

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROSEMEIRE CARVALHO DA SILVA

**MATURAÇÃO, SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E CONSERVAÇÃO DE
SEMENTES DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliense* Cambess.)**

CURITIBA

2016

ROSEMEIRE CARVALHO DA SILVA

**MATURAÇÃO, SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E CONSERVAÇÃO DE
SEMENTES DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliense* Cambess.)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maristela Panobianco Vasconcellos

Co-orientadora: Dr^a Elisa Serra Negra Vieira

**CURITIBA
2016**

S586 Silva, Rosemeire Carvalho da
Maturação, superação de dormência e conservação de sementes
de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Cambess.). / Rosemeire
Carvalho da Silva. Curitiba: 2016.
102 f. il.

Orientadora: Maristela Panibianco Vasconcellos
Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Agronomia – Produção Vegetal.

1. Sementes - Maturação. 2. Sementes - Dormência.
3. Sementes – Armazenamento. I. Vasconcellos, Maristela
Panobianco. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências
Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção
Vegetal. III. Título.

CDU 631.53.02



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA - PRODUÇÃO VEGETAL



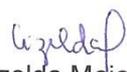
PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Tese de DOUTORADO, apresentada pela candidata **ROSEMEIRE CARVALHO DA SILVA**, sob o título **"MATURAÇÃO, SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA E CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE GUANANDI (*Calophyllum brasiliense* Cambess.)"**, para obtenção do grau de Doutor em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido a candidata são de parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Tese.

Curitiba, 15 de Fevereiro de 2016.


Professor Dr. Cícero Deschamps
Coordenador do Programa


Dra. Gizelda Maia Rêgo
Primeira Examinadora


Dra. Elisa Serra Negra Vieira
Segunda Examinadora


Professora Dra. Erika Amano
Terceira Examinadora


Dra. Aurea Portes Ferriani
Quarta Examinadora


Professora Dra. Maristela Panobianco Vasconcellos
Presidente da Banca e Orientadora

Dedico

À minha sempre amada e amável avó, Maria Tereza Bizotto Falavigna, que aos 90 anos de idade é exemplo pela força e coragem em lutar na vida e pela vida.

Aos meus queridos pais, Dirceu Carvalho da Silva (*in memoriam*) e Vilma Falavigna da Silva, pela garra e dignidade dedicada à educação de seus sete filhos, deixando o exemplo de suas vidas como herança fundamental a sua família.

AGRADECIMENTOS

Ao eterno Deus, que sempre mostrou o seu poder em minha vida, proporcionando tudo o que precisei no momento exato, me permitindo viver diferentes experiências que foram essenciais para alcançar este momento.

À minha amada mãe, Vilma Falavigna da Silva, por todo seu amor, incentivo e preces, guardando as palavras certas para os momentos certos.

Às minhas queridas irmãs, Adriana Carvalho da Silva e Rosângela Carvalho da Silva, pelo amor, carinho e incentivo.

Ao meu irmão e sua querida esposa, Claudemir Carvalho da Silva e Lucy Rezende da Silva, pelo apoio e dedicação a nossa matriarca nos momentos que estive ausente, e pela força e solicitude nos momentos que necessitei.

Aos meus amados sobrinhos, Luiz Henrique, Heloisa, Thiago (afilhado), Danilo, Natiele, Mariana, João Gabriel (JG), e aos pequeninos Luiz Eduardo e Fernando, pelo carinho e amor incondicional, sempre alegrando as minhas férias.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Maristela Panobianco Vasconcellos, por abraçar a ideia da pesquisa, permitindo que aventurássemos em novos caminhos. Agradeço, também, pela preciosa e dedicada orientação, pela amizade, por todo crédito, confiança e, principalmente, por incentivar as potencialidades de seus orientados.

À minha co-orientadora, Dr^a Elisa Serra Negra Vieira, por ter aberto as portas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), em especial a Embrapa Floresta, e por toda dedicação, paciência e apoio durante o desenvolvimento da pesquisa.

A todos os técnicos da Embrapa Floresta que sempre estiveram prontos para ajudar no que fosse necessário, com muita dedicação, respeito e amizade. Agradeço, em especial, o técnico e agora amigo Jonatas Gueller, que foi meu companheiro de campo durante a

pesquisa, pela sua solicitude, por sua dedicação, por transmitir sua experiência profissional, por sua amizade e respeito, por nossas conversas e conselhos que sempre farão parte de minha vida. Ao técnico Paulino Graff, sempre à disposição de nos acompanhar nas coletas de campo, emprestando-nos seu carinho, amizade e força.

Agradeço a todos os professores e técnicos da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em especial aos técnicos Carlos Eduardo Piemonte Maduro (Laboratório de Micropropagação) e Roseli do Rocio Biora (Laboratório de Sementes) do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, e à secretária da Pós-Graduação em Agronomia Lucimara Antunes, por seus preciosos ensinamentos e serviços, sem os quais seria muito difícil completar essa jornada.

A todos os estagiários do Laboratório de Sementes, que me ajudaram nesta jornada com muito carinho e dedicação, em especial à Andreza e ao Fernando, que acompanharam toda a trajetória da pesquisa.

Agradeço à instituição CEUC (Casa da Estudante Universitária de Curitiba) que foi meu lar em terra estranha, como prega o seu lema. Local onde morei entre 2003-2009 e que proporcionou a base para que eu pudesse realizar minha graduação, início de tudo. Sobretudo, por ter permitido a construção de minhas eternas amizades, e por contribuir em minha formação pessoal e emocional.

À Embrapa Floresta, pelo apoio técnico e profissional, por dispor de transporte no acompanhamento e coletas de campo, e pela concessão de seus equipamentos e instalações, que foram essências para a realização desta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo durante o período da pesquisa.

A todos os amigos e companheiros da pós-graduação, em especial Mari Franca, Mari Grassi, Grasi, e à minha querida companheira e amiga, Camila, por toda troca de experiência profissional e pessoal, pelo carinho e cumplicidade.

A todos os amigos e as amigas, por compreender os momentos de ausência e de fraqueza, e por estarem sempre presentes para apoiar, abraçar e incentivar, além de promoverem fantásticos momentos de diversão e descontração, fundamentais para renovar os ânimos e seguir em frente. Agradeço em especial às eternas amigas do quinto andar, Dêvania, Marcela (Py), Fernanda, Marília, Bruna, Débora, Juliana, Sara e Gisele, e também, não menos importante, as novas amizades, Mari Franca e Elci (Tim), Mari Grassi e Tiago (Butter), Karla (Kaka) e Vanessa.

Agradeço a todos com quem convivi, que de alguma forma contribuíram para que eu pudesse caminhar para a conclusão desta pesquisa.

RESUMO

O guanandi é uma espécie nativa com expectativa de exploração tanto para fins comerciais (madeira) quanto para recuperação de áreas degradadas, especialmente próximas a rios, dessa forma demandando conhecimentos técnicos para obtenção de sementes de qualidade visando ampliação do uso da espécie em empreendimentos florestais. Para tanto, é fundamental a coleta das sementes no momento ideal, sendo necessário o acompanhamento do processo de maturação de frutos e sementes. Sementes de guanandi apresentam dormência física e mecânica, exigindo técnicas para sua superação. No mesmo sentido, necessitam de conhecimento das estruturas morfológicas de sementes e plântulas que subsidiam as análises em laboratório. Adicionalmente, é fundamental avaliar o potencial de conservação das sementes, uma vez que se trata de uma espécie recalcitrante. Assim, o presente trabalho teve por objetivos: acompanhar o processo de maturação de frutos e sementes; desenvolver metodologia eficiente para superação da dormência das sementes; realizar a descrição morfológica de sementes e plântulas da espécie e estudar o potencial de conservação das sementes. Para o estudo de maturação foram selecionadas matrizes de uma população natural de Mata Atlântica, monitoradas durante três anos consecutivos, desde a antese das flores até a dispersão dos frutos e das sementes, realizando coletas periódicas e avaliando aspectos morfológicos, físicos (frutos e embriões) e fisiológicos (germinação e vigor) dos embriões. Para o teste de germinação e superação de dormência foram testados três substratos (papel, areia e vermiculita), duas temperaturas de germinação (25 e 30 °C) e diferentes tratamentos para superação da dormência. Para caracterização das sementes foram realizadas avaliações biométricas, bem como a descrição de suas características morfológicas externas e internas e a caracterização do embrião. As plântulas foram descritas quanto as suas principais características morfológicas, e comparadas quando originadas de sementes íntegras e nuas, além de serem caracterizadas quanto à normalidade e anormalidade. Para o estudo de armazenamento das sementes foram testados quatro ambientes (câmara úmida, câmara seca, e refrigerador, condições de ambiente de laboratório) em combinação com duas embalagens (papel Kraft e polietileno), durante cinco períodos de armazenamento (0, 1, 2, 3 e 4 meses). Pelo estudo da maturação identificou-se que o máximo acúmulo de massa seca não é sincronizado com o máximo potencial fisiológico das sementes; a maturação na região do estudo ocorreu entre 200 e 240 DAA, com pico da antese em fevereiro e dispersão dos frutos em outubro, sendo este o momento adequado para coleta das sementes. Para completa superação da dormência física e mecânica das sementes é necessária a retirada total do envoltório (endocarpo e tegumento); a germinação das sementes deve ser realizada em substrato papel sob a temperatura de 30 °C. As plântulas possuem germinação hipógea e criptocotiledonar, com presença de pecíolos cotiledonares, hipocótilo muito curto e epicótilo que desenvolve uma haste longa com catafilos protetores na região apical; tem raiz pivotante e robusta, e apresenta capacidade de resiliência da parte aérea; suas principais anormalidades são relacionadas ao sistema radicular. A melhor forma de armazenamento das sementes de guanandi foi a combinação ambiente de laboratório (média entre 19,6 - 23,1 °C e UR 53-62%) e embalagem de polietileno.

Palavras-chave: Calophyllaceae; semente recalcitrante; germinação; características morfológicas; armazenamento.

ABSTRACT

Guanandi is a Brazilian native species that can be used both for commercial purposes (wood) and to recover deforested areas, mainly near rivers, thus, demanding technical knowledge in order to obtain good-quality seeds aiming at making the use of the species in forest undertakings widespread. For such, it is vital to collect the seeds at the ideal time, and it is necessary to follow up the maturation process of fruits and seeds. Guanandi seeds show physical and mechanical dormancy, requiring techniques to overcome this. Similarly, it is necessary to know the morphological structures of the seeds and seedlings that offer subsidies for laboratory analyses. Additionally, it is fundamental to evaluate the conservation potential of the seeds, since this is a recalcitrant species. Therefore, the objectives of this paper were the following: to follow the maturation process of fruits and seeds; to develop an efficient methodology to overcome the dormancy of seeds; to conduct the morphological description of the seeds and seedlings of the species and to study the conservation potential of the seeds. For the maturation study, matrixes of a natural population from the Atlantic Forest were selected and monitored for three years in a row, from the anthesis of the flowers up to the dispersion of fruits and seeds, conducting periodical collections and evaluating morphological, physical (fruits and embryos) and physiological (germination and vigor) aspects of the embryos. For the germination test and to overcome dormancy, three substrates (paper, sand and vermiculite) were tested, as well as two germination temperatures (25 and 30 °C) and different treatments to overcome dormancy. In order to characterize the seeds, biometrical evaluations were conducted, and the external and internal morphological characteristics were described, and the embryo was characterized. The seedlings were described as to their main morphological characteristics, and compared when originated from integral and naked seeds, in addition to being characterized as to their normality and abnormality. In order to study the storage of the seeds, four environments were tested (moist chamber, dry chamber, refrigerator, and laboratory environment conditions) in combination with two packages (Kraft paper and polyethylene), during five storage periods (0, 1, 2, 3 and 4 months). Through the maturation study, it was identified that the maximal dry mass accumulation is not synchronized with the maximal physiological potential of the seeds; maturation in the studied region occurred between 200 and 240 DAA, with anthesis peak in February and fruit dispersion in October, and this was the adequate moment to collect the seeds. In order to overcome completely the physical and mechanical dormancy of the seeds, it is necessary to remove completely the coat (endocarp and tegument); the seeds must be germinated on a paper substrate under a temperature of 30 °C. Seedlings have a hypogeal and cryptocotyledonary germination, with the presence of cotyledon petioles, very short hypocotyl and epicotyl that develops a long stem with protecting cataphylls on the apical region; they have a pivoting and robust root, and a resilient aerial part; their main abnormalities are related to the radicular system. The best way to store the guanandi seeds was the combination between the laboratory environment (mean of 19.6 – 23.1 °C and UR 53- 62%) and polyethylene packages.

Keywords: Calophyllaceae; recalcitrant seed; germination; morphologic characteristics; storage.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. OBJETIVO GERAL	13
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
4.1. ESPÉCIE FLORESTAL NATIVA: O GUANANDI E SUA IMPORTÂNCIA.....	14
4.2. MATURAÇÃO DE SEMENTES.....	17
4.3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES E OS FATORES DE INTERFERÊNCIA	19
4.4. MORFOLOGIA DE SEMENTES E PLÂNTULAS	21
4.5. ARMAZENAMENTO DE SEMENTES RECALCITRANTES	22
5. REFERÊNCIAS GERAIS	24
6. CAPÍTULO I - MATURAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIE NATIVA: O GUANANDI NA MATA ATLÂNTICA DURANTE TRÊS ANOS.....	31
6.1. INTRODUÇÃO	33
6.2. MATERIAL E MÉTODOS	34
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
6.4. CONCLUSÕES	46
6.5. REFERÊNCIAS.....	47
7. CAPÍTULO II - TÉCNICAS PARA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE SEMENTES DE GUANANDI.....	50
7.1. INTRODUÇÃO	52
7.2. MATERIAL E MÉTODOS	53
7.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
7.4. CONCLUSÕES	65
7.5. REFERÊNCIAS.....	65
8. CAPÍTULO III - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE GUANANDI, UMA FLORESTAL NATIVA.....	69
8.1. INTRODUÇÃO	71
8.2. MATERIAL E MÉTODOS	72
8.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
8.4. CONCLUSÕES	83
8.5. REFERÊNCIAS.....	84

9. CAPÍTULO IV - SEMENTES DE GUANANDI: DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA E DO POTENCIAL DE ARMAZENAMENTO.....	87
9.1. INTRODUÇÃO	89
9.2. MATERIAL E MÉTODOS	90
9.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	92
9.4. CONCLUSÕES	98
9.5. REFERÊNCIAS.....	98
10. CONSIDERAÇÕES FINAIS	101

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: DADOS CLIMÁTICOS DO MUNICÍPIO DE ANTONINA, PARANÁ.	35
FIGURA 2: DESENVOLVIMENTO DE FRUTOS E EMBRIÕES DE <i>CALOPHYLLUM BRASILIENSE</i> (GUANANDI) DURANTE O PROCESSO DE MATURAÇÃO.	38
FIGURA 3: FRUTOS DE GUANANDI EM CORTE LONGITUDINAL.	39
FIGURA 4: DESENVOLVIMENTO DE FRUTOS E SEMENTES DE <i>CALOPHYLLUM BRASILIENSE</i> (GUANANDI) DURANTE O PROCESSO DE MATURAÇÃO, NOS ANOS DE 2014 E 2015.	42
FIGURA 5: PLÂNTULAS DE <i>CALOPHYLLUM BRASILIENSE</i> (GUANANDI) COM VÁRIOS DIAS APÓS A SEMEADURA (DAS), ORIGINADAS DE EMBRIÕES COLETADOS EM DIFERENTES DIAS APÓS A ANTESE (DAA), DURANTE O PROCESSO DE MATURAÇÃO EM CAMPO.	45
FIGURA 6: PLANTA (RAMOS PRODUTIVOS), SEMENTE E PLÂNTULA DE <i>CALOPHYLLUM BRASILIENSE</i>	55
FIGURA 7: CURVA DE EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE GUANANDI.	60
FIGURA 9: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DA SEMENTE E DO EMBRIÃO DE GUANANDI.	74
FIGURA 10: INÍCIO DO PROCESSO GERMINATIVO DAS SEMENTES E DESENVOLVIMENTO INICIAL DA PLÂNTULA DE GUANANDI.	77
FIGURA 11: PROCESSO DE GERMINAÇÃO DAS SEMENTES E DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE GUANANDI.	78
FIGURA 12: DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE GUANANDI.	79
FIGURA 13: DESENVOLVIMENTO INICIAL DE PLANTAS DE GUANANDI ORIGINADAS DE SEMENTES ÍNTEGRAS E NUAS.	81
FIGURA 14: ANORMALIDADES EM PLÂNTULAS DE GUANANDI.	82
FIGURA 15: DADOS DE TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA DO AR NOS DIFERENTES AMBIENTES TESTADOS, DURANTE O PERÍODO DE ARMAZENAMENTO DAS SEMENTES DE GUANANDI.	94
FIGURA 16: GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE GUANANDI ARMAZENADAS EM DIFERENTES AMBIENTES E EMBALAGENS.	95

FIGURA 17: TEOR DE ÁGUA DAS SEMENTES DE GUANANDI, ARMAZENADAS EM DOIS TIPOS DE EMBALAGEM E EM QUATRO AMBIENTES.....96

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: FENOLOGIA REPRODUTIVA DE <i>CALOPHYLLUM BRASILIENSE</i> (GUANANDI), NO MUNICÍPIO DE ANTONINA- PR.	41
TABELA 2: GERMINAÇÃO E ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE GUANANDI EM SUBSTRATO PAPEL, UTILIZANDO-SE DUAS TEMPERATURAS DE INCUBAÇÃO E QUATRO TIPOS DE PREPARO DA SEMENTE.	58
TABELA 3: GERMINAÇÃO E VIGOR DE SEMENTES DE GUANANDI, AVALIADO POR MEIO DE ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG), EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS EM CASA DE VEGETAÇÃO E ÍNDICE DE VELOCIDADE DE EMERGÊNCIA (IVE).....	63
TABELA 4: TEOR DE ÁGUA DAS SEMENTES DE GUANANDI, DETERMINADO PELO MÉTODO DE ESTUFA A BAIXA TEMPERATURA 101-105 °C, TESTANDO-SE DIFERENTES FORMAS DE PREPARO DA SEMENTE E VÁRIOS PERÍODOS DE SECAGEM.	92

1. INTRODUÇÃO GERAL

Das espécies nativas com potencial madeireiro e de recomposição de matas ciliares destaca-se a *Calophyllum brasiliense* Cambess., conhecida popularmente no sul do Brasil como guanandi, olandi, landi, guanandi-carvalho, jacareúba, dentre outras denominações. Esta espécie ocorre desde a Região Amazônica até o Norte de Santa Catarina, adaptando-se tanto a solos encharcados, quanto aos bem drenados (Marques e Joly, 2000; Schultz, 2011); sua madeira tem qualidade semelhante ao mogno e também é resistente quando exposta à água, o que lhe confere potencial para diferentes usos, inclusive na construção naval (Lorenzi, 2002; Sereda, 2008). Por ser uma planta nativa com alto potencial madeireiro, pode ser utilizada em reflorestamento para exploração ecológica da madeira, evitando a extração da espécie em áreas de mata nativa (Marques e Joly, 2000).

