagem de germinação das sementes de araticum-de-terra-fria está relacionada com a perda de material vegetal durante a embebição das sementes (Barbedo & Cicero, 1998), refletindo que o repouso pós-colheita dos frutos por períodos elevados levou a danos nas membranas celulares.

Observa-se, portanto que o repouso pós-colheita dos frutos de araticum-de-terra-fria por período de sete a 21 dias favoreceu o desenvolvimento do embrião, que pode estar relacionado com alterações no balanço entre promotores e inibidores da germinação, e resultou em aumento da germinação quando o armazenamento foi realizado por 14 dias. O uso de promotores da germinação como GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina, também leva há um estímulo à germinação com respostas ainda mais significativas.

4.2. Experimento II: Armazenamento das Sementes de *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer

Entre as espécies da família Annonaceae há diversidade quanto ao comportamento das sementes no armazenamento. Machado & Parente (1986) relatam que sementes de anonáceas devem permanecer em meio úmido após a extração dos frutos, caso contrário a viabilidade das sementes pode ser reduzida, influenciando na porcentagem final de germinação. Bernardes et al. (2007) verificaram que sementes de *Annona crassiflora* Mart. não permitem armazenamento por longos períodos, sendo necessário que a semeadura seja realizada logo após a extração dos frutos (Bernardes et al., 2007) o que concentra a germinação e a produção de mudas em um único período do ano, desde que as condições ambientais sejam favoráveis.

Por outro lado, Carvalho et al. (2001) relatam que sementes de *Annona glabra* L. suportam redução no teor de água e congelamento, com germinação acima de 90% após 365 dias de armazenamento. Porém o trabalho não investigou qualquer relação entre o comportamento tolerante ao armazenamento e o conteúdo de açúcares que podem auxiliar na manutenção da viabilidade das sementes.

Segundo Tokunaga (2000) a viabilidade das sementes de araticum de terra fria armazenadas é considerada baixa e em razão disso é recomendável que a semeadura seja realizada logo após a colheita, restringindo a produção em apenas uma época do ano. Neste experimento, os baixos valores de porcentagem de germinação sem o armazenamento das sementes sejam com o sem a aplicação de reguladores (46 e 42%), comprovaram a dormência da espécie, conforme relatado por diversos autores para o

gênero *Annona* (Jubes et al., 1975; Pawshe et al., 1997; Ferreira et al., 2002; Stenzel et al., 2003; Silva et al., 2007) e até pela própria espécie (Costa, 2009).

Vale ressaltar que todas as sementes foram extraídas de frutos sem repouso, o que significa que as sementes não haviam terminado o seu desenvolvimento, conforme observado no experimento anterior, o que justifica a baixa germinação inicial.

Além disso, as sementes não foram submetidas à secagem, mantendo elevado teor de água (30%) durante todo o período de armazenamento. Deste modo justificam-se as baixas porcentagens de germinação obtidas após o armazenamento independente da temperatura e o uso dos reguladores, pois sementes armazenadas com teores de água elevados (acima de 15%) sofrem danos maiores durante o armazenamento do que aquelas submetidas à secagem prévia (Carvalho, 2005), reduzindo a viabilidade (Rosa, 2004) devido a ocorrência de reações químicas que levam ao esgotamento das reservas destinadas ao embrião (Vertucci & Ross, 1993; Villela & Peres, 2004; Veiga et al., 2007).

Outro fator que interfere a manutenção da viabilidade das sementes é a temperatura de armazenamento (Carvalho, 2005). Temperaturas elevadas aumentam o metabolismo, pois permite a ocorrência de reações químicas (Vertucci & Roos, 1993) enquanto temperaturas baixas associadas a embalagens impermeáveis reduzem o metabolismo das sementes, refletindo no prolongamento da longevidade do material vegetal (Figliolia et al., 1993). Este fato pode ser verificado nas sementes de araticum-de-terra-fria, pois neste experimento o armazenamento a baixas temperaturas permitiu maior tempo de armazenamento enquanto temperaturas elevadas reduziram significativamente a germinação das sementes.

Para algumas espécies como *Dovyalis caffra* o ambiente de armazenamento é indiferente para a manutenção da viabilidade do lote de sementes, sendo significativo apenas o tempo em que a sementes permanecem armazenadas (Oliveira et al., 2006). Já sementes de uvaia (*Eugenia uvalha*) apresentam maior porcentagem de germinação e índice de velocidade de emergência de plântulas ao serem armazenadas em geladeira (13°C) quando comparado com o armazenamento em ambiente (30°C) (Scalon et al., 2004).

Apesar da considerável quantidade de carboidratos solúveis presentes nas sementes de araticum-de-terra-fria, observa-se que eles não foram suficientes para evitar a perda na viabilidade nas sementes durante o armazenamento. Buitink et al., (2000) relatam que esses açúcares aumentam a viscosidade citoplasmática e reduzem a

temperatura de congelamento do citoplasma, permitindo que as sementes suportem armazenamentos a baixas temperaturas, o que não ocorreu nas sementes de araticum-de-terra-fria pois mesmo as sementes armazenadas a 5°C e 15°C perderam a viabilidade após 90 dias. Neste contexto, Hoekstra et al., (2001) e Leopold et al. (2004) sugerem que além desses açúcares é necessário a adição de outras substâncias que irão auxiliar na prevenção das membranas aos danos por baixa temperatura de armazenamento.

Além disso, quanto maior a temperatura de armazenamento menor a quantidade de açúcares solúveis nas sementes de araticum-de-terra-fria indicando que o armazenamento das sementes com água do tipo III (30%) em maiores temperaturas como a de 25°C, favoreceram a metabolização dos açúcares solúveis liberando monômeros redutores como a glicose e a frutose, além de reduzir a viabilidade das sementes durante o armazenamento (Villela & Peres, 2004)

Assim, o comportamento das sementes perante o armazenamento está relacionado com vários fatores genéticos, intrínsecos da própria semente e do ambiente em que elas se encontram, sendo que quanto mais adequadas às condições de armazenamento maior será o tempo em que o material vegetal será mantido com boa qualidade (Hong & Ellis, 2003).

Neste contexto, as sementes de araticum de terra fria permitem armazenamento por um tempo relativamente baixo (90 dias) quando as sementes são armazenadas com teor de água elevado, o que não foi adequado para a espécie. Cabe ressaltar também que as menores temperaturas (5°C e 15°C) contribuem para manter a germinação por maior tempo, mas as aplicações dos reguladores vegetais não foram suficientes para manter a germinação dessas sementes elevada após armazenamento.

CONCLUSÃO

O repouso pós-colheita de frutos de araticum por 21 dias auxilia germinação das sementes.

As sementes recém extraídas com teor de água de 30% devem ser armazenadas a baixas temperaturas (5°C e 15°C) por no máximo 90 dias.