A disponibilidade de sementes de qualidade encontra-se dentre os principais requisitos para exploração em larga escala de uma espécie, uma vez que a semente é a principal via da propagação vegetal. Assim, o sucesso da produção florestal inicia-se com a utilização de sementes de alta qualidade, sendo o potencial germinativo o principal parâmetro de avaliação da qualidade, pois indica o valor das sementes levadas ao campo (Rego, 2008; Marcos-Filho, 2015).

Um dos principais entraves na exploração de espécies florestais é a disponibilidade de sementes em quantidade e qualidade adequada, sendo que a coleta das sementes em época inapropriada compromete sua qualidade fisiológica, o que influenciará nas etapas seguintes, como germinação, produção de mudas e, principalmente, no baixo potencial de armazenamento (Matheus et al., 2011, Barbosa et al., 2015).

O processo de maturação das sementes é dependente da espécie e da região de produção, sendo consenso que o conhecimento de seu mecanismo é essencial para determinar o momento ideal de colheita (Carvalho e Nakagawa, 2012). Neste sentido, o avanço das pesquisas na área de tecnologia de sementes de espécies florestais nativas é dependente do conhecimento prévio do processo de maturação e da determinação do ponto de maturidade fisiológica, ou seja, quando o máximo acúmulo de reservas e provável máximo potencial fisiológico são alcançados.

Outro fator que merece atenção quanto às sementes de guanandi é a presença de dormência física e mecânica, causada pelo seu envoltório rígido (endocarpo), que tem dificultado a obtenção de resultados satisfatórios no teste de germinação, já que a legislação

vigente exige atestado do potencial germinativo para a comercialização das sementes (Brasil, 2011) e os resultados são muitas vezes obtidos em prazo inapropriado para a sua comercialização. Tal fato é ainda mais relevante quando se trata de uma semente recalcitrante, como o guanandi (Vasquez et al., 2004; Carvalho et al., 2006), a qual apresenta baixa longevidade, não tolerando a perda de água e ambiente com temperaturas baixas.

O teste de germinação é o mais utilizado na avaliação do potencial fisiológico das sementes em laboratório, com metodologia indicada e padronizada para diversas espécies (Brasil, 2009), sendo necessário o conhecimento das características morfológicas das sementes e das plântulas, para identificação das anormalidades da espécie (Ramos e Ferraz, 2008; Gordin et al., 2012). A classificação morfológica de sementes e plântulas é também ferramenta importante para identificação das espécies em estádios iniciais de desenvolvimento em inventários florestais, e na identificação e classificação taxonômica (Araújo et al., 2004).

A determinação do potencial de armazenamento das sementes de guanandi é fator fundamental para avanços das pesquisas com a espécie, uma vez que a produção é sazonal e a perda de sua viabilidade é muito rápida, interferindo nas pesquisas realizadas em laboratório. É necessário, assim, o desenvolvimento de procedimentos que indiquem a maneira mais adequada para sua conservação, mesmo que em curto prazo.

2. OBJETIVO GERAL

Estudar o processo de maturação fisiológica, a superação da dormência, a morfologia e a conservação das sementes de *Calophyllum brasiliense* (guanandi).

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar as características morfológicas e físicas de frutos e sementes, bem como o potencial fisiológico das sementes, durante o processo de maturação com o intuito de identificar o momento mais adequado para sua coleta.

Estudar diferentes formas de preparo das sementes para a superação da dormência física e mecânica, bem como verificar a influência dos fatores temperatura e substrato na germinação das sementes de guanandi.

Descrever as principais estruturas morfológicas das sementes e das plântulas normais e anormais de guanandi, para subsidiar avaliações das plantas em estágios iniciais, constituindo assim uma ferramenta de conservação da espécie, possibilitando análises laboratoriais em tecnologia de sementes, identificação e classificação taxonômica, e a identificação da espécie em inventários florestais.

Avaliar diferentes embalagens e condições de ambiente para identificar a forma mais adequada para o armazenamento de sementes de guanandi.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. ESPÉCIE FLORESTAL NATIVA: O GUANANDI E SUA IMPORTÂNCIA

Conforme ressaltou Rego (2008), a exploração da madeira de espécies arbóreas para fins madeireiros e expansão das fronteiras agrícolas reduziu as florestas nativas a porções pequenas e fragmentadas. A devastação dessas florestas em território brasileiro é consequência da visão européia de que o progresso estava na exploração agrícola e de pastagem, o que seria a única função da terra, sendo a floresta nativa um problema a ser superado. No período da colonização, esse era um pensamento socialmente aceito, pensava-se que as florestas seriam inesgotáveis e que não haveria possibilidade do agricultor obter renda com o manejo florestal (Fantini e Siminski, 2011).

Com o passar do tempo essa visão foi alterada sendo reconhecido a importância e o papel das florestas, que vão desde o fornecimento de produtos madeireiros e não madeireiros até as várias funções ecológicas, como conservação da biodiversidade, proteção dos recursos hídricos, de encostas, além de contribuir para o bem-estar social (Fontes et al., 2003).

O Brasil, que detém cerca de 20% das espécies do planeta (Leite e Coradin, 2011), pode vir a utilizar toda essa diversidade genética para o desenvolvimento e garantia de qualidade de vida da população, uma vez que a diversidade de espécies pode se constituir em uma das maiores estratégias dos países ricos em recursos genéticos, para driblar os problemas ocasionados pela mudança climática mundial, introduzindo espécies mais adaptadas na restrita lista de alimentos utilizados pela população (Coradin, 2011).

Existem leis que visam proteger as áreas ainda existentes de espécies nativas. No entanto, muitas vezes a legislação mais restritiva, apenas imposta aos agricultores, tem contribuído para que os mesmos deixem de apreciar as florestas, vendo-as como empecilho para o avanço da agricultura, levando a não preservação de remanescentes florestais em suas propriedades (Fantini e Siminski, 2011).

Uma questão que tem dificultado a introdução de espécies nativas no âmbito comercial, principalmente no que se referem às espécies florestais, é a falta de conhecimento técnico científico, tais como meios de propagação, cultivo e processamento, bem como carência de programas de melhoramento genético para que as plantas produzam madeira de qualidade num menor período de tempo, características que proporcionaram a rápida disseminação do uso de espécies do gênero *Pinus e Eucalyptus* (Fantini e Siminski, 2011; Freitas et al., 2015).

Silva e Higa (2006) também relataram que o interesse no reflorestamento com espécies nativas para fins comerciais tem sido crescente, porém, a dificuldade de produção em larga escala está na falta de material genético selecionado para alta produtividade, bem como a disponibilidade de sementes em quantidade e qualidade, situação bem diferente da encontrada para espécies exóticas do gênero *Pinus e Eucalyptus*.

Com o aumento da pressão frente à manutenção e recuperação de áreas de florestas naturais, a demanda por sementes e mudas de espécies arbóreas nativas é pertinente em todo o território nacional, mas a sua produção ainda está aquém de suprir a demanda (Dias et al., 2006; Viani e Rodrigues, 2007; Rego, 2008, Ribeiro-Oliveira e Ranal, 2015). Tais dificuldades em produzir sementes podem ser superadas com a implantação de pomares destinados a este fim, pois assim seria possível a seleção das matrizes mais vigorosas e produtivas para a coleta de sementes, além de garantir a distribuição de sementes com alto potencial fisiológico, melhorando assim a qualidade das mudas, as quais consequentemente terão melhor desempenho em campo (Silva e Higa, 2006).

Nos últimos anos o Brasil assumiu inúmeros compromissos internacionais para conservação da sua diversidade biológica, levando o Ministério do Meio Ambiente a fazer parcerias para elaborar um levantamento em diferentes regiões do País de espécies de plantas nativas com importância atual ou potencial para o futuro uso no mercado, seja ele nacional e/ou internacional, lançando assim uma obra chamada “Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial, de Uso Local ou Regional – Plantas para o Futuro” (Coradin, 2011). Dentre as 149 plantas priorizadas na edição que abordou espécies da Região Sul, o guanandi foi citado entre as espécies com potencial madeireiro (Schultz, 2011).

O guanandi, pertencente à família Calophyllaceae (Bittrich, 2009), é uma espécie que ocorre naturalmente na América tropical, com distribuição do México à América do Sul, tendo sua distribuição em território brasileiro desde a Amazônia até o norte de Santa Catarina, presente na Mata Atlântica, no cerrado, na restinga e nas matas do Brasil Central. É uma planta perenifólia, que pode atingir de 20-30 m de altura, heliófila ou de luz difusa, e por isso pode ser considerado espécie pioneira ou de diferentes estágios de sucessão secundária. No litoral do Paraná e em Santa Catarina são encontradas grandes populações de guanandi em áreas que apresentam solos com baixa drenagem (Lorenzi, 2002; Sereda, 2008; Schultz, 2011).

A madeira do guanandi é considerada moderadamente pesada, apresentando facilidade de manuseio, e por isso empregada na marcenaria e carpintaria, na construção civil, na fabricação de carrocerias de caminhões, e por ser imputrescível dentro d’água é bastante utilizada na construção naval (Lorenzi, 2002; Sereda, 2008).

Em países da América Central existem plantios comerciais com finalidade de produção de madeira nobre e em sistemas agrosilvopastoris, apresentando resultados satisfatórios (Petit e Montagnini, 2006), o que tem motivado o seu plantio também no Brasil, principalmente pela divulgação do seu potencial para uso em áreas de reflorestamento por empresas especializadas, sendo considerado uma poupança verde, com destaque para o seu uso em regiões de solos brejosos de pouco valor na agricultura (Schultz, 2011).

Marques e Joly (2000) constataram que o guanandi apresenta tolerância a inundação, sugerindo que a espécie pertence ao grupo de estágios finais de sucessão, levando vantagens na ocupação de ambientes próximos a rios. Oliveira e Joly (2010) também verificaram essa tolerância do guanandi, o qual apresentou aumento de biomassa mesmo em solos inundados, o que reforça sua importância na recuperação de áreas próximas a cursos de água. Por outro lado, apesar da espécie ser encontrada preferencialmente em solos úmidos e brejosos, também

se tem destacado em condições de solos drenados e manejados (Marques e Joly, 2000; Lorenzi, 2002).

Outro destaque para o guanandi refere-se ao seu potencial químico e farmacológico, tendo relatos do seu uso na medicina popular como em tratamento de bronquite, distúrbios gástricos e hepáticos, dores, inflamações, diabetes, reumatismos e hipertensão, e pesquisas investigativas que têm confirmado a presença de diferentes moléculas com potencial de uso em tratamentos de diversas doenças (Noldin et al., 2006; Braga et al., 2007; Bernabé et al., 2010; Schultz, 2011, Carvalho et al., 2013).

Apesar do seu cultivo estar crescente no Brasil, em razão da produção de madeira com qualidade comparável ao mogno e cedro, o uso ainda se encontra pequeno quando comparado a outros países da América Central e do Sul (Sereda, 2008). Essa situação pode mudar com a ampliação de pesquisas com melhoramento genético de espécies nativas, além de estudos sobre tecnologia de produção de sementes e mudas (Silva e Higa, 2006).

Estudo com a espécie tem sido cada vez mais importante, tendo em vista que as populações naturais do sul do Brasil estão sendo reduzidas, principalmente em função da especulação imobiliária principalmente em cidades litorâneas, como evidenciadas no litoral de Santa Catarina (Schultz, 2011).

4.2. MATURAÇÃO DE SEMENTES

O processo de desenvolvimento, também chamado de maturação das sementes, inicia-se a partir da fecundação e formação do embrião até a completa independência da semente em relação à planta-mãe, conhecido como o ponto da maturidade fisiológica, instante em que teoricamente o máximo de massa seca é acumulado, marcado pelo encerramento do transporte da seiva do floema às sementes, ou transporte em quantidades não significativas. É neste momento que, frequentemente, as sementes atingem seu máximo potencial fisiológico, e a partir de então começa o processo de deterioração, pois a semente passa manter-se viva com gastos das reservas acumuladas durante todo o processo de maturação (Castro et al., 2004; Marcos-Filho, 2015).

Assim, a identificação do ponto de máximo de acúmulo de massa seca das sementes é importante para definir o momento em que as sementes podem ser colhidas, com a garantia de qualidade fisiológica elevada. Essa identificação pode ser alcançada pelo acompanhamento

das modificações físicas e fisiológicas de frutos ou sementes, como tamanho, cor, teor de água, massa seca acumulada, germinação e vigor (Carvalho e Nakagawa, 2012; Barbosa et al., 2015).

O processo de maturação das sementes pode variar de acordo com a espécie, o cultivar e principalmente com a região de produção, sendo de fundamental importância o seu conhecimento para obtenção de sementes com qualidade, tema extremamente debatido e pesquisado quando se refere às grandes culturas, tais como soja e milho que apresentam comportamento ortodoxo (Carvalho e Nakagawa, 2012, Marcos-Filho, 2015). Contrariamente, para sementes recalcitrantes são poucos os trabalhos que podem ser citados, tais como os de *Eugenia uniflora* (Avila et al., 2009), *Aesculus chinensis* (Yu e Chen, 2012), *Pritchardia remota* (Pérez et al., 2012), *Inga vera* (Caccere et al., 2013), *Eugenia pyriformis* (Lamarca et al., 2013) e *Copernicia hospita* (Pereira et al., 2014).

As sementes das espécies em geral, ortodoxas ou recalcitrantes, adquirem maior tolerância à perda de água com o acúmulo de massa seca, ao longo do processo de maturação (Marcos-Filho, 2015). Em sementes recalcitrantes, como o guanandi (Vasquez et al., 2004; Carvalho et al., 2006), que apresentam menor longevidade por não tolerar perda de água, o conhecimento do processo de maturação tem fundamental relevância, uma vez que estudos têm demonstrado que sementes colhidas com maior quantidade de massa seca apresentam diminuição da sensibilidade à perda de água, permitindo assim uma dessecação moderada, contribuindo para um maior período de conservação das sementes (Pérez et al., 2012).

Silveira et al. (2002) estudaram a curva de maturação das sementes de *Calendula officinalis* e constataram que a maturidade fisiológica, ou seja, maior acúmulo de massa seca nas das sementes, é alcançada entre 28 e 32 dias após a antese; porém, o máximo potencial fisiológico, germinação e vigor, foi observado aos 36 dias após antese, momento indicado para a colheita das sementes.

Hathurusingha et al. (2011) estudaram a maturação dos frutos de *Calophyllum inophyllum*, árvore natural da Austrália com potencial para biodiesel, e concluíram que o ponto ideal para colheita dos frutos é de 48 dias após a antese (DAA) diferentemente do que é praticado pelos produtores que realizam a colheita aos 77 dias após abertura das flores.

Matheus et al. (2011), em estudo da maturação de sementes de *Erythrina variegata*, relataram que a máxima germinação foi obtida aos 77 DAA, coincidindo com o máximo acúmulo de massa seca das sementes.