REFERÊNCIAS¹⁰

- AROUCHA, E.M.M. **Influência do estágio de maturação, da época de colheita e repouso dos frutos e do osmocondicionamento na qualidade fisiológica de sementes de mamão (*Carica papaya* L.)**. 2004. 102f. (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2004.
- BARBEDO, C.J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.55, n.2, p.249-259, 1998.
- BERNARDES, T.G.; ESTRELA, C.T.; NAVES, R.V.; REZENDE, C.F.A.; MESQUITA, M.A.M.; PIRES, L. L. Efeito do armazenamento e de fitohormônios na qualidade fisiológica de sementes de araticum (*Annona crassiflora* Mart.). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.37, n.3, p.163-168, 2007.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regra de Análise de Sementes**. Brasília: Departamento de Produção Vegetal, 2009. 398p.
- BONAVENTURE, L. El cultivo de la chirimoya e de su híbrido atemoya em Brasil. In: **First International Symposium on Cherimoya**, Equador, 1999.
- BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.dos; TINÉ, A.A.S.; AIDAR, A.P.M. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.31-50.
- BUITINK, J.; HEMMINGS, M.A.; HOEKSTRA, F.A.. Is there a roll for oligosacharrides in seed longevity? An assessment of intracellular glass stability. **Plant Physiology**, v.122, p.1217–1224, 2000.
- CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**, 4 edição: Funep, Jaboticabal, 2000. 588p.
- CARVALHO, J.E.U de; NASCIMENTO, W.M.O do; MULLER, C.H. Tolerância de sementes de araticum-do-brejo (*Annona glabra* L.) ao dessecação e ao congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.1, p.179-182, 2001.
- CARVALHO, N.M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 2005, 165p.
- COSTA, P.N. **Reguladores vegetais, luz e temperatura na germinação de sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer)**. 2009. 78p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- CUQUEL, F.L.; CARVALHO, M.L.M. de; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 51, n. 3, p. 415-421, 1994.

¹⁰ Referências nas normas da ABNT.

- DIAS, D.C.F. Maturação de sementes. **Seed News**, v.5, n.6, p.22-24, 2001.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 28, n.3, p.350-356, 1956.
- FERREIRA, G.; ERIG, P.R.; MORO, E. Uso de ácido giberélico em sementes de frutadão-conde (*Annona squamosa* L.) visando à produção de mudas em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.178-182, 2002.
- FIGLIOLIA, M.B.; OLIVEIRA, E.C.; PIÑA RODRIGUES, F.C.M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (Ogs.). **Sementes Florestais Tropicais**, Brasília, Abrates, 1993, p.137-174.
- GOMES, F.P. **Curso de Estatística experimental**. São Paulo, Nobel, 1990, 468p.
- HADAS, A. Water uptake germination of leguminous seeds under changing external water potential in osmotic solution. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.27, 1976.
- HOEKSTRA, F.A.; HAIGH, A.M.; TETTEROO, F.A.A.; ROEKEL, T. van. Changes in soluble sugars in relation to desiccation tolerance in cauliflower seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v.4, p.143-147, 1994.
- HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6, n.9, p.431-8, 2001.
- HONG, T.D.; ELLIS, R.H. Storage. In: **Tropical Tree Seed Manual**, USDA Forest Service's, Reforestation, Nurseries, & Genetics Resources, 2003.
- JUBES, J.T.; MARTINEZ, H.; PADILLA, E.; OSTE, C. A. Efectos de escarificación, medio, posición de siembra y ácido gibberélico, sobre la germinación de semillas em cherimoyas (*Annona cherimola* Mill). **Revista Agronómica N.O. Argentina**, v.12, n. 1-2, p.161-171, 1975.
- KAVATI, R.O. **A cultura da atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.)**. Campinas: Departamento de Comunicação e Treinamento (DCT) – SAA/CATI, 1997, 22p.
- LABOURIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *S. hispanica* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.59, n.1, p.37-56, 1987.
- LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, Monografia 24, 1983. 174p.
- MACHADO, J.W.B.; PARENTE, T.V. Germinação de seis espécies frutíferas nativas do cerrado em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 8, n.1, p. 35-38, 1986.

- MARTINS, G.N.; SILVA, R.F. da; PEREIRA, M. G.; ARAÚJO, E. F.; POSSE S.C.P. Influência do repouso pós-colheita de frutos na qualidade fisiológica de sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.2, p.142-146, 2006.
- MELO, D.L.B.; DAVIDE, A.C.; da SILVA, E.A.A.; FARIA, J.M.R.; QUEIROZ, S.E. Estudo morfo-anatômico do endosperma e embrião de sementes de *Annona crassiflora* Mart. **Revista Cerne**, Lavras, 2007.
- MISCHAN, M.M. & PINHO, S.Z. de. **Experimentação Agronômica: Dados Não Balanceados**. Fundibio, Botucatu, 1996, 456p.
- NELSON, N.A. A photometric adaptation of the somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.153, n.2, p.375-380, 1944.
- OLIVEIRA, I.V. de M.; CAVALCANTE, I.H.L., MARTINS, A.B.G. Armazenamento de sementes de doviális (*Dovyalis caffra*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.3, p.539-541, Dez. 2006.
- PAWSHE, Y.H.; PATIL, B.N.; PATIL, L.P. Effect of pregermination seed tratment on the germination and vigour of seedlings in custard apple (*Anona squamosa* L.). **Annals of plant physiology**, v.11, n.2, p.150-154, 1997.
- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; PEIXOTO, M.C. Tecnologia de sementes: Testes de qualidade. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ogs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-282.
- RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion oh the genus *Rollinia* A.ST.-Hil. **Annals Nathurhist. Mus. Wien**, v.108, p.191-205, 2007.
- RIZZINI, C.T. Dormancy in seeds of *Annona crassiflora* Mart. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.24, n.78, p.117-123, 1973.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v.1, p.499-514, 1973.
- ROSA, S.D.V.F. da; PINHO, E.R.V.; VIEIRA, E.S.N.; VEIGA, R.D.; VEIGA, A.D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas *LEA* associadas à tolerância de semesntes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p.91-101, 2005.
- SCALON, S de P.Q.; SCALON FILHO, H; RIGONI, M.R. Armazenamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia uvalha*). **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.6, p.1228-1234, 2004.
- SILVA, J.B.; NAKAGAWA, J. Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. **Informativo Abrates**, v.5, p.62-73, 1995.
- SILVA, E.A.A. da; MELO, D. L. B. de; BODE, A. C. D. N. de; G. B. ABREU, J. M. R. FARIA ; HILHORST, H. W. M. Germination ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. **Annals of Botany**, Oxford, v. 99, p.823–830, 2007.

- SILVA, L.B. da; MARTINS, C.C.; MACHADO, C.G.; NAKAGAWA, J. Estádios de colheita e repouso pós-colheita dos frutos na qualidade de sementes de mamoneira. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.31, n.1, p.50-59, 2009.
- SMET, S. DE; DAMME, P. V.; SCHELDEMAN, X.; ROMERO, J. Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.497, p.269-278, 1999.
- SOMOGYI, M. Determination of blood sugar. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.160, n.1, p.69-73, 1945.
- 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**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.305-308, 2003.
- TOKUNAGA, T. **A cultura da Atemóia**. Campinas: CATI, p. 80, 2000. (Boletim técnico, 233).
- VEIGA, A.D.; GUIMARÃES, R.M.; ROSA, S.D.V.F. da; PINHO E. V. de R. V.; SILVA L. H. de C. E.; VEIGA, A.D. Armazenabilidade de sementes de cafeeiro colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.29, n.1, p.83-91, 2007.
- VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. Seed storage temperature and relative humidity (correspondence). **Seed Science Research**, v.3, p.215-216, 1993.
- VERTUCCI, C.W.; FARRANT, J.M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ogs.). **Seed Development and Germination**. New York: M. Dekker, 1995. p.237-271.
- VIDIGAL, D. de S.; DIAS, D. C. F. dos S.; NAVEIRA, D. dos S. P. C.; ROCHA, F. B.; M. C. BHERING. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.3, p.87-93, 2006.
- VIEIRA, R. D.; DUTRA, A. S. Condutividade elétrica em sementes de abóbora, híbrido Bárbara. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.24, n.3, p.305-308, 2006.
- VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, secagem e beneficiamento de sementes. In: FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, R. (Ogs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.265-281
- ZAIDAN, L.B.P.; BARBEDO, C.J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Ogs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.135-146.