Pérez et al. (2012) acompanharam o desenvolvimento embrionário de *Pritchardia remota*, e observaram que a máximo acúmulo de massa seca de frutos e sementes ocorreram em diferentes momentos, sendo o fruto com 400 DAA, enquanto a semente e o embrião tiveram o maior acúmulo em 340 e 250 DAA, respectivamente.

Avila et al. (2009) estudando a maturação de sementes de *Eugenia uniflora*, de comportamento recalcitrante, observaram falta de sincronia entre início do poder germinativo das sementes e o máximo acúmulo de massa seca, pois a máxima germinação ocorreu aos 42 DAA e estabilização da máxima massa seca somente a partir de 63 DAA.

Em sementes ortodoxas esse comportamento também pode ocorrer, como observaram Nakagawa et al. (2010) com sementes de *Peltophorum dubium*, de comportamento ortodoxo, onde a máxima massa seca foi alcançada antes das sementes terem a capacidade de germinar, uma vez que ainda necessitavam passar por processo de secagem.

4.3. GERMINAÇÃO DE SEMENTES E OS FATORES DE INTERFERÊNCIA

Os fatores que interferem na germinação podem ser divididos em: intrínsecos e ambientais. Dentre os fatores intrínsecos destacam-se a vitalidade e viabilidade das sementes; longevidade (armazenamento); teor de água das sementes; dormência, sanidade e genótipo. Os fatores do ambiente são relacionados à disponibilidade de água e oxigênio, a necessidade do fornecimento de luz e temperatura adequadas a cada espécie (Carvalho e Nakagawa, 2012; Marcos-Filho, 2015).

As espécies vegetais comportam-se diferentemente quanto às exigências para a germinação de suas sementes; estas exigências normalmente estão relacionadas com a disponibilidade de luz, temperatura e água (Castro et al., 2004; Rego, 2008). A determinação das melhores condições de germinação das sementes é importante para produção de mudas em viveiro com maior precisão, bem como para padronização da análise do potencial fisiológico das sementes em laboratório (Rego, 2008). Conforme ressaltaram Pacheco et al. (2006), são poucas as recomendações para espécies florestais, o que abre espaço para novas pesquisas.

A água, juntamente com a temperatura e a presença de oxigênio, são os fatores fundamentais do ambiente para desencadear o processo germinativo. A absorção de água pelas sementes desencadeia a reativação das atividades metabólicas das sementes, que na

maioria das espécies após atingirem a maturidade fisiológica permanece reduzido (Carvalho e Nakagawa, 2012; Marcos-Filho, 2015).

O suprimento de água e oxigênio está estritamente ligado ao substrato utilizado na formação de muda, ou ainda na condução de teste de germinação em laboratório, pois um substrato adequado deve reter água suficiente para germinação, além de manter espaços porosos para a oxigenação (Smiderle e Minami, 2001).

O substrato e a temperatura são fatores de grande importância, pois interferem diretamente na germinação das sementes, uma vez que o primeiro retém água e permite adequada aeração para as sementes, e a temperatura ótima propicia maior velocidade de embebição e, conseqüentemente, ao processo germinativo (Stockman et al., 2007; Carvalho e Nakagawa, 2012).

A dormência é um fenômeno que interfere diretamente na disponibilidade de germinação das sementes, uma vez que mesmo sendo viáveis e colocadas para germinar em ambiente favorável, podem não germinar quando dormentes. Este fenômeno é um recurso que a natureza utiliza para distribuir a germinação das sementes ao longo do tempo, estratégia de sobrevivência de muitas espécies (Carvalho e Nakagawa, 2012).

A estrutura rígida que envolve o embrião pode atuar na restrição da entrada de água e na protrusão da raiz primária, sendo caracterizada como dormência física quando o envoltório restringe a entrada de água, e dormência mecânica quando este dificulta o crescimento do embrião. Em condições naturais de ambiente, a superação da dormência da semente pode ser promovida pela ação de fatores que degradam e enfraquecem seu envoltório, como por exemplo, a ação de microrganismos (Baskin e Baskin, 1998).

Uma estrutura de resistência à entrada de água nas sementes pode ser uma estratégia das espécies que vivem em regiões alagadas, impedindo a pronta entrada de água nas sementes, uma vez que ao se dispersarem podem germinar com pequeno acréscimo de água; assim, a estrutura restritiva possibilita germinação das sementes ao longo do tempo (Carvalho e Nakagawa, 2012). Como o guanandi ocorre preferencialmente em regiões alagadas (Schultz, 2011), provavelmente a estrutura de sua semente seja uma forma de sobrevivência e perpetuação da espécie.

Nery et al. (2007) estudaram alguns fatores que interferem no processo germinativo das sementes de guanandi e verificaram maior rapidez da germinação com a retirada do envoltório, podendo ser um indicativo de que a dormência da espécie está relacionada a restrições físicas.

4.4. MORFOLOGIA DE SEMENTES E PLÂNTULAS

A identificação das características das sementes e plântulas subsidia a avaliação da qualidade fisiológica das sementes em laboratório, visto que para fins de tecnologia de semente uma plântula é considerada normal após a germinação completa, apresentando todas as estruturas bem desenvolvidas, tanto do sistema radicular quanto da parte aérea, como cotilédones, folhas primárias (plúmula), hipocótilo/epicótilo, e raiz primária (Silva et al., 2008; Brasil, 2009), sendo fundamental para os analistas de laboratórios de sementes o conhecimento dessas estruturas.

Conforme ressaltaram Melo et al. (2007), a descrição morfológica de plântulas tem despertado interesse da pesquisa, uma vez que as características do desenvolvimento inicial das espécies são subutilizadas pela sistemática, que se concentra nas características vegetativas e reprodutivas de plantas adultas. É muito comum em ambientes florestais se ter apenas frutos, sementes ou plântulas para o reconhecimento das espécies. Contudo, estudos que buscam identificar e descrever as características morfoanatômicas destas estruturas são fundamentais para que a identificação seja mais precisa (Rego et al., 2010).

No que se referem às espécies florestais nativas, diferentes trabalhos vêm sendo desenvolvidos relatando as características morfológicas fundamentais de uma plântula florestal normal, destacando que muitas características comumente verificadas nas espécies de grandes culturas podem não ser observadas nas florestais nativas, uma vez que suas estratégias de sobrevivência são diferentes. Assim, muitas divergências surgem entre os técnicos da área de tecnologia de sementes quanto à avaliação das estruturas da semente e das anormalidades de uma plântula florestal, reforçando a necessidade de avanços no conhecimento morfológico, fisiológico e biológico de cada espécie, para então ser realizada uma correta interpretação do teste de germinação (Figliola, 2015).

Diante da importância da descrição dos aspectos morfológicos de frutos, sementes e plântulas alguns estudos podem ser destacados, tais como: Cruz et al. (2001), que fizeram análise biométrica de frutos e sementes de *Hymenaea intermedia*; e Andrade et al. (2006), que analisaram o desenvolvimento pós-seminal de *Dalbergia nigra*, caracterizando não apenas as plântulas normais, mas também as principais possibilidades de anormalidades ocorridas durante este processo, sendo este tipo de pesquisa de grande importância para subsidiar decisões para um analista de sementes.

Outros exemplos de trabalhos podem ser observados em Battilani et al. (2007), que descreveram as características de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Unonopsis lindmanii*; Silva et al. (2008), descrevendo a morfologia de frutos, sementes e desenvolvimento pós-semenial de faveira; Carvalho et al. (2008), ao descrever o desenvolvimento morfifisiológico de sementes de ipê-amarelo; Rego et al. (2010), que caracterizaram a morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Blepharocalyx salicifolius* e *Myrceugenia gertii*; Abdu et al. (2010) que escreveram a expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus*; e Loureiro et al. (2013), que estudaram o aspecto morfo-anatômico de *Amburana cearensis*.

4.5. ARMAZENAMENTO DE SEMENTES RECALCITRANTES

Após a maturidade fisiológica, as sementes tendem a perder seu potencial fisiológico, e o período de sua longevidade está diretamente ligado às condições de ambiente que estarão expostas, sendo que o armazenamento das sementes com adequado conjunto de técnicas, tais como ambiente (temperatura e umidade relativa do ar) e embalagem, tem a função de prolongar ao máximo a longevidade das sementes (Dias et al., 2006).

Em sementes florestais, o armazenamento se faz muito importante, visto que em muitas espécies a produção não ocorre regularmente, podendo em alguns casos ficarem anos sem produzi-las, pois são bastante influenciadas pelas variações ambientais (temperatura, chuva) e pela ação de seus polinizadores. Diferentemente das espécies anuais comercializadas, que necessitam pouco tempo de armazenamento, as espécies florestais precisam ter suas sementes armazenadas por longo período e, quando possível, este deve ser planejado por no mínimo dois anos (Medeiros et al. 2006).

No entanto, grande parte das espécies florestais de ambiente tropical úmido apresenta sementes com comportamento recalcitrante, que se caracterizam pela sensibilidade à dessecação, e a não tolerância de armazenamento em baixas temperaturas, dificultando assim a conservação por longo tempo (Baskin e Baskin, 1998).

As sementes recalcitrantes não passam por processo de perda de água ao final da maturação, e isso se deve a inexistência de mecanismos eficientes para tolerância à perda de água ou a existência desses em quantidade pouco expressiva. Tais mecanismos estão marcadamente presentes em sementes ortodoxas, que dispõem de diferentes estratégias para conferir tolerância à dessecação, como modificações das características físicas intracelulares;

acúmulo de proteínas solúveis dentro dos vacúolos, proporcionando elasticidade; acúmulo de amidos e lipídios que aumentam a capacidade de tamponamento; presença abundante de proteínas LEAs (*Late Embryogenesis Abundant*) que são estáveis ao calor e estão relacionadas à tolerância a dessecação; e a ação de um sistema antioxidante, que neutraliza os radicais livres, como as formas reativas de oxigênio (ROS), que são altamente prejudiciais às células (Berjak e Pammenter, 2013).

A umidade na maturidade fisiológica de sementes recalcitrantes é de 30-70%, e se armazenadas dessa forma, em temperatura ambiente, podem rapidamente perder seu potencial fisiológico, principalmente pela proliferação de microrganismos, visto que tais condições favorecem o desenvolvimento de fungos (Baskin e Baskin, 1998; Carvalho e Nakagawa, 2012).

O período de armazenamento de sementes recalcitrantes ou intermediárias pode ser maior quando as sementes são submetidas à secagem até atingirem o menor teor de água tolerado pelas sementes, associado a embalagens que restrinjam as trocas de vapor d'água com o ambiente e temperaturas amenas (Carvalho e Nakagawa, 2012; Marcos-Filho, 2015).

Spera et al. (2001) observaram em sementes de buriti, espécie que apresenta comportamento recalcitrante, germinação de 90% após período de quatro meses de armazenamento em saco de polietileno, sob temperatura controlada de 20 °C, e a perda total da viabilidade quando armazenadas a 30 °C utilizando a mesma embalagem.

Limas et al. (2007), estudando o comportamento germinativo das sementes de *Vriola surinamensis*, também observaram comportamento recalcitrante da espécie, pois após período de armazenamento em ambiente não controlado (27 °C ± 3 e 75% ± 5 UR) e em germinador (20 °C e 58% UR), com as sementes não embaladas, verificaram que em 30 dias o poder germinativo das sementes ficou abaixo de 2%, tendo o teor de água das sementes reduzido de 24% para aproximadamente 5% após armazenamento.

Em *Tabebuia aurea* as sementes mantiveram alto potencial de germinação mesmo após armazenamento de 120 dias sob temperatura de 15 °C e 40% UR, independentemente da embalagem utilizada (Cabral et al., 2013).

Em estudo com *Calophyllum brasiliense* na Costa Rica, Vasquez et al. (2004) relataram que as sementes apresentaram sensibilidade à dessecação e a exposição à baixa temperatura, com porcentagem de germinação de 68% e 4%, quando a umidade das sementes estava com 40% e 4,8%, respectivamente. Carvalho et al. (2006) também consideraram o

guanandi como uma espécie recalcitrante, em estudo sobre o comportamento de diferentes espécies florestais quanto ao armazenamento.

A manutenção da qualidade das sementes durante o período de armazenamento também está ligada a embalagem utilizada para o acondicionamento das mesmas, que tem a função de proteger as sementes de ataques de insetos e de regular a troca de umidade e de oxigênio com o ar (Dias et al., 2006).

As embalagens são classificadas pelo grau de permeabilidade ao vapor de água, podendo ser: porosas, quando permeáveis ao vapor de água (papel e embalagens de tecido); semipermeáveis, com troca restrita de vapor de água (papel multifoliado ou polietileno); ou ainda impermeáveis, que não permitem trocas gasosas com o ambiente (vidro e metal) (Medeiros et al., 2006, Carvalho e Nakagawa, 2012).

Conforme ressaltaram Carvalho e Nakagawa, (2012), a escolha da embalagem não é uma tarefa fácil, pois depende do tipo de semente que será armazenada, do teor de água das sementes a ser mantido (que é diretamente influenciado pela umidade relativa do ambiente), além da forma de comercialização das sementes, das características físicas e mecânicas da embalagem e da disponibilidade no comércio.

Marcos-Filho (2015) salientou que o armazenamento de sementes recalcitrantes pode ser de considerável sucesso com a manutenção da alta umidade das sementes em ambientes de temperatura amenas, ou ainda se houver secagem parcial, até o limite tolerado pela espécie.

5. REFERÊNCIAS GERAIS

ABDU, H. F.; GONÇALVES, N. R.; REIS, R. G. E.; PEREIRA, D. S.; BEZERRA, A. M. E. Germinação e expressão morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Pilosocereus pachycladus* Ritter. **Revista Ciência Agronômica**. v. 41, n. 3, p. 468-474, 2010.

ANDRADE, A. C. S.; PEREIRA, T. S.; FERNANDES, M. J.; CRUZ, A. P. M.; CARVALHO, A. S. R. Substrato, temperatura de germinação e desenvolvimento pós-seminal de sementes de *Dalbergia nigra*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 41, n. 3, p. 517-523, 2006.

ARAUJO, E.C. de; MENDONÇA, A.V.R.; BARROSO, D.G.; LAMÔNICA, K.R.; SILVA, R.F da. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 105-110, 2004.

AVILA, A.L.; ARGENTA, M.S.; MUNIZ, M.F.B.; POLETO, I.; BLUME, E. Maturação fisiológica e coleta de sementes de *Eugenia uniflora* L. (pitanga), Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v.19, n.1, p.61-68, 2009.

BARBOSA, J.M.; RODRIGUES, M.A.; BARBÉRIO, M.; ARAUJO, A.C.F.B.; Maturação de sementes de espécies florestais tropicais. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p. 180-189.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press. 1998. xiv, 666p.

BATTILANI, J. L.; SANTIAGO, E. F.; SOUZA, A. L. T. Aspectos morfológicos de frutos, sementes e desenvolvimento de plântulas e plantas jovens de *Unonopsis lindmanii* Fries (Annonaceae). **Acta Botânica Brasileira**. v. 21, n. 4, p. 897-907, 2007.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N.W. Implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. **Plant Physiology**, v.4, p.1-9, 2013.

BERNABÉ, A.A.; ESTRADA, M.E.Z.; BUENDÍA, L.G.; REYES, R.C.; CHAVES, V.M. A.; CRUZ, F.S. Production of anti-HIV-1 calanolides in a callus culture of *Calophyllum brasiliense* (Cambes). **Plant Cell, Tissues and Organ Culture**, v.103, p.33-40, 2010.

BITTRICH, V. Calophyllaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2009. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB6827>>. Acesso em: 15 Jan. 2014.

BRAGA, F.C.; SERRA, C.P.; VIANA JUNIOR, N.S.; OLIVEIRA, A.B.; CORTES, S.F.; LOMBARDI, J.A. Angiotensin-converting enzyme inhibition by Brazilian plants. **Fitoterapia**, v.78, p.353-358, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 56 de dezembro de 2011. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 09 de dezembro de 2011 - Seção 1.

- BRASIL. **Regras para análise de sementes.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395 p.
- CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. F. Ex. S. Moore. **Acta Botânica Brasileira.** v. 17, n. 4, p.609-617, 2013.
- CACCERE, R.; TEIXEIRA, S.P.; CENTENO, D.C.; RIBEIRO, R.C.L.F.; BRAGA, M.R. Metabolic and structural changes during early maturation of *Inga vera* seeds consistent with the lack of a desiccation phase. **Journal Plant Physiology**, v.170, p.791-800, 2013.
- CARVALHO, H.O.; MEDEIROS, B.J. L.; SÁ, B.M.; ARAUJO, J.T.C.; KAWAKAMI, M.Y.M.; FAVACHO, H.A.S.; CARVALHO, J.C.T. Study of dissolution profiles and desintegration of capsules containing the dried hydro ethanolic extract of *Calophyllum brasiliense*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.23, n.1, p.194-199, 2013.
- CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A. A.; DAVIDE, A. C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n.2, p. 15-25, 2006.
- CARVALHO, M. L. M.; NERY, M. C.; OLIVEIRA, L. M.; HILHORST, H. W. M.; GUIMARÃES, R. M. Morphophysiological development of *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. seeds. **Scientia Agricola**, v. 65, n.6, p. 643-651, 2008.
- CARVALHO, M. N.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 5.ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590p.
- CASTRO, R. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGUET, F. **Germinação: do básico ao aplicado.** Porto Alegre-RS, ARTMED, 2004. p. 149-162.
- CORADIN, L. A Iniciativa Plantas para o Futuro. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul.** Brasília: MMA, 2011. 934p.
- CRUZ, E. D.; MARTINS, F. O.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de jatobá-curuba (*Hymenaea intermedia* Ducke, Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 161-165, 2001.