Tabela 1: Germinação [G (%)], tempo médio de germinação [TMG (dias)] e índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer) após diferentes períodos de Repouso Pós-Colheita dos frutos (RPCF) e tratamentos das sementes com GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina.

RPCF (dias)	GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (mg L ⁻¹)		Médias
	0	800	
G (%)			
0	46 ab A	42 b A	44 b
7	62 a A	67 a A	64,5 a
14	57 a B	72 a A	64,5 a
21	49 a A	41 b A	45 b
28	28 b A	23 b A	25,5 c
Médias	48,4 A	49 A	
C.V. (%)	20,71		
TMG (dias)			
0	25,92 c A	26,09 a A	26 c
7	35,31 ab A	28,86 a B	32,25 ab
14	39,22 a A	29,21 a B	34,37 a
21	32,85 b A	24,10 a B	28,37 bc
28	31,30 bc A	23,67 a B	27,62 c
Médias	33 A	26,45 B	
C.V. (%)	10,39		
IVG			
0	6,58 a A	7,15 a A	6,87 b
7	6,62 a A	11,2 a A	8,91 ab
14	7,48 a A	8,86 a A	8,17 ab
21	10,55 a A	15,09 a A	12,82 a
28	6,21 a A	7,56 a A	6,89 b
Médias	7,49 A	9,97 A	
C.V. (%)	45,19		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2: Condutividade elétrica C.E (μScm²/g) das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer), após diferentes períodos de repouso pós-colheita dos frutos (RPCF).

RPCF (dias)	C.E (μScm ² /g)
0	0,003 c
7	0,002 c
14	0,006 bc
21	0,01 b
28	0,017 a
C.V (%)	28,25

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3: Plântulas Normais (%), comprimento médio de raiz (cm) e comprimento médio da parte aérea (cm) do araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H.

Rainer) após diferentes períodos de repouso pós-colheita dos frutos e tratamentos das sementes com GA₄₊₇ + N(fenilmetil)-aminopurina.

RPCF (dias)	GA ₄₊₇ + N-(fenilmetil)-aminopurina (mg L ⁻¹)		Médias
	0	800	
Plântulas Normais (%)			
0	37 ab A	21 c B	29 bc
7	47 a A	47 b A	47 a
14	48 a B	69 a A	58,5 a
21	38 ab A	24 c B	31 b
28	24 b A	8 c B	16 c
Médias	38,8 A	33,8 A	
C.V. (%)	26,13		
Comprimento Médio de Raiz (cm)			
0	5,05 a A	3,21 a B	4,25 a
7	4,45 a A	3,82 a A	4,25 a
14	3,51 a A	3,62 a A	3,62 a
21	4,49 a A	2,85 a B	3,75 a
28	4,15 a A	2,69 a B	3,50 a
Médias	4,40 A	3,35 A	
C.V. (%)	25,26		
Comprimento Médio de Parte Aérea (cm)			
0	8,42 a A	10,32 ab A	9,62 ab
7	11,00 a A	12,72 a A	12,0 a
14	7,81 a A	10,38 ab A	9,25 ab
21	8,49 a A	11,04 ab A	9,87 ab
28	8,11 a A	7,07 b A	7,75 b
Médias	8,95 B	10,45 A	
C.V. (%)	23,73		

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

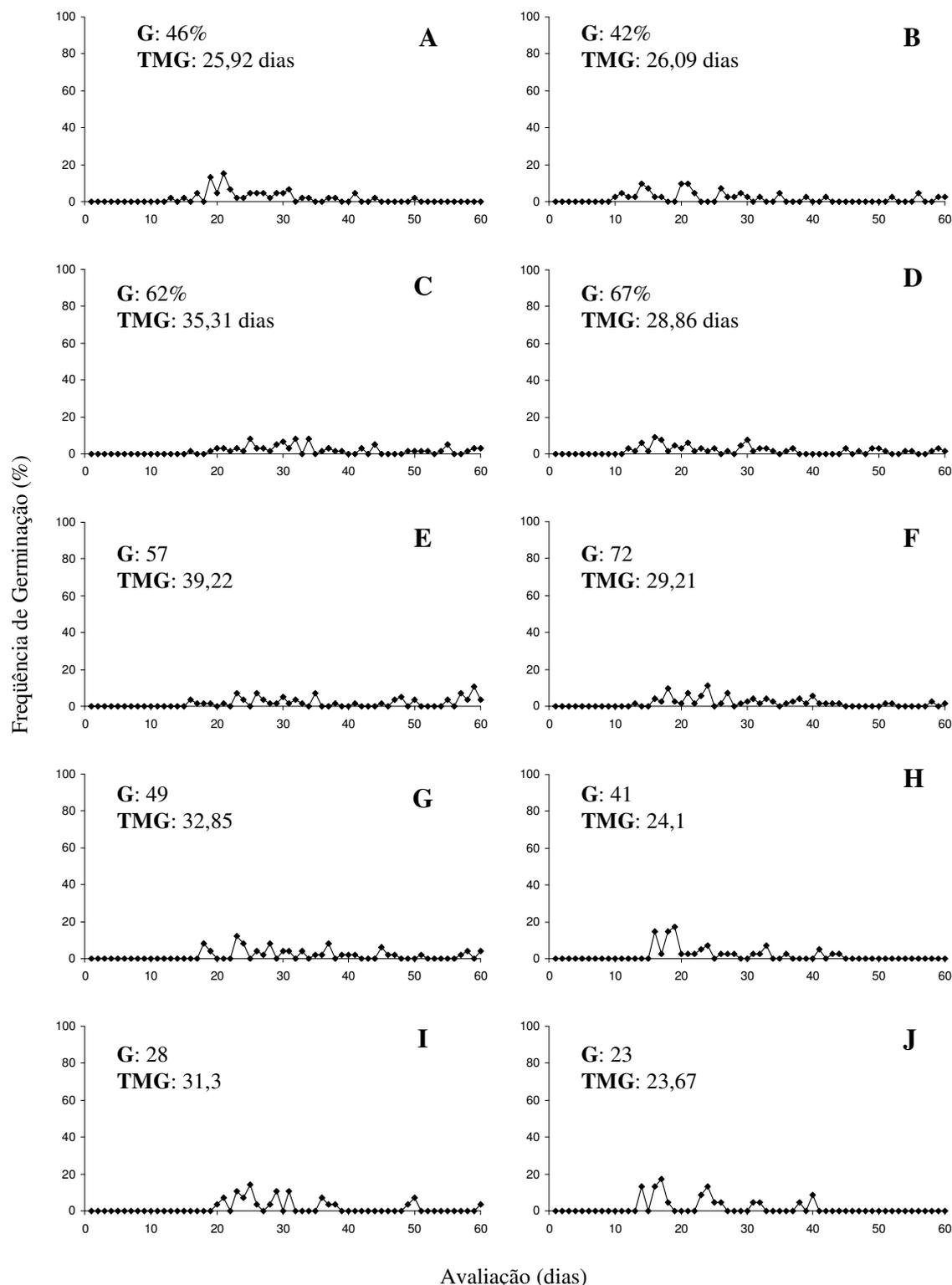


Figura 1: Frequência relativa de germinação das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) após diferentes períodos de repouso pós-colheita dos frutos e tipo de embebição: **A:** 0 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em água destilada; **B:** 0 dias de repouso pós-colheita dos frutos/ sementes embebidas em 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina; **C:** 7 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em água destilada; **D:** 0 dias de repouso pós-colheita dos frutos/ sementes embebidas em 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇

N-(fenilmetil)-aminopurina; **E**: 14 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em água destilada; **F**: 14 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina; **G**: 21 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em água destilada; **H**: 21 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina; **I**: 28 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em água destilada; **J**: 28 dias de repouso pós-colheita dos frutos/sementes embebidas em 800 mg L⁻¹ de GA₄₊₇ N-(fenilmetil)-aminopurina;

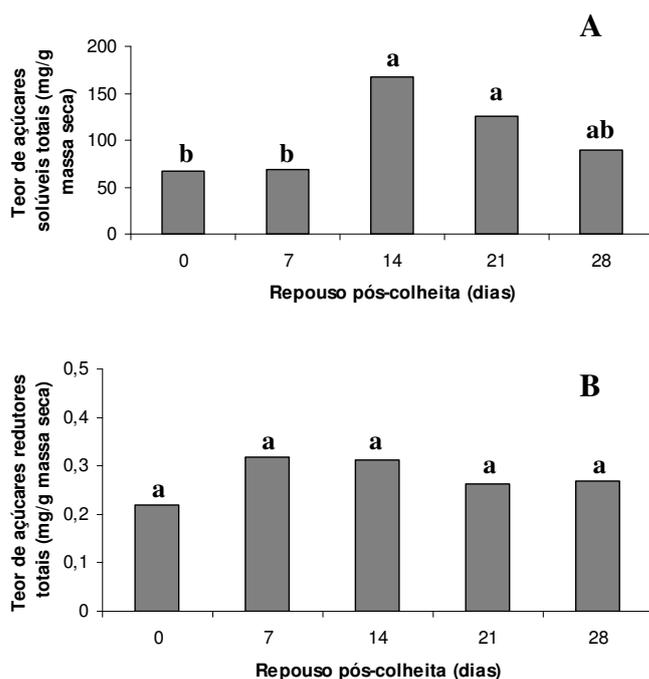


Figura 2: Conteúdo de açúcares solúveis totais (**A**) e açúcares redutores totais (**B**), das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) após diferentes períodos de repouso pós-colheita dos frutos.

Tabela 4: Germinação [G (%)], tempo médio de germinação [TMG (dias)] e índice de velocidade de germinação (IVG), plântulas normais [PN (%)], comprimento médio de raiz [CMR (cm)] e comprimento médio da parte aérea [CMPA (cm)] das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer) após diferentes períodos, temperaturas de armazenamento e tipos de embebição.

Temperatura	Tempo	Embebição	G (%)	TMG	IVG	PN	CMR	CMPA
-	-	0 mg L ⁻¹	46	25,92	6,59	37,00	5,05	8,43
-	-	800 mg L ⁻¹	42	26,09	7,15	21,00	3,21	10,33
5°C	30	0 mg L ⁻¹	25**	24,39	8,18	38,66	2,75**	5,90
5°C	30	800 mg L-1	30**	20,57	17,20**	0,00**	0,00**	0,00**
5°C	60	0 mg L-1	34	25,01	6,00	55,90	2,07**	6,07
5°C	60	800 mg L-1	23**	21,75	8,66	12,50	0,51**	2,72
5°C	90	0 mg L-1	18**	21,04	6,51	43,45	2,69**	8,81
5°C	90	800 mg L-1	21**	19,60	7,05	24,40	1,38**	7,69
5°C	120	0 mg L-1	12**	23,00	4,79	25,00	1,47**	4,50
5°C	120	800 mg L-1	12**	24,99	3,27	17,50	1,25**	5,75
5°C	150	0 mg L-1	11**	20,98	6,40	35,42	2,00**	5,06
5°C	150	800 mg L-1	7**	10,83	3,09	6,25	0,50**	2,75
15°C	30	0 mg L-1	25**	21,06	10,67	36,96	2,29**	5,82
15°C	30	800 mg L-1	27**	20,86	11,48	29,76	1,15**	4,61
15°C	60	0 mg L-1	23**	24,78	5,40	84,38	3,29	7,76
15°C	60	800 mg L-1	31	19,94	11,81	22,87	1,75**	7,67
15°C	90	0 mg L-1	18**	25,25	4,44	61,67	2,56**	8,53
15°C	90	800 mg L-1	20**	17,95	6,96	38,54	1,77**	8,88
15°C	120	0 mg L-1	8**	13,00	3,61	37,50	1,04**	4,75
15°C	120	800 mg L-1	10**	23,40	3,05	25,00	0,38**	1,50
15°C	150	0 mg L-1	7**	22,50	2,80	50,00	1,11**	3,81
15°C	150	800 mg L-1	3**	20,00	1,75	50,00	0,50**	4,38
25°C	30	0 mg L-1	9**	26,23	3,19	52,50	3,50	8,31
25°C	30	800 mg L-1	19**	16,41	9,38	12,50	0,67**	2,04
25°C	60	0 mg L-1	16**	27,58	4,50	75,00	4,20	7,88
25°C	60	800 mg L-1	13**	22,19	4,43	42,50	1,08**	6,76
25°C	90	0 mg L-1	14**	32,42	3,19	54,17	3,21	6,06
25°C	90	800 mg L-1	4**	14,88	3,66	0,00**	0,00**	0,00**
25°C	120	0 mg L-1	4**	19,13	2,15	25,00	0,25**	0,50**
25°C	120	800 mg L-1	3**	9,88**	2,21	0,00**	0,00**	0,00**
25°C	150	0 mg L-1	0**	0,00**	0,00**	0,00**	0,00**	0,00**
25°C	150	800 mg L-1	0**	0,00**	0,00**	0,00**	0,00**	0,00**

Médias seguidas de ** diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Dunnett à 5% de probabilidade.

Tabela 5: Germinação [G (%)], tempo médio de germinação [TMG (dias)] e índice de velocidade de germinação (IVG), plântulas normais (%), comprimento médio de raiz (cm) e comprimento médio da parte aérea (cm) das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldt.) H. Rainer) após diferentes períodos e temperaturas de armazenamento.