DIAS, E. S.; BATTILANI, J.L.; SOUZA, A. L. T.; PEREIRA, S. R.; KALIFE, C.; SOUZA, P. R.; JELLER, H. **Produção de sementes de espécies florestais nativas**. Campo Grande-MS. Ed. UFMS, 2006. 43p.

FANTINI, A. C.; SIMINSKI, A. Espécies Madeireiras Nativas da Região Sul. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. 934p.

FIGLIOLIA, M.B. Teste de germinação. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015. p. 325-343.

FONTES, A. A.; SILVA, M. L.; VALVERDE, S. R.; SOUZA, A. L. Análise da atividade florestal no município de Viçosa-MG. **Revista Árvore**, v. 27, n. 4, p. 517-525, 2003.

FREITAS, M.L.M.; AGUIAR, A.V. de; SPOLADORE, J.; SOUSA, V.A. de; SEBBENN, A.M. Produção de sementes de espécies florestais nativas: estratégias de melhoramento. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p.128-152.

GORDIN, C.R.B.; MARQUES, R.F.; MASETTO, T.E.; SCALON, S.P.Q. Germinação, biometria de sementes e morfologia de plântulas de *Guizotia abyssinica* Cass. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 619-627, 2012.

HATHURUSINGHA, S.; ASHWATH, N.; SUBEDI, P. Variation in oil content and fatty acid profile of *Calophyllum inophyllum* L. with fruit maturity and its implications on resultant biodiesel quality. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 3, p. 629-632, 2011.

LAMARCA, E.V.; PRATAVIEIRA, J.S.; BORGES, I.F.; DELGADO, L.F.; TEIXEIRA, C.C.; CAMARGO, M.B.P. de; FARIA, J.M.R.; BARBEDO, C.J.; Maturation of *Eugenia pyriformis* seeds under different hydric and thermal conditions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, n.1, p.223-233, 2013.

LEITE, L. L.; CORADIN, L. Introdução. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. 934p.

LIMAS, J. D.; SILA, B. M. S.; MORAES, W. S. Germinação e armazenamento de sementes de *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. (Myristicaceae). **Revista Árvore**, v. 31, n. 1, p. 37-42, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas da Brasil**, vol.1. 4 ed. Nova Dessa - SP. Ed. Instituto Plantarum, 2002. 384p.

LOUREIRO, M. B.; TELES, C. A. S.; VIRGENS, I. O.; ARAÚJO, B. R. N.; FERNANDEZ, L. G.; CASTRO, R. D. Aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de sementes e plântulas de *Amburana cearensis* (Fr. All.) A.C. Smith (Leguminosae - Papilionoideae). **Revista Árvore**, v.37, n.4, p. 679-689, 2013.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina, PR: ABRATES, 2015. 660 p.

MARQUES, M. C. M.; JOLY, C. A. Germinação e crescimento de *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), uma espécie típica de florestas inundadas. **Acta Botânica Brasileira**, v. 14, n. 1, p.113-120, 2000.

MATHEUS, T. M.; LOPES, J. C.; CORRÊA, N. B. Maturação fisiológica de sementes de *Erythrina variegata* L. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 4, p. 619-627, 2011.

MEDEIROS, A. C. S.; EIRA, M. T. S. **Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas**. Circular técnica 127. Embrapa Floresta, Colombo-PR, 2006. 13p.

MELO, M. F. F.; MACEDO, S. T.; DALY, D. C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de nove espécies de *Protium* Burm. f. (Burseraceae) da Amazônia Central, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.21, n.3, p.503-520, 2007.

NAKAGAWA, J., MORI, E.S.; PINTO, C.S.; FERNANDES, K.H.P.; SEKI, M.S.; MENEGHETTI, R.A. Maturação e secagem de sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (canafístula). **Revista Árvore**, v.34, n.1, p.49-56, 2010.

NOLDIN, V.F.; ISIAS, D.B.; CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Nova Química**, v.29, n.3, p.549-554, 2006.

OLIVEIRA, V. C.; JOLY, C. A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth response. **Trees**, v.24, p.185-193, 2010.

- PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C.; FELICIANO, A. L. P.; PINTO, K. M. S. Efeito da temperatura e substrato na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v.30, n.3, p.359-367, 2006.
- PEREIRA, D.S.; SOUSA, J.E.S.; PEREIRA, M.S.; GONÇALVES, N.R.; BEZERRA, A.M.E. Influência da maturação dos frutos na emergência e no crescimento inicial de *Copernicia hospita* Mart. – Arecaceae. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.1, p.214-220, 2014.
- PÉREZ, H. E.; HILL, L. M.; WALTERS, C. An analysis of embryo development in palm: interactions between dry matter accumulation and water relations in *Pritchardia remota* (Aracaceae). **Seed Science Research**, v. 22, p. 97-111, 2012.
- PETIT, B.; MONTAGNINI, F. Growth in pure and mixed plantations of tree species used in reforesting rural areas of the humid region of Costa Rica, Central America. **Forest Ecology and Management**, v.233, p.338-343, 2006.
- RAMOS, M.B.P.; FERRAZ, I.D.K. Estudos morfológicos de frutos, sementes e plântulas de *Enterolobium schomburgkii* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Revista Brasileira Botânica**, v.31, n.2, p.227-235, 2008.
- REGO, S. S. **Germinação, morfologia e sanidade de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg e *Myrceugenia gertii* Landrum – Myrtaceae**. Curitiba-PR, 2008. 113p. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal - área de concentração Silvicultura) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- REGO, S. S.; NOGUEIRA, A. C.; KUNIYOSHI, Y. S.; SANTOS, A. F. Caracterização morfológica do fruto, da semente e do desenvolvimento da plântula de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg e *Myrceugenia gertii* Landrum – Myrtaceae. **Revista brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.52-60, 2010.
- RIBEIRO-OLIVEIRA, J.P.; RANAL, M.A. O caminhar da ciência em sementes florestais brasileiras: retrospectiva histórica e políticas do setor. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p.25-43.
- SCHULTZ, J. *Calophyllum brasiliense*: Olandi. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. p.440-443.

- SEREDA, F. **Caracterização nutricional e grau de esclerofilia foliar de guanandi em floresta ombrófila densa do Paraná**. Curitiba-PR, 2008. 80p. (Dissertação de Mestrado em Ciências do Solo) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- SILVA, B. M. S.; MÔRO, F. V. Aspectos morfológicos do fruto, da semente e desenvolvimento pós-seminal de faveira (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. - Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 3, p. 195-201, 2008.
- SILVA, L. D.; HIGA, A. R. Planejamento e implantação de pomares de sementes de espécies florestais nativas. In: HIGA, A. R.; SILVA, L.D. **Pomar de sementes de espécies florestais nativas**. Curitiba-PR. Ed. FUPEF, 2006. 266p.
- SILVEIRA, M. A.; VILLELA, F. A.; TILLMANN, M. A. A. Maturação fisiológica de sementes de calêndula (*Calendula officinalis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.2, p.31-37, 2002.
- SMIDERLE, O. S.; MINAMI, K. Emergência e vigor de plântulas de goiabeira em diferentes substratos. **Revista Científica Rural**. v.6, n.1, p.38-45, 2001.
- SPERA, M. R. N.; CUNHA, R. TEIXEIRA, J. B. Quebra de dormência, viabilidade e conservação, de sementes de buriti (*Mauritia flexuosa* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, n.12, p.1567-1572, 2001.
- STOCKMAN, A. L.; BRANCALION, P. H. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; CHAMMA, H. M. C. P. Sementes de ipê-branco *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand. – Bignoniaceae): temperatura e substrato para o teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.139-143, 2007.
- VASQUEZ, W.; THOMSEN, K. A.; JØKER, D. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. In: SACANDÉ, M.; JØKER, D.; DULLOO, M. E.; THOMSEN, K. A. **Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds**. International Plant genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. p.285-294.
- VIANI, R. A. G.; RODRIGUES, R. R. Sobrevivência em viveiro de mudas de espécies nativas retiradas da regeneração natural de remanescente florestal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.8, p.1067-1075, 2007.
- YU, F.; CHEN, S. Morphological and biochemical changes of *Aesculus chinensis* seeds in the process of maturation. **New Forests**, v.43, p.429-440, 2012.

6. CAPÍTULO I - MATURAÇÃO DE SEMENTES DE ESPÉCIE NATIVA: *Calophyllum brasiliense* Camb. (GUANANDI) NA MATA ATLÂNTICA

RESUMO: Para obtenção de sementes de qualidade e, conseqüentemente, sucesso na composição de uma área florestal, é fundamental coletá-las no momento mais adequado, fazendo-se necessário o conhecimento prévio da maturação das sementes da espécie a ser explorada. Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar o processo de maturação de sementes de guanandi, visando identificar o ponto ideal de coleta. Para tanto, foi realizado o monitoramento do ciclo reprodutivo de uma população de plantas localizadas no litoral do Estado do Paraná, desde a antese até a dispersão dos frutos. Realizaram-se coletas mensais, sendo avaliados aspectos morfológicos e físicos de frutos e embriões (cor, tamanho, massa seca, teor de água) e fisiológicos (germinação e vigor) das sementes. Conclui-se que o processo de maturação de sementes de guanandi, na região do estudo, ocorreu entre 200 e 240 DAA, com pico da antese em fevereiro e a dispersão dos frutos em outubro. O máximo acúmulo de massa seca não é sincronizado com o máximo potencial fisiológico das sementes, sendo o potencial germinativo atingido próximo à metade do processo de maturação e, o máximo vigor, alcançado somente no final do ciclo, momento considerado ideal para a coleta das sementes. As características morfológicas que auxiliam a identificação do ponto de coleta são a coloração marrom escuro do endocarpo, momento em que a polpa do fruto desprende-se facilmente do endocarpo e o embrião permanece fracamente aderido ao tegumento.

Palavras-chave: Calophyllaceae; fenologia reprodutiva; maturidade fisiológica; vigor.

SEED MATURATION OF A BRAZILIAN NATIVE SPECIES: *Calophyllum brasiliense* Cambess. (GUANANDI) IN THE ATLANTIC FOREST

ABSTRACT: In order to obtain good-quality seeds and, consequently, a successful composition of a forest area, it is fundamental to collect them at the most adequate time, and it is necessary to previously know the maturation of the seeds of the species to be explored. Therefore, the objective of this paper was to study the maturation process of guanandi seeds, with the purpose of identifying the ideal collection time. For such, the reproductive cycle of a population of plants located on the coast of the State of Paraná was monitored, from anthesis up to fruit dispersion. Monthly collections were made, and morphological and physical aspects of the fruits and embryos were evaluated (color, size, dry mass, water content), as well as the physiological aspects (germination and vigor) of the seeds. It was concluded that the maturation process of the guanandi seeds, in the studied region, occurred between 200 and 240 DAA, with peak anthesis in February and fruit dispersion in October. The maximum dry mass accumulation is not synchronized with the maximum physiological potential of the seeds, and the germination potential was reached by the middle of the maturation process, the maximum vigor was reached only at the end of the cycle, and this moment is considered ideal for seed collection. The morphological characteristics that help to identify the collection time are the dark-brown color of the endocarp, the time in which the pulp of the fruit comes off easily from the endocarp, and the embryo is weakly adhered to the tegument.

Keywords: Calophyllaceae; reproductive phenology; physiological maturity; vigor.

6.1. INTRODUÇÃO

Calophyllum brasiliense Cambess. (guanandi) é uma espécie nativa, não endêmica, com ampla distribuição no Brasil, de ocorrência predominante em áreas úmidas, apresentando tolerância a solos periodicamente encharcados, podendo assim ser uma alternativa para recuperação de áreas degradadas próximas a cursos hídricos. Além disso, é uma espécie promissora para exploração comercial, uma vez que possui madeira de ótima qualidade, e com compostos químicos importantes para área química e farmacêutica (Noldin et al., 2006, Oliveira e Joly, 2010; Schultz, 2011).

O processo de maturação das sementes é dependente da espécie e da região de produção, sendo consenso que o conhecimento de seu mecanismo é essencial para determinar o momento ideal de colheita das sementes, uma vez que sua realização em época inadequada compromete a qualidade fisiológica das sementes, a qual terá influência em todos os eventos futuros, como germinação, produção de mudas e, principalmente, potencial de armazenamento (Matheus et al., 2011; Carvalho e Nakagawa, 2012, Marcos-Filho, 2015).

De maneira geral, as sementes adquirem maior tolerância à perda de água com o acúmulo de massa seca, ao longo do processo de maturação (Marcos-Filho, 2015). Em sementes recalcitrantes, como o guanandi (Vasquez et al., 2004; Carvalho et al., 2006), que apresentam menor longevidade em razão, especialmente, da sua incapacidade de tolerar perda de água, o conhecimento do processo de maturação tem fundamental relevância. Estudos têm demonstrado que sementes colhidas com maior quantidade de massa seca apresentam diminuição da sensibilidade à perda de água, o que tem permitido uma dessecação moderada (Pérez et al., 2012).

Neste sentido, a coleta das sementes, principalmente de espécies recalcitrantes, deve ser realizada o mais próximo possível da maturidade fisiológica, ou seja, quando o máximo acúmulo de reservas e provável máximo potencial fisiológico é alcançado, o que certamente contribuirá para ampliar o tempo de sua conservação (Barbosa et al., 2015).

Em espécies tradicionalmente cultivadas, geralmente de comportamento ortodoxo, uma extensa literatura contribuiu para elucidar o processo de maturação e determinar a época mais adequada de colheita das sementes em diferentes regiões de cultivo. Porém, no que se refere a espécies florestais, principalmente aquelas com sementes de comportamento recalcitrante, poucos trabalhos podem ser listados, tais como os de *Eugenia uniflora* (Avila et al., 2009), *Aesculus chinensis* (Yu e Chen, 2012), *Pritchardia remota* (Pérez et al., 2012),

Inga vera (Caccere et al., 2013), *Eugenia pyriformis* (Lamarca et al., 2013) e *Copernicia hospita* (Pereira et al., 2014).

O avanço das pesquisas na área de tecnologia de sementes florestais, como a definição de protocolo para condução de testes de germinação; formas de conservação das sementes; sanidade; produção de mudas e melhoramento genético, principalmente com as espécies nativas, é dependente do conhecimento prévio do processo de maturação e da determinação do ponto de maturidade fisiológica.

As principais modificações observadas durante o processo de maturação da semente são no teor de água, na massa seca, no tamanho, no potencial fisiológico (germinação e vigor), aliado às características morfológicas que auxiliam na identificação prática da maturidade fisiológica e do momento mais adequado para a colheita (Barbosa et al., 2015; Marcos-Filho, 2015).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar o processo de maturação das sementes de *Calophyllum brasiliense* (guanandi), analisando as características morfológicas e físicas de frutos e sementes, bem como o potencial fisiológico das sementes, com o intuito de identificar o momento mais adequado para sua coleta.

6.2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido durante os meses de fevereiro a outubro, em três anos consecutivos (2013, 2014 e 2015), utilizando-se uma população composta por 15 árvores, localizada entre os pontos geográficos (25° 22' 56,863" S; 48° 46' 59,272" W; 25° 21' 41,152" S e 48° 46' 9,419" W) compreendendo uma distância máxima de aproximadamente dois quilômetros, entre a primeira e a última árvore acompanhada, em área natural da Mata Atlântica, no município de Antonina, Paraná.

O clima regional é classificado como Cfa segundo Köppen (Caviglione et al., 2000), ou seja, clima subtropical com temperaturas médias de 18 °C e 22 °C, respectivamente, no mês mais frio e no mês mais quente, apresentando verões quentes e geadas pouco frequentes, com chuvas concentradas no verão, sem estação seca definida. Na Figura 1 encontram-se as médias de temperatura e o acumulado de precipitação mensal da região durante o período da pesquisa.