Tempo de Armazenamento (dias)	Temperatura de Armazenamento (°C)		
	5°C	15°C	25°C
	G (%)		
30	28 a A	26 a A	14 a B
60	29 a A	27 a A	15 a B
90	20 ab A	19 a A	9 ab B
120	12 bc A	9 b AB	4 b B
150	9 c A	5 b AB	-
C.V. (%)		46,61	
	TMG (dias)		
30	23 a A	21 a A	21 a A
60	23 a A	22 a A	25 a A
90	21 a A	22 a A	24 a A
120	24 a A	18 a AB	15 a B
150	16 a A	21 a A	-
C.V. (%)		38,37	
	IVG		
30	13 a A	11 a AB	6 a B
60	7 ab A	9 ab A	5 ab A
90	7 b A	6 abc A	3 ab A
120	4 b A	3 bc A	2 ab A
150	5 b A	2 c A	-
C.V. (%)		77,61	
	Plântulas Normais (%)		
30	19 a A	33 a A	33 a A
60	34 a A	54 a A	59 a A
90	34 a A	50 a A	27 a A
120	21 a A	31 a A	13 b A
150	21 a AB	50 a A	-
C.V. (%)		94,1	
	CMR (cm)		
30	1,5 a A	1,75 ab A	2,12 a A
60	1,62 a A	2,62 a A	1,75 a A
90	2,12 a A	2,37 a A	1,62 a A
120	1,37 a A	0,75 b A	0,12 b A
150	1,37 a A	0,87 b AB	-
C.V. (%)		69,94	
	CMPA (cm)		
30	3 a A	5,12 ab A	5,12 ab A
60	5,12 a A	7,62 ab A	7,37 a A

90	8,37 a A	8,75 a A	3,12 ab B
120	5,12 a A	3,12 b AB	0,25 b B
150	4 a A	4,25 ab A	-
C.V. (%)		83,79	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 6: Conteúdo de açúcares solúveis totais (mg/g massa seca) e açúcares redutores totais (mg/g massa seca), das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer) após diferentes períodos e temperaturas de armazenamento.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Solúvel	Redutor
-	-	67,74	0,221
-	-	68,31	0,319
30	5	71,27	0,349**
30	15	62,82	0,360
30	25	49,13	0,221
60	5	31,38**	0,397**
60	15	33,53**	0,338
60	25	32,01**	0,333
90	5	53,34	0,142
90	15	61,63	0,171
90	25	45,78	0,208
120	5	3,60**	0,315
120	15	3,40**	0,428**
120	25	3,55**	0,493**
150	5	4,30**	0,277
150	15	4,23**	0,390**
150	25	3,97**	0,383**

Médias seguidas de ** diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Dunnett à 5% de probabilidade.

Tabela 7: Germinação [G (%)], tempo médio de germinação [TMG (dias)] e índice de velocidade de germinação (IVG), plântulas normais (%), comprimento médio de raiz (cm) e comprimento médio da parte aérea (cm) das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer) após diferentes períodos de armazenamento e tipos de embebição das sementes.

Tempo de Armazenamento (dias)	GA ₄₊₇ + N(fenil)metil-aminopurina (mg L ⁻¹)	
	0	800
	G (%)	
30	20 a B	25 a A
60	24 a A	22 ab A
90	17 a A	15 bc A
120	8 b A	8cd A
150	6 b A	3 d A
C.V. (%)	46,61	
	TMG (dias)	
30	24 a A	19 a A
60	26 a A	21 a A

90	26 a A	18 ab B
120	19 ab A	19 a A
150	15 b A	10 b A
C.V. (%)		38,37
IVG		
30	7 a B	13 a A
60	5 a A	8 ab A
90	5 a A	6 bc A
120	4 a A	3 c A
150	3 a A	2 c A
C.V. (%)		77,61
Plântulas Normais (%)		
30	43 ab A	14 a B
60	72 a A	26 a B
90	53 ab A	21 a B
120	29 b A	14 a A
150	29 b A	19 a A
C.V. (%)		94,1
CMR (cm)		
30	2,91 a A	0,66 a B
60	3,41 a A	1,25 a B
90	2,91 a A	1,16 a B
120	0,91 b A	0,58 a A
150	1,16 b A	0,33 a A
C.V. (%)		69,94
CMPA (cm)		
30	6,66 abc A	2,16 a B
60	7,66 ab A	5,75 a A
90	8,00 a A	5,50 a A
120	3,25 bc A	2,41 a A
150	3,08 c A	2,41 a A
C.V. (%)		83,79

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8: Germinação [G (%)], tempo médio de germinação [TMG (dias)] e índice de velocidade de germinação (IVG), plântulas normais (%), comprimento médio de raiz (cm) e comprimento médio da parte aérea (cm) das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schltd.) H. Rainer) após armazenamento em diferentes temperaturas e tipos de embebição das sementes.

Temperatura de Armazenamento (°C)	GA 4+7 + N(fenil)metil-aminopurina (mg L ⁻¹)	
	0	800
G (%)		
5	20 a A	19 a A
15	16 a A	18 a A
25	9 b A	8 b A
C.V (%)	46,61	
TMG (dias)		
5	23 a A	20 a A
15	21 a A	20 a A
25	21 a A	13 b B
C.V (%)	38,37	
IVG		
5	6 a A	8 a A
15	5 ab A	7 ab A
25	3 b A	4 b A
C.V (%)	77,61	
Plântulas Normais (%)		
5	40 a A	12 a B
15	54 a A	33 a B
25	41 a A	11 a B
C.V (%)	94,1	
CMR (cm)		
5	2,45 a A	0,75 ab B
15	2,1 a A	1,25 a B
25	2,25 a A	0,4 b B
C.V (%)	69,94	
CMPA (cm)		
5	6,45 a A	3,8 ab B
15	6,15 a A	5,4 a A
25	4,6 a A	1,75 b B
C.V (%)	83,79	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9: Conteúdo de açúcares solúveis totais (mg/g massa seca) e açúcares redutores totais (mg/g massa seca), das sementes de araticum de terra fria (*Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer) após diferentes períodos e temperaturas de armazenamento.

Tempo de Armazenamento (dias)	Temperatura de Armazenamento (°C)		
	5°C	15°C	25°C
Açúcares solúveis totais (mg/g massa seca)			
30	71,25 a A	32,25 b B	3,00 a C
60	62,75 ab A	53,25 a A	3,50 a B
90	49,00 bc A	61,50 a A	4,25 a B
120	31,25 c A	45,00 ab A	4,00 a B
150	33,75 c A	3,50 c B	4,25 a B
C.V. (%)		32,05	
Açúcares redutores totais (mg/g massa seca)			
30	0,35 a AB	0,33 a B	0,42 a A
60	0,36 a B	0,14 c C	0,49 a A
90	0,22 b AB	0,17 c B	0,27 b A
120	0,39 a A	0,2 bc B	0,38 a A
150	0,33 a A	0,31 ab A	0,38 a A
C.V. (%)		17,10	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando a expansão nas áreas de cultivo de espécies da família Annonaceae e a necessidade de implantação de áreas cada vez mais produtivas, o estudo de espécies potenciais para uso como porta-enxerto é de grande importância. Neste contexto, pesquisas voltadas a compreender os mecanismos envolvidos na manutenção da viabilidade das sementes após secagem, armazenamento e germinação auxiliam os produtores na manutenção dessas áreas de cultivo.

As sementes de araticum-de-terra-fria possuem dormência devido à presença de um embrião rudimentar, que pode ser superada pela aplicação exógena de reguladores vegetais promotores da germinação e também pelo repouso pós-colheita dos frutos, como verificado neste trabalho. A espécie não apresenta problemas quanto à secagem, pois germinaram bem mesmo após redução de água para 12%, porém ainda há necessidade de verificar se quando secas a viabilidade dessas sementes se mantêm ao longo do tempo, pois quando armazenadas com teor de água inicial (30%) a germinação foi reduzida.

O fato das sementes não apresentarem elevada germinação quando estavam com 5% de água pode estar relacionado com o balanço hormonal entre inibidores e promotores da germinação. Assim, verificar qual a relação hormonal nessas sementes durante a maturação e após secagem das sementes pode confirmar se o processo de secagem levou a um aumento na concentração do ácido abscísico nas sementes de araticum-de-terra-fria, prejudicando a germinação desta espécie.

Apesar dos resultados com açúcares solúveis demonstrarem que a sacarose está diretamente relacionada à tolerância a dessecação nessas sementes, ainda há necessidade de investigar outros mecanismos envolvidos nesse processo, dentre eles a presença de proteínas LEA e complexos enzimáticos.

6. CONCLUSÕES

- As sementes de *Annona emarginata* (Schldtl.) H. Rainer são tolerantes a secagem até níveis de 12% de água e a sacarose é o açúcar envolvido na aquisição da tolerância à dessecação.
- A aplicação de GA₄₊₇+CK é adequada para superar a dormência dessa espécie e quanto maior o nível de secagem das sementes, maior a concentração necessária para a germinação.
- O repouso pós-colheita de frutos de araticum-de-terra-fria por 21 dias auxilia na superação da dormência das sementes.
- As sementes recém extraídas devem ser armazenadas a baixas temperaturas (5°C e 15°C) por no máximo 90 dias.

7. REFERÊNCIAS¹¹

APG II. 2003 An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436 Disponível em:

<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118872219/abstract>

Acesso em: 24/08/2007.

AROUCHA, E.M.M. **Influência do estágio de maturação, da época de colheita e repouso dos frutos e do osmocondicionamento na qualidade fisiológica de sementes de mamão (*Carica papaya* L.)**. 2004. 102f. (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2004.

ARAÚJO, G.P.; NETO, J.P.S.; MICLOS, J.S.; COTRIM, A.T.C. Superação de dormência em sementes de *Annona crassiflora* Mart. (araticum). In.: **IX Simpósio Nacional Cerrado**, 2008. Brasília-DF.

BARBEDO, C.J.; BILIA, D. A. C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.55, n. especial, p.121-125, 1998.

BARBEDO, C.J.; BILIA, D. A. C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da mata atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.25, n.4, p.431-439, 2002.

BARBEDO, C.J.; CICERO, S. M. Utilização do teste de condutividade elétrica para previsão do potencial germinativo de sementes de ingá. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.55, n.2, p.249-259, 1998.

BERJAK P.; FARRANT, J.M.; PAMMENTER, N.W. The basis of recalcitrant seed behaviour. In: **Recent advances in the development and germination of seeds**, Taylorson RB, ed. New York, p.89–108, 1989.

BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. **Seed Science Research**, v.16, p.1–15, 2006.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From Avicennia to Zizania: Seed Recalcitrance in Perspective. **Annals of Botany**. p. 1-16, 2007.

BERNARDES, T.G.; ESTRELA, C.T.; NAVES, R.V.; REZENDE, C.F.A.; MESQUITA, M.A.M.; PIRES, L. L. Efeito do Armazenamento e de Fitohormônios na Qualidade Fisiológica de Sementes de Araticum (*Annona crassiflora* Mart.). **Pesquisa Agropecuaria Tropical**, Goiânia, v.37, n.3, p.163-168, 2007.

BLACKMAN, S. A.; WETTLAUFER, S. H.; OBENDORF, R. L.; LEOPOLD, A. C. Maturation proteins associated with desiccation tolerance in soybean. **Plant Physiology**, v.96, p.868-874, 1991.

¹¹ Referências nas Normas da ABNT

- BONAVENTURE, L. El cultivo de la chirimoya e de su híbrido atemoya em Brasil. In: **First International Symposium on Cherimoya**, Equador, 1999.
- BORGHETTI, F. Dormência embrionária. In: FERREIRA, A.G. & BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.109-123.
- BRADFORD, K. J.; CHANDLER, P. M. Expression of “dehydrin-like” proteins in embryos and seedlings of *Zizania palustris* and *Oryza sativa* during dehydration. **Plant Physiology**, v.99, p.488-494, 1992.
- BRAGA, J.F. **Efeito de reguladores vegetais na germinação de sementes e desenvolvimento de plantas de atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *A. squamosa* L.) cv.Gefner**. 80f. Tese (doutorado) Botucatu, 2008.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. **Regra de Análise de Sementes**. Brasília: departamento de produção vegetal, 2009, 398p.
- BUCKERIDGE, S., M.; TINÉ, M. A. S.; SANTOS, H. P.; LIMA, D. U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes, estrutura, metabolismo, função e aspectos ecológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 137-162, jul., 2000.
- BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.dos; TINÉ, A.A.S.; AIDAR, A.P.M. Mobilização de reservas. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.31-50.
- BUITINK, J.; LEPRINCE, O. Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. **Cryobiology**, v.48, p.215–228, 2004.
- CAMPBELL, C.W.; POPENOE, J. Effect of gibberellic acid on seed dormancy of *Annona diversifolia* saff. **Tropical Region America sociedad Horticultural Service**, v.11, p. 31-36, 1968.
- CARVALHO, N.M. **A secagem de sementes**. Jaboticabal: Funep, 2005, 165p.
- CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 edição, Jaboticabal: Funep, São Paulo, 2000.
- CARVALHO, J.E.U de; NASCIMENTO, W.M.O do; MULLER, C.H. Tolerância de sementes de araticum-do-brejo (*Annona glabra* L.) ao dessecamento e ao congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.1, p.179-182, 2001.
- CARRARO, A. F., CUNHA, M.M. **Manual de Exportação de Frutas**. Brasília: Frupex, 1994. 98p.
- CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.51-68.

CAVARIANI, C. Secagem estacionária de sementes de milho com distribuição radial do fluxo de ar. 1996. 85f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Esalq-USP.

CONNOR, K.F.; SOWA, S. Effects of desiccation on the physiology and biochemistry of *Quercus alba* acorns. **Tree Physiology**, v.23, p.1147–1152, 2003.

COSTA, C. J.; CARMONA, R.; NASCIMENTO, W.N. Idade e tempo de armazenamento de frutos e qualidade fisiológica de sementes de abóbora híbrida. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.1, p.127-132, 2006.

COSTA, P.N. **Reguladores vegetais, luz e temperatura na germinação de sementes de araticum-de-terra-fria (*Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer)**. 2009. 78p. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências, UNESP – Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. 18. ed. New York: Columbia University Press, 1981. 1962p.

CUQUEL, F.L.; CARVALHO, M.L.M. de.; CHAMMA, H. M. C. P. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 51, n. 3, p. 415-421, 1994.