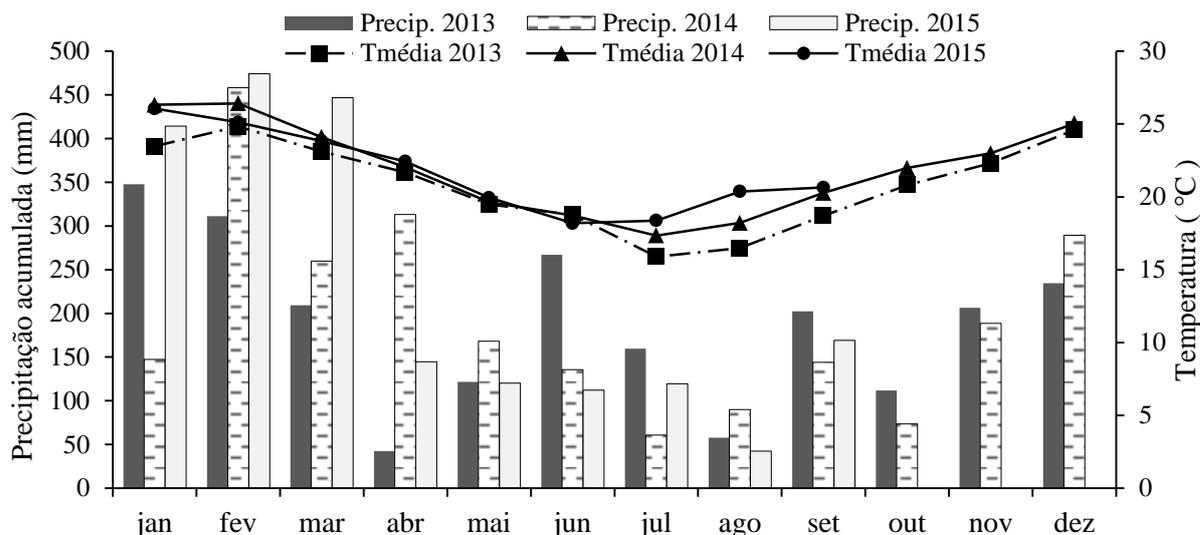


Figura 1: Dados climáticos do município de Antonina, Paraná. Precipitação acumulada e temperaturas médias mensais nos anos de 2013, 2014 e 2015. Fonte dos dados: Estação meteorológica de Antonina, PR – Sistema Meteorológico do Paraná (Simepar).

Para acompanhar o período de maturação dos frutos e sementes, as plantas selecionadas passaram a ser monitoradas periodicamente (15-30 dias) para identificação do início de seu período reprodutivo. Constatado o início desse período, por meio de brotações florais, as plantas foram monitoradas a cada sete a 10 dias, até ser identificado que 50% das flores estavam em antese, ou seja, flores abertas. A partir deste momento, foi acompanhado o desenvolvimento de frutos e sementes por meio de coletas mensais, até a completa dispersão dos frutos.

O monitoramento do processo de maturação foi realizado por meio da avaliação de características morfológicas e físicas dos frutos e das sementes (coloração, tamanho, teor de água e massa seca), bem como por características fisiológicas (germinação e vigor).

A cada coleta colheu-se de 100 a 150 frutos, com representação de todas as plantas em período reprodutivo, coletando no mínimo cinco frutos por árvore. Os frutos colhidos eram levados ao Laboratório de sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, da Universidade Federal do Paraná, lavados em água corrente, secos com papel toalha, e homogeneizados manualmente.

Após esse procedimento, quatro repetições de cinco frutos escolhidos aleatoriamente foram avaliadas quanto a coloração externa (epicarpo) e interna (endocarpo) e o tamanho dimensionado por medições do diâmetro vertical e horizontal dos frutos e embriões (cotilédones e eixo embrionário), com auxílio de paquímetro digital (0,1 mm). Na determinação do diâmetro vertical dos frutos, posicionou-se as extremidades do paquímetro

no ponto de inserção do pedúnculo ao seu ápice oposto; para o diâmetro horizontal, utilizou-se a porção mediana do fruto. No caso dos embriões foi realizada a retirada do endocarpo, tegumento e endosperma (quando presente), deixando o embrião nu (composto por cotilédones e eixo embrionário), medindo o diâmetro vertical a partir do ápice do eixo embrionário ao seu ápice oposto e, o diâmetro horizontal, na porção mediana, posicionando as extremidades do paquímetro de um cotilédone ao outro, de forma que a linha de sutura dos cotilédones permanecesse centralizada. Durante o processo de maturação, principalmente nos estádios iniciais, foi necessário auxílio de microscópio estereoscópico para visualização do embrião.

Para a determinação da massa seca, utilizou-se uma amostra de 20 frutos e embriões divididos em quatro repetições. Os frutos foram fragmentados e pesados em balança analítica (0,001 g) determinando-se sua massa fresca, sendo acondicionados posteriormente em papel tipo Kraft e levados à estufa de circulação de ar a 65 °C, até obtenção de massa constante. Para a determinação da massa secas dos embriões foram adotados os mesmos procedimentos acima citados.

A avaliação do teor de água dos embriões foi realizada com duas repetições de cinco embriões, que foram acondicionados em cápsulas de alumínio e levadas a estufa 101-105 °C por 17 horas, sendo os dados obtidos na base úmida conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Para a determinação do poder germinativo utilizou-se cinco repetições de 10 embriões, sem endocarpo e tegumento, distribuídos em quatro folhas de papel toalha, umedecidos com água na proporção de 2,5 vezes a massa seca do substrato, levados ao germinador do tipo Mangelsdorf a 30 °C, retirando-se o envoltório das sementes (Silva et al., 2014). As avaliações foram realizadas semanalmente até que a germinação permanecesse constante.

A determinação do vigor das sementes foi realizada juntamente com o teste de germinação, por meio do índice de velocidade de germinação - IVG (Maguire, 1962) e da primeira contagem da germinação (Silva et al., 2014).

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e os dados analisados pela ANOVA. Realizou-se análise de regressão ajustando a equação com base na significância e coeficiente de regressão. Utilizou-se o programa estatístico Assistat (Silva, 2015).

6.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ano de 2013, não foi possível realizar o monitoramento do processo de maturação das sementes de guanandi, uma vez que apesar das plantas iniciarem o seu ciclo reprodutivo com emissão de botões florais e, entrarem em antese, não conseguiram dar sequência ao ciclo, apresentando alto índice de abortamento das flores e queda dos frutos em estádios iniciais de desenvolvimento, permanecendo uma quantidade muito pequena de frutos nas árvores, inviabilizando o estudo desse primeiro período. Mesmo assim, o monitoramento se estendeu durante todo o referido ano para verificar uma possível floração tardia, o que não aconteceu. Neste sentido, o acompanhamento do processo de maturação foi viabilizado a partir do ano de 2014.

A não produção de frutos em 2013 provavelmente está relacionada ao regime hídrico da região, já que nos anos seguintes de produção (2014 e 2015) observou-se que o pico de floração da população de plantas monitoradas ocorreu no mês de fevereiro. Assim, o volume de precipitação nos primeiros meses do ano pode ser determinante para a consolidação do ciclo reprodutivo dessas plantas. Ao se observar os acumulados de precipitação entre os meses de fevereiro a abril (Figura 1), verifica-se que em 2013 o volume foi bem inferior (563,2 mm) ao dos anos seguintes (1.031 e 1.065,4 mm, respectivamente, em 2014 e 2015), o que pode ter determinado o alto índice de abortamento das flores e dos frutos.

De maneira geral, o processo de maturação dos frutos e das sementes de guanandi ocorreu de forma semelhante nos anos de coleta (2014 e 2015). Ressalta-se que em 2015 ocorreu um ciclo um pouco mais longo, sendo que a antese das flores (caracterizada por 50% ou mais de plantas florescidas) ocorreu com aproximadamente 10 dias de antecipação e se estendeu durante todo o ciclo, com desenvolvimento mais lento do embrião.

O ciclo mais curto observado em 2014 pode estar relacionado ao menor regime hídrico ocorrido ao longo do processo (Figura 1), uma vez que ao comparar o acumulado de precipitação entre outubro de 2013 e setembro de 2014, com o de outubro de 2014 e setembro de 2015, observa-se que para o ciclo de 2015 houve acréscimo de 264,6 mm de precipitação, o que certamente fez com que a planta estendesse o ciclo reprodutivo pela maior disponibilidade hídrica.

Lamarca et al. (2013), ao estudar o processo de maturação de sementes recalcitrantes de uvaia (*Eugenia pyriformis*) em diferentes condições climáticas, observaram também encurtamento do ciclo reprodutivo quando houve diminuição do regime hídrico.

A coloração dos frutos de guanandi durante o processo de maturação (Figura 2) foi marcada pela alteração gradativa da tonalidade do epicarpo (camada mais externa do fruto), de verde mais claro e uniforme para verde mais escuro, que passou a ser predominante aos 110 DAA (dias após a antese), persistindo até o final do processo. Observou-se com o decorrer do tempo que a exposição dos frutos ao ambiente, no campo, fez com que adquirissem pequenas manchas escuras no epicarpo, fazendo com que aparentassem uma coloração desuniforme em algumas ocasiões (Figura 2A), essas manchas podem ser decorrentes de atritos diversos a qual o fruto permanece exposto, seja pela ação do vento, ou ainda por tentativas de predação por insetos.



Figura 2: Desenvolvimento de frutos e embriões de *Calophyllum brasiliense* (guanandi) durante o processo de maturação. Linha A – frutos inteiros. Linha - B frutos cortados, visualização interna. Linha C – embriões. Imagens representam a sequência do desenvolvimento de 27 a 209 dias após antese (DAA).

Por meio da morfologia interna dos frutos nos estádios iniciais observa-se, de fora para dentro, uma camada composta pelo epicarpo, mesocarpo e o endocarpo (que limita o pericarpo às sementes), o qual foi marcado por uma linha branca amarelada (Figuras 2B e 3A). Mais internamente, a partir do endocarpo, foi possível visualizar uma camada maior formada por uma massa branca, sendo este o endosperma celular (sólido), formado por células com parede celular; e mais ao centro, endosperma nuclear (líquido), formado por células com núcleos livres, caracterizando-se assim como endosperma helobial (Carvalho e Nakagawa, 2012) (Figura 3A), o embrião pequeno e translúcido de coloração esverdeada encontra-se envolto do endosperma (Figura 2C). Nos estádios iniciais de desenvolvimento não foi possível identificar o tegumento, pois este se encontra aderido ao endocarpo.

Durante estágios iniciais (27 e 47 DAA) de acompanhamento do processo de maturação dos frutos de guanandi, quando as sementes apresentavam endosperma helobial e o endocarpo tenro (Figuras 2B e 3A), foram observadas visitas de pássaros às plantas, os quais perfuravam o pericarpo dos frutos e se alimentavam da porção líquida do endosperma.

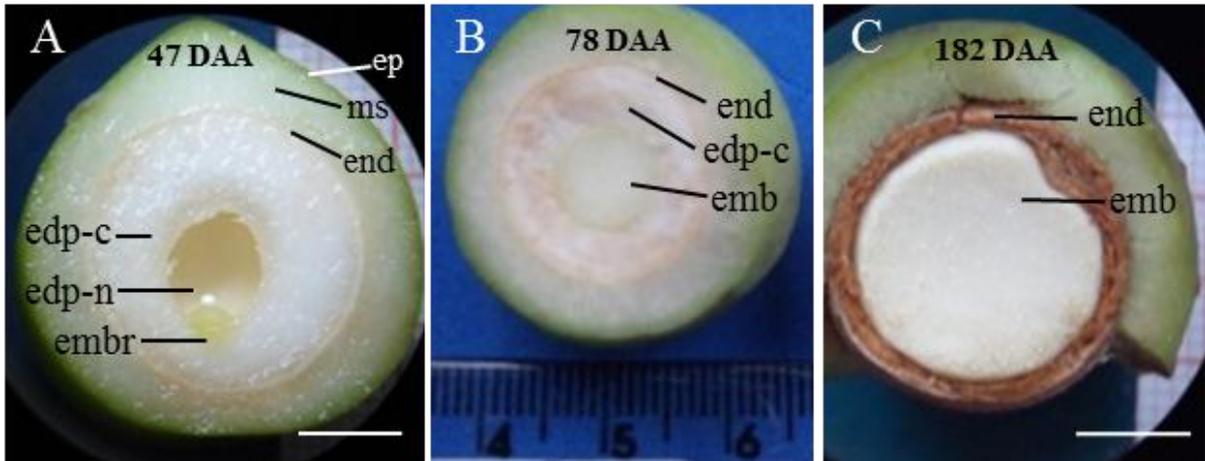


Figura 3: Frutos de guanandi em corte longitudinal. A e B – frutos em estádios iniciais de desenvolvimento, com destaque para presença de endosperma helobial (nuclear e celular) e apenas endosperma celular, respectivamente. C – fruto ao final do processo de maturação, sem a presença de endosperma. (ep) epicarpo. (edp-c) endosperma celular. (edp-n) endosperma nuclear. (embr) embrião. (end) endocarpo. (ms) mesocarpo. Barras brancas representam escala de 10 mm.

A partir do estágio seguinte (78 DAA) (Figuras 2B e 3B) foi possível observar apenas o endosperma celular envolvendo o embrião, passando a apresentar aspecto mais fibroso. O endocarpo, por sua vez, adquiriu coloração mais amarelada e maior rigidez. O embrião (Figura 2C) encontra-se mais desenvolvido, não translúcido e com coloração creme.

Nos estádios seguintes (110 e 133 DAA) (Figura 2B), o endosperma apresenta-se quase inexistente, reduzido a uma pequena camada esbranquiçada, ou seja, sendo praticamente consumido durante o desenvolvimento do embrião, que agora ocupa praticamente toda a cavidade interna. O endocarpo torna-se ainda mais rígido e adquire uma coloração entre amarelo intenso e marrom claro; foi possível observar mais claramente, a partir de 133 DAA, a presença do tegumento de coloração amarelada abaixo do endocarpo envolvendo o embrião.

Aos 155 DAA (Figura 2B) observou-se predominância de frutos com aspectos internos semelhantes ao estágio anterior (133 DAA); entretanto, alguns frutos apresentaram endocarpo com tonalidade marrom mais escuro, e a face interna do tegumento com a mesma

coloração marrom, não observando mais a presença do endosperma, que a partir desse estágio, já foi totalmente consumido pelo embrião. Com 182 DAA, a predominância das características dos frutos se inverteu, ficando mais frequentes aqueles com endocarpo e tegumento marrom escuro.

Aos 209 DAA, quando se encerraram as coletas e, uma boa parte dos frutos já havia se desprendido da planta, a polpa dos frutos apresentava-se fracamente aderida ao endocarpo e todos os frutos apresentavam o endocarpo e tegumento com coloração marrom escuro, sendo o embrião mais fracamente aderido a essas estruturas (Figura 2B).

Nos estádios mais tardios (182 e 209 DAA), verificou-se que outros animais da fauna (provavelmente os morcegos), passaram a se alimentar da polpa dos frutos. Tal constatação ocorreu pela visualização de grande quantidade de frutos parcialmente comidos e jogados ao chão nas proximidades das árvores monitoradas. Também nestes estádios, diferentemente dos anteriores, percebeu-se um sabor mais adocicado da polpa. Assim, é possível inferir que nestes estádios iniciou a dispersão dos frutos e sementes pela fauna, indicando que seria o ponto mais adequado para coleta das sementes. Mello et al. (2005) sugeriram que morcegos do gênero *Artibeus* contribuem para o sucesso reprodutivo de *Calophyllum brasiliense*, por selecionarem os maiores frutos das árvores ao se alimentarem.

Diferentes trabalhos atribuíram a coloração dos frutos e do tegumento das sementes como critérios de sucesso no monitoramento do processo de maturação e como determinação do ponto adequado de coleta (Avila et al., 2009; Matheus et al., 2011; Lamarca et al., 2013; Pereira et al., 2014). No caso do guanandi, a alteração da coloração externa dos frutos não demonstrou ser um bom critério para estabelecer o ponto de coleta, uma vez que não houve mais alteração da coloração a partir de 110 DAA (Figura 2A), na fase que corresponde à metade de todo o período de maturação. Entretanto, a coloração do endocarpo e da face interna do tegumento (que adquirem tonalidade marrom escuro nos estádios finais do processo), aliado ao fácil desprendimento da polpa sobre o endocarpo e do embrião ao endocarpo e tegumento (Figuras 2B e 3C), são bons indicativos para identificação do ponto de coleta das sementes.

A observação do embrião, nos primeiros estádios de desenvolvimento em 2014 (27 a 47 DAA) e em 2015 (28 a 76 DAA) somente foi possível com auxílio de um microscópio estereoscópico (Figura 2C). Os embriões, quando observados, mediram entre 1,0 e 5,0 mm de diâmetro vertical e horizontal (dados não apresentados), não sendo possível realizar a

avaliação de suas características físicas e fisiológicas, que passaram a ser realizadas a partir de 78 DAA em 2014 e, de 113 DAA, em 2015 (Figura 2B).

Tabela 1: Fenologia reprodutiva de *Calophyllum brasiliense* (guanandi), no município de Antonina- PR.