DIAS, D.C.F. Maturação de sementes. **Seed News**, v.5, n.6, p.22-24, 2001.

DELSENY, M.; BIES-ETHEVE, N.; CARLES, C.; VICIENT, C.; RAYNAL, M.; GRELLET, F.; ASPART, L. Late embryogenesis abundant (LEA) protein gene regulation during Arabidopsis seed maturation. **Journal of Plant Physiology**, v.158, p.419-427, 2001.

DUBOIS, M. GILLES, K. A. , HAMILTON, J. K. , REBERS, P. A. , SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v.28, n.3, p.350-356, 1956.

FERREIRA, G.; ERIG, P.R.; MORO, E. Uso de ácido giberélico em sementes de frutadão-de-conde (*Annona squamosa* L.) visando à produção de mudas em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 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**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 121-124. 2006.

FINCH-SAVA, G.E.; GRANGE, R.I.; HENDRY, G.A.F.; ATHERTON, N.M. Embryo water status and loss of viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. In: CÔME, D.; CORBINEAU, F. (Orgs.), **Basic and applied aspects of seed biology**. Paris: Asfis, 1993. p.723–730.

FUNGUETTO, C.I. Efeitos da secagem intermitente sobre a germinação de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.), **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.10, n.1, p.34-41, 2003.

GARCIA, D.C.; BARROS, A.C.S.A.; PESKE, S.T.; MENEZES, N.L. A secagem de sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.2, p.603-608, 2004.

GEET, O.H.; PROBERT, R.J.; COOMBEER, S.A. 'Dehydrin-like' proteins and desiccation tolerance in seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v.4, p.135-141, 1994.

GOMES, F.P. 1990. **Curso de Estatística Experimental**, Nobel, São Paulo, 468p.

GREGGAINS, V.; FINCH-SAVAGE, W.E.; QUICK, W.P.; ATHERTON, N.M. Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. **New Phytologist**, v.148, p.267-276, 2000.

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

HELLMANN, M.E.; MELLO, J.I.de O.; BARBEDO, C.J.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. de C.L. Variações dos carboidratos de reserva de sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) armazenadas sob diferentes temperaturas. **Hoehnea**, São Paulo, v.35, n.2, p.255-264, 2008.

HENDRY, G.A.F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Science Research**, Cambridge, v.3, p. 141-153, 1993.

HOEKSTRA, F.A.; GOLOVINA, E.A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.6, n.9, p.431-8, 2001.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. Storage. In: **Tropical Tree Seed Manual**, USDA Forest Service's Reforestation, Nurseries & Genetics Resources, 2003.

IIDA, Y.; WATABE, K.; KAMADA, H.; HARADA, H. Effects of abscisic acid on the induction of desiccation tolerance in carrot somatic embryos. **Journal of Plant Physiology**, v.140, p.356-360, 1992.

ILLING, N.; DENBY, K.J.; COLLETT, H.; SHEN, A.; FARRANT, J.M. The signature of seeds in resurrection plants: a molecular and physiological comparison of desiccation tolerance in seeds and vegetative tissues. **Integr. Comp. Biol.**, v.45, p.771-787, 2005.

JOHANSEN, D.A. Plant microtechnique. **New York**: McGraw-Hill Book Company, 1940, 523p.

JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. 13 ed. São Paulo: Nacional, 2002. 286p.

JOSÉ, S.C.B.R.; PINHO, É.V.R.V.; DIAS, M.A.G.S. Açúcares e tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de Milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.2, p.60-68, 2006.

- JUBES, J.T.; MARTINEZ, H.; PADILLA, E.; OSTE, C. A. Efectos de escarificación, medio, posición de siembra y ácido gibberellico, sobre la germinación de semillas em cherimoyas (*Annona cherimola* Mill). **Revista Agronómica N.O. Argentina**, v.12, n. 1-2, p.161-171, 1975.
- KAVATI, R.O. **A cultura da atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.)**. Campinas: Departamento de Comunicação e Treinamento (DCT) – SAA/CATI, 1997, 22p.
- KIGEL, J.; GALILI, G. **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. 853p.
- KOSTER, K. L.; LEOPOLD, A. C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, v. 88, p.829-832, 1988.
- LABOURIAU, L.G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *S. hispanica* L. 1. Temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.59, n.1, p.37-56, 1987.
- LABORIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria – Geral da OEA, Série Biologia, Monografia 24, 1983. 170p.
- LEPRINCE, O.; HENDRY, G. A. F.; MCKERSIE, B. D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v.3, p.231-246, 1993.
- LEUNG, J, GIRAUDAT J. Abscisic acid signal transduction. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.49, p.199-222, 1998.
- MAAS, P.J.M.; KAMER, H.M.; JUNIKKA, L.; SILVA, R.M.; RAINER, H. Annonaceae from Central-eastern Brazil. Disponível em: http://www.jbrj.gov.br/publica/rodriguesia/Rodrig52_80/6-maas.pdf Acesso em 25/09/2006.
- MACHADO, J.W.B.; PARENTE, T.V. Germinação de seis espécies frutíferas nativas do cerrado em condições de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 8, n.1, p. 35-38, 1986.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. FEALQ, Piracicaba, 2005, 495p.
- MARTINS, G.N.; SILVA, R.F. da; PEREIRA, M. G.; ARAÚJO, E. F.; POSSE S.C.P. Influência do repouso pós-colheita de frutos na qualidade fisiológica de sementes de mamão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.2, p.142-146, 2006.
- MARTINS, L.; SILVA, W.R. Comportamento fisiológico de sementes de tangerina (*Citrus reticulata* Blanco) submetidas à desidratação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.1, p.8-10, 2006.

- MAZIA, D.; BREWER, P.A.; ALFERT, M. The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. **Biological Bulletin**, v.104, p.57-67, 1953.
- MELO, D.L.B.; DAVIDE, A.C.; da SILVA, E.A.A.; FARIA, J.M.R.; QUEIROZ, S.E. Estudo morfo-anatômico do endosperma e embrião de sementes de *Annona crassiflora* Mart. **Revista Cerne**, Lavras, 2007.
- MELLO, N. T. C. de; NOGUEIRA, E. A.; MAIA, M. L. Atemóia: perspectivas para a produção paulista. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 38, n. 9, p. 7-13, set. 2003.
- MISCHAN, M.M. & PINHO, S.Z. de. **Experimentação Agrônômica-Dados Não Balanceados**. Botucatu: Fundibio, 1996. 456p.
- MOORE, J.P.; LE, N.T.; BRANDT, W.F.; DRIOUICH, A.; FARRANT, J.M. Towards a systems-based understanding of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, v.14, n.2, p.110-117, 2009.
- NAKAGAWA, J.; SATO, O.; BARBEDO, C.J.; BARBEDO, A.S.C. Efeito Da Idade E Do Repouso Pós-Colheita De Frutos De Pepino Na Semente Armazenada. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v.34, n.5, p.839-847, 1999.
- NAKAGAWA, J. et al. Maturação, formas de secagem e qualidade fisiológica de sementes de mucuna-preta. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.27, n.1, p.45-53, 2005.
- NASCIMENTO, W.O. do; SILVA, W.R. da. **Comportamento fisiológico de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* mart.) submetidas à desidratação**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.27, n.3, p.349-351, 2005.
- NELSON, N.A. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.153, n.2, p.375-380, 1944.
- OLIVEIRA, M.C. **Germinação de sementes de atemóia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) submetidas a tratamentos com ácido giberélico (GA₃) e Ethephon**. 73 p. Dissertação (Mestrado), Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2004.
- OLIVEIRA, I.V. de M.; CAVALCANTE, I.H.L., MARTINS, A.B.G. Armazenamento de sementes de doviális (*Dovyalis caffra*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.3, p. 539-541, 2006.
- ONO, E.O.; LEONEL, S.; RODRIGUES, J.D. Efeito de fitorreguladores na germinação de sementes de citrumelo 'Swingle'. **Semina**, Londrina, v.16, n.1, p.47-50, 1995.
- PAMMENTER N.W, BERJAK P. Evolutionary and ecological aspects of recalcitrant seed biology. **Seed Science Research**, Cambridge, v.10, p.301–306, 2000.
- 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.

PINTO, A.C.Q. Influência de hormônios sobre o poder germinativo de sementes de graviola. **CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 3, 1975, Rio de Janeiro. Anais..., Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1976.

PINTO, A.C.Q.; CORDEIRO, M.C.R.; ANDRADE, S.R.M.; FERREIRA, F.R.; FILGUEIRAS, H.A.C.; ALVES, R.E. **Annona species**. Southampton: **Universidade de Southampton**, 2005. 284p. Disponível em: <[http://www.icuc-iwmi.org/files/R7187 - Annona%20monograph%202005.pdf](http://www.icuc-iwmi.org/files/R7187_-_Annona%20monograph%202005.pdf)> Acesso em: 18/11/2008.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; PEIXOTO, M.C. Tecnologia de sementes: Testes de qualidade. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-282.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. Brasília, DF. 2.ed., 1985, 289p.

PORTELLA, J. A.; EICHELBERGER, L. **Secagem de grãos**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 194 p.

PUKACKA, S.; WÓJKIEWICZ, E. Carbohydrate metabolism in Norway maple and sycamore seeds in relation to desiccation tolerance. **Journal of Plant Physiology**, v.159, p.273–279, 2002.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): Inclusion of the genus *Rollinia* A.St.-Hil. **Annals of Botany**, v.108, p.191-205, 2007.

RIZZINI, C.T. Dormancy in seeds of *Annona crassiflora* Mart. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 24, n. 78, p. 117-123, 1973.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v.1, p.499-514, 1973.

ROBERTS, E.H.; ELLIS, R.H. Water and seed survival. **Annals of Botany**, Oxford, v.63, p.32-52, 1989.

ROSA, S.D.V.F. da; PINHO, E.R.V.; VIEIRA, E.S.N.; VEIGA, R.D.; VEIGA, A.D. Enzimas removedoras de radicais livres e proteínas LEA associadas à tolerância de sementes de milho à alta temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p. 91-101, 2005.

SÃO JOSÉ, A. R. Aspectos gerais das anonáceas no Brasil. In: SÃO JOSÉ, A.R. et al. (Orgs.). **Anonáceas: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1997.

SCALON, S de P.Q.; SCALON FILHO, H; RIGONI, M.R. Armazenamento e germinação de sementes de uvaia *Eugenia uvalha* Cambess. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.6, p.1228-1234, 2004.

SEIFFERT, M.; ALVARENGA, A.A.; GUIMARÃES, R. M.; CASTRO, E. M. de; CARDOSO, M. das G.; PAIVA, R.; DOUSSEAU, S.; VIEIRA, C. V. Efeito da

secagem e de diferentes temperaturas na Germinação de sementes de *Protium widgrenii* Engler. **Ciência. agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.1, p.35-42, 2006.

SILVA, J.B.; NAKAGAWA, J. Estudos de fórmulas para cálculo de velocidade de germinação. **Informativo Abrates**, v.5, p.62-73, 1995.

SILVA, E.A.A.da; MELO, D.L.B.de; DAVIDE, A.C.; BODE, N. de; ABREU, G.B.; FARIA, J.M.R.; HILHORST, H.W.M. Germination Ecophysiology of *Annona crassiflora* seeds. **Annals of Botany**, Oxford, v.99, p.893-830, 2007.

SILVA, L.B. da; MARTINS, C.C.; MACHADO, C.G.; NAKAGAWA, J. Estádios de colheita e repouso pós-colheita dos frutos na qualidade de sementes de mamoneira. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.31, n.1, p.50-59, 2009.

SMET, S. DE; DAMME, P. VAN; SCHELDEMAN, X.; ROMERO, J. Seed structure and germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.497, p.269-278, 1999.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira**, baseado em APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. p. 82-84.

SRIVASTAVA, L.M. **Plant Growth and Development: Hormones and Environment**, Elsevier, 2002.

SOMOGYI, M. Determination of blood sugar. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.160, n.1, p.69-73, 1945.

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**, Jaboticabal, v.25, n.2, p.305-308, 2003.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed., Artmed editora, Porto Alegre, 2009. 820p.

TOKUNAGA, T. **A cultura da Atemóia**. Campinas: CATI, p. 80, 2000. (Boletim técnico, 233).

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; ARRIGONI, O. The ascorbate system in recalcitrant and orthodox seeds. **Physiology Plantarum**, v.105, p.193-198, 1999.

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

VEIGA, A.D.; GUIMARÃES, R.M.; ROSA, S.D.V.F. da; PINHO E. V. de R. V.; SILVA L. H. de C. E.; VEIGA, A.D. Armazenabilidade de sementes de caféiro colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.29, n.1, p.83-91, 2007.

VIDIGAL, D. de S.; DIAS, D. C. F. dos S.; NAVEIRA, D. dos S. P. C.; ROCHA, F. B.; M. C. BHERING. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.3, p.87-93, 2006.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta, secagem e beneficiamento de sementes. In: FERREIRA, A.G.; BORGUETTI, R. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.265-281.

VERTUCCI, C.W.; FARRANT, J.M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed Development and Germination**. New York: M. Dekker, 1995. p.237-271.

VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. Seed storage temperature and relative humidity. **Seed Science Research**, Cambridge, v.3, p.215-216, 1993.

VIEIRA, R.D.; DUTRA, A. S. Condutividade elétrica em sementes de abóbora, híbrido Bárbara. **Horticultura Brasileira**, Campinas, v.24, n.3, p. 305-308, 2006.

WALTERS, C. Levels of recalcitrance in seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.12 (Edição especial), p.7-21, 2000.

WALTERS, C.; PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P.; CRANE, J. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v.11, p.135-148, 2001.

WISE, J.M.; TUNNACLIFFE, A. POPP the question: what do LEA proteins do? **Trends in Plant Science**, London, v. 9, p. 13-17. 2004.

ZAIDAN, L. B. P.; BARBEDO, C. J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Orgs.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.135-146.

ZUCARELI, V.; BONJOVANI, M. R.; CAVARIANI, C.; NAKAGAWA J. Tolerância à dessecação e influência do tegumento na germinação de sementes de citrumelo 'swingle' (*Citrus paradisi* MACF X *Poncirus trifoliata* (L) RAF.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.31, n.1, p. 91-295, 2009.