Meses	Desenvolvimento de frutos e sementes
fevereiro	Floração - 50% das flores em antese
março – abril	Desenvolvimento inicial de fruto e semente – presença de endosperma helobial
maio – julho	Desenvolvimento e crescimento de fruto e sementes – presença apenas de endosperma celular (sólido)
agosto – setembro	Frutos e sementes desenvolvidas - máximo acúmulo de massa seca
outubro	Dispersão natural dos frutos - máximo potencial fisiológico

O desenvolvimento reprodutivo do guanandi se mostrou muito semelhante nos anos de 2014 e 2015, iniciando com abertura das flores em fevereiro e a dispersão dos frutos em outubro. Na Tabela 1, está representada a fenologia reprodutiva, representando os aspectos mais marcantes durante o desenvolvimento dos frutos e sementes durante todo o processo de maturação.

Os frutos e as sementes de guanandi, em ambos os anos de monitoramento, apresentaram o tamanho (diâmetro vertical - Dv e diâmetro horizontal - Dh) máximo próximo à metade do processo de maturação (Figuras 4A e 4B), fato comumente verificado durante esse processo (Barbosa et al., 2015), ficando estável por três a quatro coletas, com posterior diminuição, geralmente associada à perda de água no final da maturação (Avila et al., 2009; Carvalho e Nakagawa, 2012; Lamarca et al., 2013).

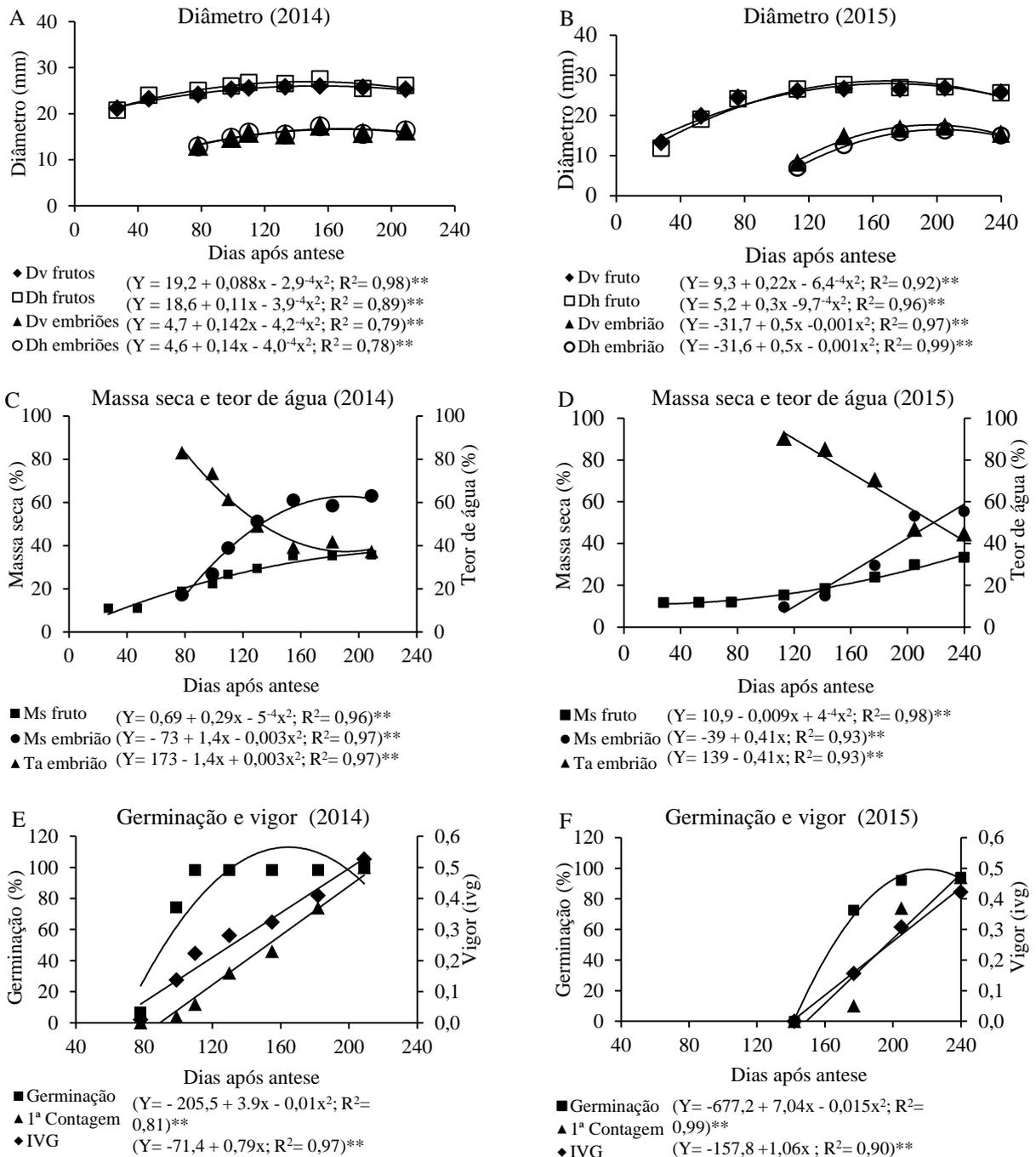


Figura 4: Desenvolvimento de frutos e sementes de *Calophyllum brasiliense* (guanandi) durante o processo de maturação, nos anos de 2014 e 2015. A e B – diâmetro de frutos e embriões. C e D – massa seca de frutos e embriões. E e F – germinação, 1ª contagem e índice de velocidade de germinação (IVG) de embriões. (Dv) diâmetro vertical. (Dh) diâmetro horizontal. (Ms) massa seca. (Ta) teor de água. (**) significância $p < 0,01$.

As sementes de guanandi, por serem recalcitrantes, não passam por processo de secagem intenso durante a maturação. Neste sentido, o teor de água inicial dos embriões foi

próximo de 82,0 e 90,0%, atingindo cerca 39,0 e 47,0% no final do processo de maturação, respectivamente nos anos de 2014 e 2015 (Figuras 4C e 4D).

O teor de água inicial das sementes normalmente é bastante elevado, próximo a 80,0% na base úmida, permanecendo por um período inicial inalterado, assim como a massa seca, decorrente do fato das células estarem na fase de intensa divisão e expansão (Marcos-Filho, 2015). O teor de água dos embriões de guanandi, nas primeiras coletas, não pode ser mensurado devido ao seu tamanho muito reduzido; no entanto, ao se determinar a massa seca dos frutos nos estádios iniciais (cuja composição inclui o embrião) observa-se uma estabilidade da variável nas primeiras coletas, seguido de um período de crescimento, e depois nova tendência a estabilização nas últimas coletas. Para o embrião, a partir do momento em que foi possível medi-lo individualmente, notou-se aumento contínuo da massa seca até a estabilização para as três últimas coletas em 2014 e para as duas últimas em 2015 (Figuras 4C e 4D).

A perda de água dos embriões de guanandi, em razão do comportamento recalcitrante da semente, foi mais contínua e acentuada nos estádios iniciais do processo de maturação, apresentando uma perda entre 40,0 e 46,0% de água do início ao final da maturação, quando então se aproximou a estabilização (Figura 4C e 4D). Yu e Chen (2012) também observaram decréscimo mais acentuado no teor de água de sementes de *Aesculun chinense* nos primeiros estádios do processo de maturação, com posterior estabilização. Marcos-Filho (2015) ressaltou que, em sementes ortodoxas, a perda de água é mais gradativa no início do desenvolvimento e se acentua após alcançar o máximo acúmulo de massa seca, entrando assim em estado de quiescência ou de dormência, o que não ocorre com sementes recalcitrantes, que se desprendem da planta mãe com alto índice de umidade e prontas para germinar.

O máximo acúmulo de massa seca foi alcançado aos 155 DAA em 2014, quando não houve mais transferência de reservas significativas da planta mãe para os embriões. Contudo, no ano de 2015, com o atraso nos estádios do processo de maturação, o máximo acúmulo de massa seca dos embriões ocorreu somente aos 205 DAA.

Aos 99 DAA (2014) e 177 DAA (2015), houve formação de plântulas normais, com total de 74 e 73% em 2014 e 2015, respectivamente (Figura 4E e 4F). Nas coletas seguintes, não houve mais diferenças significativas, alcançando estabilização, com apresentação de um total de plântulas normais entre 98 e 100% (2014) e 92 e 94% (2015).

No guanandi, a estabilização da germinação no ano de 2014 não foi sincronizada com o máximo acúmulo de massa seca, uma vez que a germinação total já havia alcançado 98% com 110 DAA (Figura 4E) e o máximo acúmulo ocorreu a partir de 155 DAA (Figura 4C). Por outro lado, em 2015 a estabilização tanto da germinação quanto do acúmulo de reservas ocorreu a partir de 205 DAA. Tal estabilização não foi evidenciada para o vigor da semente, em ambos os anos, avaliado pelo índice de velocidade e pela primeira contagem de germinação (Figuras 4E e 4F), que foi crescente e atingiu o máximo na última coleta.

A capacidade de germinação do embrião teve início antes da maturidade fisiológica das sementes, pois ao serem colocados para germinar aos 78 DAA (2014) e aos 113 e 142 DAA (2015) conseguiram emitir raízes primárias (Figura 5A). Conforme ressaltou Marcos-Filho (2015), as sementes de diversas espécies são capazes de germinar pouco tempo depois de ocorrida a fecundação; contudo, trata-se apenas da emissão da raiz primária e não emissão da parte aérea com determinação de plântula normal, capacidade adquirida após completa histodiferenciação. O percentual de formação de plântulas normais é cada vez maior conforme há o acúmulo de reservas ao longo do processo, não havendo possibilidade de obtenção de plântulas vigorosas nos estádios iniciais, o que geralmente pode ocorrer próximo ao máximo acúmulo da massa seca. Neste momento, as sementes passam a ser independentes da planta mãe, não recebendo mais fotoassimilados, estando teoricamente na maturidade fisiológica (Carvalho e Nakagawa, 2012).

Antes dos embriões alcançarem o máximo vigor, foi observada grande desuniformidade na sua germinação (Figuras 5B a 5E), porém, atingido o máximo vigor, a uniformidade, quanto a formação de plântulas normais, ficou mais evidente, uma vez que praticamente todos os embriões colocados para germinar simultaneamente formaram plântulas com possibilidade de serem consideradas normais (raiz primária e primeiro par de folhas desenvolvidos) ao mesmo tempo, apesar de ainda ser observado uma diferença entre as plântulas com relação a parte aérea, sendo estas mais ou menos desenvolvidas, característica frequentemente observada em testes com espécies geneticamente não melhoradas (Figura 5F). Esse comportamento fica evidenciado quando se observa o percentual de plântulas normais obtido na primeira contagem da germinação, sendo que no ano de 2014 foi de 12, 32, 46, e 74%, respectivamente, para as coletas em 110, 133, 155 e 182 DAA, enquanto que aos 209 DAA, houve 100% de formação de plântulas normais na primeira contagem. O mesmo comportamento foi verificado nas duas últimas coletas em 2015 (Figura 4F).



Figura 5: Plântulas de *Calophyllum brasiliense* (guanandi) com vários dias após a sementeira (DAS), originadas de embriões coletados em diferentes dias após a antese (DAA), durante o processo de maturação em campo. A – plântulas com 65 DAS de embriões com 78 DAA. B – plântulas com 34 DAS de embriões com 99 DAA. C, D e E – plântulas com 24 DAS de embriões com 110, 133 e 155 DAA, respectivamente. F – plântulas com 19 DAS de embriões com 209 DAA.

Em algumas espécies, o máximo acúmulo de massa seca pode não coincidir com o ponto de maturidade fisiológica das sementes, por elas ainda não terem atingido o máximo potencial fisiológico; tal ocorrência é passível de ser observada em espécies que produzem frutos carnosos (Marcos-Filho, 2015), como o guanandi, classificados como do tipo drupa (Barroso, 1999). Neste caso, como já relatado por Ellis e Pieta-Filho (1992) talvez o termo “maturidade de massa” seja o mais adequado para se referir ao ponto de máximo acúmulo de massa seca, ficando o termo “maturidade fisiológica” para ser empregado quando a máxima qualidade fisiológica da semente tenha sido atingida.

Em estudo sobre maturação de sementes de pitanga, espécie com comportamento recalcitrante semelhante ao guanandi, Avila et al. (2009) também não observaram sincronia entre início do poder germinativo das sementes e o máximo acúmulo de massa seca, uma vez que as sementes alcançaram percentual de germinação de 86% aos 42 DAA e estabilização da máxima massa seca a partir de 63 DAA.

Em sementes de palma (*Pritchardia remota*), espécie recalcitrante que apresenta reserva endospermática, o processo de acúmulo de massa seca do embrião foi dessincronizado com a do endosperma e do fruto, alcançando o máximo acúmulo aos 250 DAA, enquanto que o endosperma e fruto aos 340 DAA; a máxima germinação e vigor só foram alcançados entre 340 e 400 DAA, sendo o último ponto marcado pela queda dos frutos (Pérez et al., 2012).

A dessincronia entre a maturidade fisiológica e o máximo acúmulo de massa seca não é característica exclusiva de espécies com sementes recalcitrantes, pois em sementes de espécies ortodoxas esse comportamento também já foi observado. Nakagawa et al. (2010) observaram em sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*), as quais são ortodoxas, que apesar de terem atingido a máxima massa seca ainda não apresentavam capacidade de germinar, ou seja, param de receber foto assimilados da planta mãe e ainda não atingem a maturidade fisiológica, necessitando segundo os autores de passarem por processo de secagem.

6.4. CONCLUSÕES

O processo de maturação de sementes de guanandi, na região de Antonina-PR, tem duração de 200 e 240 dias, com pico da antese das flores no mês de fevereiro e dispersão dos frutos e das sementes em outubro.

O máximo acúmulo de massa seca das sementes não é sincronizado com o máximo potencial fisiológico. O potencial germinativo das sementes foi alcançado próximo à metade do processo de maturação, enquanto que o máximo vigor foi atingido apenas ao final, sendo este o momento ideal para a coleta das sementes.

As características morfológicas que auxiliam a identificação do ponto de coleta são: polpa do fruto e embrião fracamente aderida ao endocarpo e tegumento, e coloração marrom escuro desses tecidos.

6.5. REFERÊNCIAS

- AVILA, A.L.; ARGENTA, M.S.; MUNIZ, M.F.B.; POLETO, I.; BLUME, E. Maturação fisiológica e coleta de sementes de *Eugenia uniflora* L. (pitanga), Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v.19, n.1, p.68-68, 2009.
- BARBOSA, J.M.; RODRIGUES, M.A.; BARBÉRIO, M.; ARAUJO, A.C.F.B.; Maturação de sementes de espécies florestais tropicais. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p.180-189.
- BARROSO, G.M. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV, 1999. 443p.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395p.
- CACCERE, R.; TEIXEIRA, S.P.; CENTENO, D.C.; RIBEIRO, R.C.L.F.; BRAGA, M.R. Metabolic and structural changes during early maturation of *Inga vera* seeds consistent with the lack of a desiccation phase. **Journal Plant Physiology**, v.170, p.791-800, 2013.
- CARVALHO, M.N.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590p.
- CARVALHO, R.L.; SILVA, E.A.A.da, DAVIDE, A.C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.15-25, 2006.
- CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>. Acesso em: 10 set. 2015.
- LAMARCA, E.V.; PRATAVIEIRA, J.S.; BORGES, I.F.; DELGADO, L.F.; TEIXEIRA, C.C.; CAMARGO, M.B.P. de; FARIA, J.M.R.; BARBEDO, C.J.; Maturation of *Eugenia pyriformis* seeds under different hydric and thermal conditions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, n.1, p.223-233, 2013.

- MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2 ed. Londrina, PR: ABRATES, 2015. 660 p.
- MATHEUS, M.T.; LOPES, J.C.; CORRÊA, N.B. Maturação fisiológica de sementes de *Erythrina variegata* L. **Ciência Florestal**, v.21, n.4, p.619-627, 2011.
- MELLO, M.A.R.; LEINER, N.O.; GUIMARÃES JR., P.R.; JORDANO, P. Size-based fruit selection of *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae) by bats of the genus *Artibeus* (Phyllostomidae) in a Restinga area, southeastern Brazil. **Acta Chiropterologica**, v.7, n.1, p.179-182, 2005.
- NAKAGAWA, J., MORI, E.S.; PINTO, C.S.; FERNANDES, K.H.P.; SEKI, M.S.; MENEGHETTI, R.A. Maturação e secagem de sementes de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (canafístula). **Revista Árvore**, v.34, n.1, p.49-56, 2010.
- NOLDIN, V.F.; ISIAS, D.B.; CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Nova Química**, v.29, n.3, p.549-554, 2006.
- OLIVEIRA, V.C.; JOLY, C.A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth response. **Trees**, v.24, p.85-193, 2010.
- PEREIRA, D.S.; SOUSA, J.E.S.; PEREIRA, M.S.; GONÇALVES, N.R.; BEZERRA, A.M.E. Influência da maturação dos frutos na emergência e no crescimento inicial de *Copernicia hospita* Mart. – Arecaceae. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.1, p.214-220, 2014.
- PÉREZ, H.E.; HILL, L.M.; WLATERS, C. An analysis of embryo development in plam: interaction between dry matter accumulation and water relations in *Pritchardia remota* (Arecaceae). **Seed Science Research**, v.22, v.2, p.97-111, 2012.
- ELLIS, R.H.; PIETA FILHO, C. The development of seed quality in spring and winter cultivars of barley and wheat. **Seed Science Research**, v.2, p.9-15, 1992.
- SCHULTZ, J. *Calophyllum brasiliense*: Olandi. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. p.440-443.

SILVA, F.A.S. **Sistema de Assistência Estatística – ASSISTAT versão 7.7 beta**. Departamento de Engenharia Agrícola (DEAG) do CTRN da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande – PB, 2015. Disponível em: <http://www.assistat.com/>. Acesso em 01 de abril de 2015.

SILVA, R.C da; VIEIRA, E.S.N.; PANOBIANCO, M. Técnicas para superação de dormência de sementes de guanandi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 9, p. 719-727, 2014.

VASQUEZ, W.; THOMSEN, K.A.; JØKER, D. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. In: SACANDÉ, M.; JØKER, D.; DULLOO, M.E.; THOMSEN, K.A. **Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. p.285-294.

YU, F.; CHEN, S. Morphological and biochemical changes of *Aesculus chinensis* seeds in the process of maturation. **New Forests**, v.43, p.429-440, 2012.

7. CAPÍTULO II - TÉCNICAS PARA SUPERAÇÃO DA DORMÊNCIA DE SEMENTES DE GUANANDI ⁽¹⁾

RESUMO - O presente trabalho teve por objetivo estudar formas alternativas de preparo da semente de guanandi para superação da dormência física e mecânica, bem como verificar a influência dos fatores temperatura e substrato na germinação das sementes. Para tanto, foram testados três substratos (papel, areia e vermiculita), duas temperaturas de germinação (25 e 30 °C) e diversos tratamentos para superação da dormência das sementes. Adicionalmente, realizaram-se testes de vigor (índice de velocidade de germinação e emergência de plântulas em campo) e foi elaborada a curva de embebição obtida por meio de diferentes tipos de preparo da semente. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que: para completa superação da dormência física e mecânica das sementes de guanandi é necessária a retirada total do envoltório (endocarpo e tegumento); a germinação das sementes deve ser realizada em substrato papel sob a temperatura de 30 °C.

Palavras-chave: *Calophyllum brasiliense*, florestal nativa, recalcitrante, germinação.

(1) Artigo publicado na Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.49, n.9, p.719-727, 2014.

TECHNIQUES FOR OVERCOMING DORMANCY IN GUANANDI SEEDS

ABSTRACT – The present work aimed to study alternative ways of preparing the guanandi seed to overcome physical and mechanical dormancy, as well as to verify the effect of temperature and substrate factors on the germination of guanandi seed. For that purpose, three substrates (paper, sand and vermiculite), two germination temperatures (25 and 30 °C), and diverse treatments were tested for overcoming of seed dormancy. In addition, vigor tests were performed (index of germination speed and emergence of seedling) and an imbibitions curve was created with different types of seed preparation. Based on the results obtained, it may be concluded that for complete overcoming of the physical and mechanical dormancy of seeds guanandi is required total withdrawal wrap (endocarp and testa); seed germination should be held in paper substrate under the temperature of 30 ° C.

Keywords: *Calophyllum brasiliense*, native forest, recalcitrant, germination.

7.1. INTRODUÇÃO

Atualmente é crescente a demanda por sementes e mudas de espécies nativas, tanto para recomposição de áreas degradadas quanto para reflorestamento. *Calophyllum brasiliense* Cambessedes é uma espécie nativa, conhecida popularmente como guanandi, que ocorre no Brasil desde a região Amazônica até o norte de Santa Catarina. Trata-se de planta com alto potencial madeireiro, podendo ser cultivada especialmente em áreas próximas a cursos de água, onde o solo geralmente é pouco valorizado (Oliveira e Joly, 2010; Schultz, 2011).

A espécie também tem destaque na área farmacêutica pela sua composição química, sendo as substâncias predominantemente os metabólitos derivados de xantonas, cumarinas, flavonoides e terpenos, que têm demonstrado potencial antibacteriano, moluscicida, anti-hipertensiva, e atividade contra imunodeficiência humana (HIV-1) (Noldin et al., 2006; Braga et al., 2007; Bernabé et al., 2010; Carvalho et al., 2013).

O êxito na implantação de um projeto de produção de espécies florestais nativas depende da qualidade da semente e, conseqüentemente, da muda a ser empregada. As espécies florestais são multiplicadas principalmente por sementes, o que justifica a demanda por conhecimento dos mecanismos que interferem na germinação de espécies nativas. Neste sentido, inúmeros trabalhos são observados na literatura, com intuito de elucidar algum aspecto do processo germinativo de sementes de espécies florestais, como exemplos podem ser citados trabalhos com sementes de *Virola surinamensis* (Limas et al., 2007), *Talinum triangulare* (Brasileiro et al., 2010) e *Melocactus violaceus* (Zamith et al., 2013). No entanto, diante da elevada diversidade de espécies brasileiras com potencial econômico, ainda há muito a ser investigado. Com relação ao *Calophyllum brasiliense*, apesar de ser uma espécie de grande interesse na comercialização de sementes e mudas (Lisboa et al., 2012), poucas pesquisas têm sido voltadas para elucidar o principal problema, que é o de encontrar alternativas viáveis e práticas para germinação rápida de suas sementes.

A rapidez na germinação das sementes de guanandi se faz importante pelo fato de apresentarem comportamento recalcitrante (Vasquez et al., 2004), sendo a manutenção de sua viabilidade limitada ao longo do tempo. Fato este agravado quando há dormência, o que inviabiliza resultados rápidos e traz impacto para a comercialização das sementes, pois os resultados laboratoriais indispensáveis ao comércio de sementes podem já estar defasados em relação a sua real qualidade, uma vez que as sementes perdem a viabilidade durante o armazenamento na espera de resultados.

As sementes de guanandi possuem dormência física e mecânica imposta pela estrutura rígida que envolve o embrião. Conforme proposto por Baskin e Baskin (1998), a dormência física é imposta por impedimentos externos à entrada de água no embrião e, a dormência mecânica, está associada à restrição ao crescimento do embrião. Em ambos os casos, o embrião está fisiologicamente preparado para retomar seus processos metabólicos e germinar, sendo a dormência condicionada apenas pelas barreiras físicas, que uma vez eliminadas favorecem a germinação.

Nery et al. (2007) estudaram alguns fatores que interferem no processo germinativo das sementes de guanandi e verificaram maior rapidez da germinação com a retirada do envoltório. No entanto, é necessário maior investigação sobre este processo, principalmente em relação às formas de preparo das sementes, com intuito de facilitar o trabalho técnico e superar a dormência.

O substrato e a temperatura são fatores de grande importância, pois interferem diretamente na germinação das sementes, uma vez que o primeiro fornece água e permite adequada aeração para as sementes, e a temperatura ótima propicia maior velocidade de embebição e, conseqüentemente, ao processo germinativo (Stockman et al., 2007; Carvalho e Nakagawa, 2012).

A indicação das melhores técnicas e condições para a germinação de sementes é fundamental para embasar as avaliações de laboratório, uma vez que esta subsidia a comercialização das sementes, e por isso devem ser as mais rápidas e práticas possíveis. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo estudar diferentes formas de preparo das sementes para a superação da dormência física e mecânica, bem como verificar a influência dos fatores temperatura e substrato na germinação das sementes de guanandi.

7.2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no período de outubro de 2012 a abril de 2013 utilizando-se sementes de matrizes de guanandi (*Calophyllum brasiliense* Camb.), coletadas em áreas naturais da Mata Atlântica, localizadas no estado do Paraná, nos municípios de Antonina (25° 22' S e 48° 46' W), Matinhos (25° 47' S e 48° 31' W) e Pontal do Paraná (25° 35' S e 48° 33' W). O clima da região é classificado segundo Köppen (Caviglione et al., 2000) como Cfa (clima subtropical), com temperaturas médias de 18 °C e 22 °C no mês mais frio e mais

quente, respectivamente; apresenta verões quentes e pouca frequência de geadas, com chuvas concentradas no verão, sem estação seca definida.

Os frutos foram coletados diretamente das árvores (Figura 6A) com auxílio de foice pequena de cabo longo entre os meses de outubro e novembro de 2012, período em que se observou a dispersão natural, por meio da presença de frutos caídos do chão.

Após a coleta, os frutos foram despulpados com auxílio de um estilete (Figura 6B) e as sementes foram imersas em solução de detergente neutro (cinco gotas para cada 100 mL de água) por 5 minutos. Na sequência, foi feita a lavagem em água corrente, e os resíduos da polpa dos frutos presente nas sementes foram retirados com auxílio de esponja (Figura 6C). Após novo enxágue em água corrente, as sementes foram colocadas para secar sobre papel em ambiente com controle de temperatura (20 °C), por 48 horas. Decorrido este período, as mesmas foram acondicionadas em sacos de papel do tipo Kraft, envolvidas em sacos plásticos e armazenadas em refrigerador (5-10 °C e 35-45% UR) durante a realização dos experimentos.

Para a determinação do teor de água as sementes foram cortadas em fragmentos ≤ 7 mm e, depois de homogeneizadas, divididas em duas repetições com peso semelhante a cinco sementes inteiras. Em seguida, foram acondicionadas em cápsulas cilíndricas de alumínio previamente pesadas e colocadas em estufa a 103 ± 2 °C, por 17 ± 1 hora (Brasil, 2009).

A curva de embebição das sementes foi realizada com duas repetições de 15 sementes para cada tipo de preparo, a saber: sementes íntegras (Figura 6D); sementes nuas, sem endocarpo e sem tegumento, (Figura 6E); sementes com punctura no endocarpo, na região próxima ao eixo-embrionário (Figura 6F); e sementes com punctura no endocarpo, na região oposta ao eixo-embrionário (Figura 6G). Tanto a retirada do endocarpo e tegumento quanto a punctura foram realizadas com auxílio de estilete. A hidratação ocorreu entre papel toalha, utilizando-se quatro folhas umedecidas em água na quantidade de 2,5 vezes a massa do substrato seco.



Figura 6: Planta (ramos produtivos), semente e plântula de *Calophyllum brasiliense*. A - ramos de guanandi contendo frutos; B - remoção da polpa do fruto; C - lavagem das sementes; D - sementes íntegras; E - sementes nuas (sem endocarpo e sem tegumento); F - sementes com punctura no endocarpo, na região próxima ao eixo-embrionário; G - semente com punctura no endocarpo, na região oposta ao eixo-embrionário; H - semente cortada ($\frac{1}{3}$ do lado oposto ao eixo-embrionário); I - plântula normal (oriunda de sementes íntegras); J - plântula normal (oriunda de sementes nuas).

A hidratação foi acompanhada pela mudança na massa das sementes ao longo do período de embebição. Assim, realizaram-se pesagens em intervalos de três horas até completar as nove primeiras horas; após este período, a pesagem ocorreu a cada 24 horas,

encerrando a avaliação no momento em que 50% das sementes emitiram a raiz primária, exceto para as sementes íntegras, cuja avaliação foi encerrada aos 99 dias, quando não apresentavam mais condição de emitir raiz, devido ao avançado processo de deterioração. Antes de cada pesagem, as sementes foram secas superficialmente em papel toalha. A estimativa da porcentagem de água das sementes foi realizada baseando-se na seguinte fórmula:

$$Mf = \frac{(100 - TAI) \times Mi}{100 - TAF}$$

Onde: TAI e TAF = teor de água inicial e final (%); e Mi e Mf = massa inicial e final (g).

O estudo do teste de germinação foi realizado em duas etapas. Inicialmente, testaram-se quatro tipos de preparo, conforme descrito anteriormente, visando diminuir o tempo necessário para a germinação das sementes. O teste foi instalado com cinco repetições de 20 sementes para cada tratamento, as quais foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio (1,0 a 1,25% de cloro ativo), por cinco minutos, sendo em seguida lavadas em água corrente e secas sobre papel por aproximadamente 10 minutos, antes da semeadura. Na semeadura, as sementes foram distribuídas em rolo papel toalha, com quatro folhas de papel umedecidas em água na quantidade de 2,5 vezes a massa do substrato seco, envolvidas em sacos plásticos e mantidas em germinador do tipo Mangelsdorf, testando-se duas temperaturas de condicionamento: 25 e 30 °C, sem fornecimento de luz.

Na segunda etapa do estudo do teste de germinação, foram utilizadas 10 repetições de 20 sementes para cada tratamento, em razão da disponibilidade de material coletado, sendo testados três substratos (papel toalha, areia e vermiculita) e dois tipos de preparo das sementes: nua (sem endocarpo e sem tegumento – Figura 6E) e semente cortada em $\frac{1}{3}$ na região oposta ao eixo-embriônico (Figura 6H), obtida com o auxílio de uma lâmina de aço inox presa a um suporte de madeira, semelhante a uma guilhotina. Para a semeadura em substrato papel mesmo procedimento descrito anteriormente foi adotado para cada tratamento; para areia e vermiculita, empregou-se água na capacidade de campo, sendo que para estes dois substratos utilizou-se a granulometria média com prévia esterilização em autoclave, a 1atm e 120 °C por uma hora. As sementes foram colocadas em germinador do tipo Mangelsdorf a 30 °C, sem fornecimento de luz, sendo realizadas contagens periódicas. O

critério de avaliação foi a porcentagem de plântulas normais, caracterizadas pela presença de raiz primária e parte aérea com o primeiro par de folhas evidente (Figura 6I e 6J).

O vigor das sementes foi avaliado pelo índice de velocidade de germinação (IVG), realizado juntamente com o teste de germinação de acordo com Maguire (1962); e pelo índice de velocidade de emergência (IVE), conduzido em casa de vegetação, com 10 repetições de 20 sementes para cada um dos dois tratamentos (sementes nuas e sementes cortadas em $\frac{1}{3}$ do lado oposto ao eixo-embrionário), sendo distribuídas em caixas plásticas (40x30x15 cm) entre areia, mantidas com irrigação diária. As avaliações foram realizadas a cada sete dias a partir da emergência das primeiras plântulas, encerrando-se as contagens quando ocorreu a estabilização da emergência.

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x4 para a etapa inicial do teste de germinação (temperaturas x preparo das sementes) e em esquema fatorial 3x2 na segunda etapa de estudo do teste (substrato x preparo das sementes). Os dados foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A curva de hidratação e os dados do teor de água inicial não foram submetidos a tratamento estatístico.

7.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água inicial das sementes de guanandi antes da instalação dos testes de germinação e de vigor foi de 35,0%; para a realização da curva de hidratação, o teor foi de 33,4% de água. Tais valores são considerados normais, por se tratar de uma semente com comportamento recalcitrante, que mantém geralmente o teor de água entre 30,0 e 70,0% (Marcos Filho, 2005).

Na primeira parte do estudo do teste de germinação (Tabela 2), as sementes obtiveram melhor desempenho quando estavam totalmente livres de impedimentos físicos, ou seja, ausência de endocarpo e de tegumento, apresentando 72% de germinação, independentemente da temperatura utilizada (25 ou 30 °C). O mesmo desempenho não foi observado quando as sementes íntegras (testemunha) foram colocadas para germinar, apresentando média de 23% (Tabela 2). Em contrapartida, nos tratamentos com punctura no endocarpo, tanto na região oposta ao eixo-embrionário quanto na região próxima ao eixo-embrionário, a germinação apresentou um acréscimo médio de 31% em relação à testemunha (semente íntegra), não sendo ainda suficiente para superar a das sementes nuas.

Nery et al. (2007), ao trabalharem com sementes de guanandi, não obtiveram diferenças entre a porcentagem de germinação de sementes íntegras e sem tegumento; no entanto, vale ressaltar que os autores não utilizaram o critério de plântula normal para avaliação do teste, e sim a emissão de raiz primária e presença de parte aérea com 5,0 mm de comprimento, o que pode ter induzido a obtenção de um resultado precoce, pois no presente trabalho, para este mesmo comprimento, não foi possível observar a expansão das folhas primárias, requisito necessário para caracterizar uma plântula normal (Brasil, 2009).

Tabela 2: Germinação e Índice de Velocidade de Germinação de sementes de guanandi em substrato papel, utilizando-se duas temperaturas de incubação e quatro tipos de preparo da semente.

Temperatura	Germinação				Média
	Semente íntegra	Semente nua	Punctura oposta ao eixo	Punctura na região do	
	%.....				
25 °C	27	72	53	50	51 a
30 °C	18	72	54	57	50 a
Média	23 C	72 A	54 B	54 B	-
C.V. (%)	27,6				
Temperatura	Índice de Velocidade de Germinação (IVG)				
25 °C	0,06 aB	0,34 bA	0,13 aB	0,13 aB	
30 °C	0,05 aC	0,54 aA	0,19 aB	0,20 aB	
C.V.(%)	35,54				

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

O procedimento de retirada do endocarpo e do tegumento da semente aqui realizado mostrou-se moroso e de difícil execução, em razão da estrutura rígida do seu envoltório. Entretanto, predominam as vantagens desse preparo (sementes nuas), não somente pelo aumento da porcentagem de germinação, mas também pela rapidez do processo germinativo, uma vez que o Índice de Velocidade de Germinação (IVG) foi superior após a retirada do envoltório (Tabela 2), com destaque para a temperatura de 30 °C que acelerou o processo

germinativo das sementes nuas, apresentando média de 0,54 plântulas normais por dia. Tal fato reforça a necessidade de investimento em pesquisas sobre procedimentos para facilitar a retirada do endocarpo e do tegumento das sementes de guanandi.

Brancaion et al. (2010), ao trabalharem com 272 espécies arbóreas nativas, observaram que 25 °C foi a temperatura mais indicada para germinação das espécies do Cerrado e da Mata Atlântica, e 30 °C a mais adequada para as espécies do bioma Amazônia. A temperatura de 30 °C também foi a recomendada para várias espécies nativas, como *Virola surinamensis* (Limas et al., 2007), *Blepharocalyx salicifolius* (Rego et al., 2009) e *Dimorphandra mollis* (Pacheco et al., 2010).

O início do processo germinativo foi realmente acelerado com a retirada do envoltório da semente (semente nua) e com a punctura na região oposta e próxima ao eixo-embrionário, o que se confirmou com a elaboração da curva de embebição das sementes de guanandi (Figura 7). Pode-se observar que a absorção de água necessária para a emissão da raiz primária nas sementes nuas foi aproximadamente 7 e 13% menor do que nas sementes com punctura e íntegras, respectivamente. No teor de água de 35,8%, metade das sementes nuas, já havia emitido raiz, aumento de apenas 2,4% em relação à umidade inicial, tanto na temperatura de 25 °C (Figura 7A) quanto na de 30 °C (Figura 7B). Entretanto, para atingir essa umidade foram necessários aproximadamente 10 dias na temperatura mais alta, ou seja, a metade do tempo requerido quando comparado a temperatura mais baixa (25 °C). O menor tempo de hidratação observado em 30 °C pode ser explicado pelo fato da hidratação e a velocidade das reações serem favorecidas quando há elevação da temperatura, uma vez que a viscosidade da água é reduzida e sua energia cinética é aumentada (Marcos Filho, 2005).

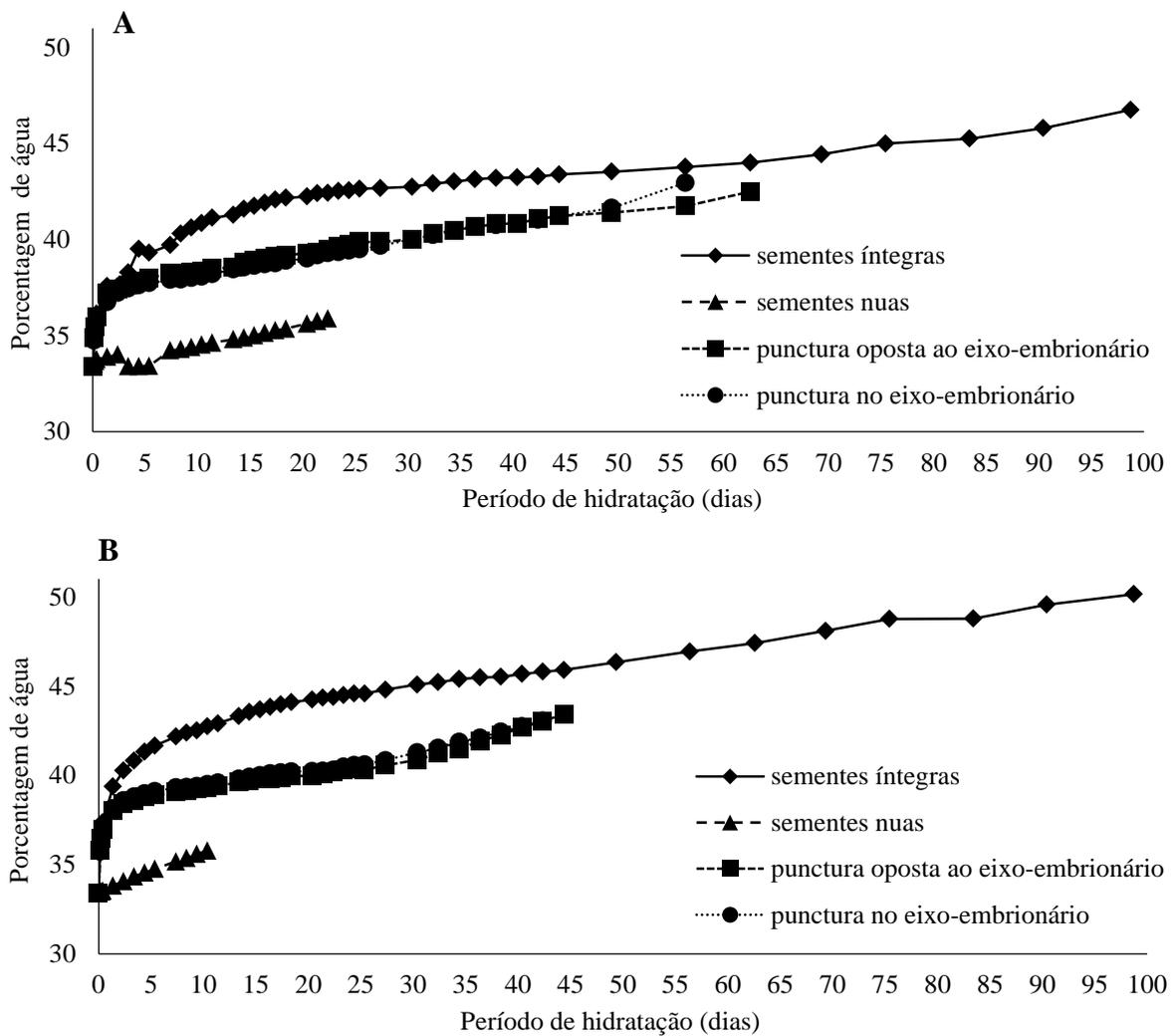


Figura 7: Curva de embebição de sementes de guanandi. **A** - hidratação a 25 °C; **B** - hidratação a 30 °C.

Sementes recalcitrantes são liberadas da planta mãe com alto teor de água, contendo quase a totalidade de água necessária para que o processo germinativo se inicie. Liu et al. (2005) trabalharam com *Garcinia cowa*, uma espécie recalcitrante com envoltórios semelhantes ao guanandi, e também constataram baixa absorção de água das sementes até iniciar o processo de germinação, principalmente quando estas estavam livres do revestimento restritivo. Limas et al. (2007) observaram o mesmo comportamento em sementes de *Virola surinamensis*, espécie recalcitrante natural em terrenos alagadiços, que ganharam menos de 5,0% de água em 72 horas de hidratação. Também para sementes de *Quercus rugosa*, espécie recalcitrante, o incremento de água foi pequeno, apenas 8,2%, após 400 horas de hidratação (Colina et al., 2011). Por outro lado, para a espécie *Jatrofa curcas*, caracterizada como ortodoxa, as sementes absorveram água superior a cinco vezes a quantidade inicial (7,5%) em

24 horas de embebição, alcançando o teor de 43,0%, após este período as sementes apresentaram pequena variação na absorção de água, ficando estável até 192 horas (Braga et al., 2012).

A curva de embebição das sementes de guanandi, exceto no tratamento de sementes nuas, seguiu o padrão trifásico descrito por Bewley e Black (1983), isto é, Fase I caracterizada por rápida absorção de água; Fase II de redução da embebição e da taxa respiratória; e Fase III onde é retomada a absorção de água e se evidencia o crescimento do embrião, com a protrusão da raiz primária.

Para sementes nuas, essas três fases de hidratação não ficaram nítidas (Figura 6), principalmente na temperatura de 30 °C, onde as sementes apresentaram aumento constante no teor de água, até a protrusão da raiz. Este fato pode ser decorrência do não impedimento da entrada de água e do crescimento do eixo-embriônico com a remoção do envoltório da semente, proporcionando absorção e desenvolvimento contínuos.

Sementes de *Garcinia cowa*, fisicamente semelhantes ao guanandi, foram hidratadas com e sem tegumento, tendo as sementes nuas, exibido uma embebição constante, em menor quantidade e sem um padrão definido, diferentemente das sementes intactas que seguiram o padrão trifásico (Liu et al., 2005). Conforme ressaltou Marcos Filho (2005), o início de uma fase não implica na paralisação das anteriores; assim, a simultaneidade pode ter interferido sensivelmente na curva de embebição das sementes nuas.

A estrutura rígida que envolve o embrião pode estar atuando como um impedimento físico, restringindo a entrada de água e a protrusão da raiz primária, podendo assim ser caracterizada como dormência física e mecânica (Baskin e Baskin, 1998). Carvalho e Nakagawa (2012) sugeriram que estruturas de resistência à entrada de água podem ser uma estratégia de espécies que vivem em regiões alagadiças, para impedir que a água entre rapidamente em contato com o embrião, uma vez que as sementes ao se dispersarem podem germinar com acréscimo mínimo de água, e esta restrição possibilita sua germinação ao longo do tempo. Como o guanandi ocorre preferencialmente em regiões alagadas (Schultz, 2011), provavelmente a estrutura de sua semente seja uma forma de sobrevivência e perpetuação da espécie. Em condições naturais de ambiente, a superação da dormência física pode ser promovida pela ação de fatores que degradam e enfraquecem o envoltório da semente, como por exemplo, a ação de microrganismos (Baskin e Baskin, 1998).

O comportamento de embebição das sementes (Figura 7) sugere que a presença do endocarpo e do tegumento não restringiu totalmente a entrada de água, mas exigiu um período

de tempo maior para o embrião atingir a hidratação suficiente para iniciar a germinação, de 30-40 dias a mais para as sementes com punctura próxima ao eixo-embrionário e na região oposta a ele, e de 80-90 dias a mais para sementes íntegras.

De acordo com Liu et al. (2005), o fato das sementes intactas absorverem maior quantidade de água não significa que esta tenha atingido o embrião, pois no trabalho dos autores com a espécie *Garcinia cowa* a água absorvida pelas sementes intactas permaneceu retida no envoltório. Isso pode explicar, em parte, o fato das sementes de guanandi com punctura e as íntegras despendem maior tempo e quantidade de água para emissão da raiz, sendo a água absorvida não disponibilizada diretamente para o embrião.

O tipo de substrato e o preparo das sementes, em conjunto, não influenciaram a germinação; no entanto, os fatores isoladamente afetaram o seu poder germinativo (Tabela 3). O substrato vermiculita não diferiu estatisticamente dos substratos papel e areia, ou seja, quando analisada a germinação total média das sementes a vermiculita se comportou como substrato intermediário; entretanto, o substrato papel demonstrou ser mais adequado para a germinação em relação a areia.

Novamente, verificou-se melhor desempenho das sementes nuas em comparação àquelas onde a retirada do envoltório foi parcial ($1/3$ da região oposta ao eixo embrionário - Figura 5H), apresentando médias de 83% e 63%, respectivamente (Tabela 3).

Na avaliação do vigor das sementes, pelo índice de velocidade de germinação (IVG), a combinação de substrato areia e sementes nuas foi superior às demais (Tabela 3); nas sementes cortadas, não se observou influência dos substratos. Quando avaliados emergência e índice de velocidade de emergência (IVE), em casa de vegetação (Tabela 3), novamente se evidenciou comportamento superior das sementes nuas em relação às cortadas. Considerando que as espécies necessitam de quantidade distinta de água para germinar, trabalhos que abordam substrato para germinação de sementes são relevantes, principalmente aqueles voltados para a escolha de substratos encontrados no mercado e de fácil manuseio em laboratórios de análise de sementes.

Tabela 3: Germinação e vigor de sementes de guanandi, avaliado por meio de Índice de Velocidade de germinação (IVG), emergência de plântulas em casa de vegetação e Índice de Velocidade de Emergência (IVE).

Substratos	Germinação		
	Sementes nuas	Sementes cortadas	Média
%.....		
Papel	88	68	78 a
Areia	82	54	68 b
Vermiculita	79	67	73 ab
Média	83 A	63 B	-
C.V.(%)		15,86	

Substratos	Índice de Velocidade de Germinação (IVG)	
	Sementes nuas	Sementes cortadas
Papel	0,71 bA	0,42 aB
Areia	0,85 aA	0,41 aB
Vermiculita	0,71 bA	0,53 aB
C.V. (%)		18,83

Tipo de Preparo das Sementes	Emergência (%)	Índice de Velocidade de Emergência (IVE)
Sementes nuas	81 a	0,56 a
Sementes cortadas	67 b	0,33 b
C.V. (%)	18,77	18,58

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey $p < 0,05$.

O substrato papel é um dos mais indicados para a condução do teste de germinação pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), uma vez que seu manejo é prático, otimiza a ocupação de espaço nos equipamentos e contribui para a manutenção da limpeza no laboratório. No entanto, conforme ressaltaram Pacheco et al. (2006), são poucas as recomendações para espécies florestais, o que abre espaço para novas pesquisas. Neste sentido, para sementes de ipê-branco a combinação substrato papel e temperatura de 30 °C foi a que mais favoreceu a germinação (Stockman et al., 2007); no caso de sementes de murta, os

substratos papel, areia e vermiculita apresentaram resultados satisfatórios, dependendo da temperatura utilizada (Rego et al., 2009).

Ao avaliar a distribuição da germinação ao longo do tempo (Figura 8), observa-se que com 23 dias após sementeira os substratos papel, areia e vermiculita apresentaram, respectivamente, 57%, 86% e 69% sobre o total de sementes germinadas em cada tratamento. Em avaliação aos 31 dias após a sementeira, estas porcentagens subiram para 88, 96 e 85% nos respectivos substratos. Esses resultados demonstraram que o substrato areia proporcionou maior rapidez e uniformidade, sendo possível realizar a primeira contagem do teste de germinação no vigésimo dia, porém a contagem final só foi possível aos 54 dias após sementeira. No entanto, se levarmos em consideração que o papel é o mais empregado nos laboratórios de análise de sementes, este substrato também poderia ser utilizado, porém com a primeira contagem realizada aos 30 dias após a sementeira, tendo o encerramento do teste aos 46 dias, adiantando oito dias em relação ao substrato areia, e 11 dias quando comparado à vermiculita, que com 31 dias também apresentou porcentagem total da germinação inferior ao obtido no substrato papel.

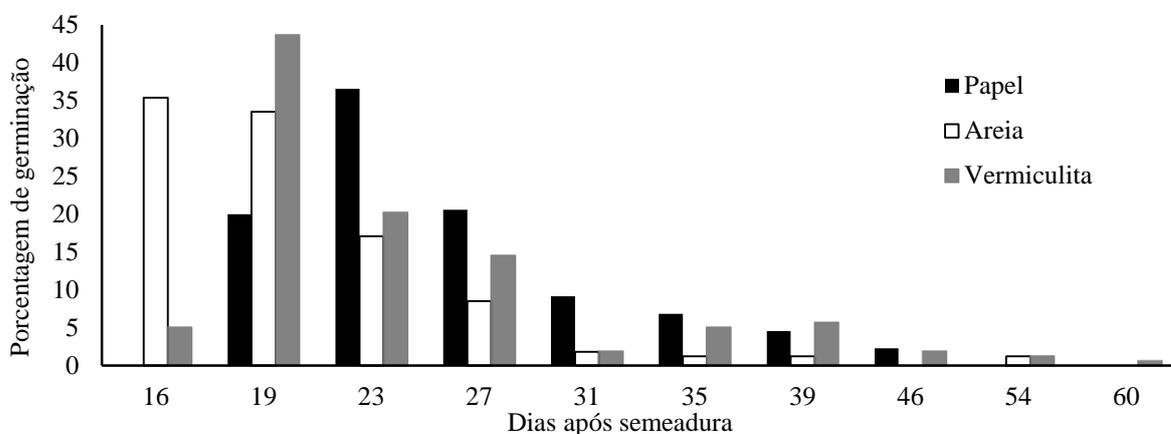


Figura 8. Distribuição da germinação de sementes nuas de guanandi durante teste de germinação sob 30 °C.

Contudo, os tratamentos alternativos realizados no presente trabalho, punctura na região próxima ao eixo-embrionário e oposta ao eixo (Figuras 6F e 6G), e corte de $\frac{1}{3}$ das sementes (Figura 6H), apresentaram ganhos significativos na germinação, superando em parte as barreiras físicas das sementes de guanandi, diminuindo o tempo e o esforço do trabalho manual. No entanto, o tratamento com sementes nuas (Figura 6E) mostrou-se superior para

avaliação da germinação e vigor das sementes de guanandi independente do substrato utilizado.

7.4. CONCLUSÕES

Para completa superação da dormência física e mecânica das sementes de guanandi é necessária a retirada total do envoltório (endocarpo e tegumento).

A germinação das sementes deve ser realizada em substrato papel sob a temperatura de 30 °C.

7.5. REFERÊNCIAS

- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press. 1998. XIV, 666p.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**. New York, Springer-Verlag: Berlin Heidelberg. v.1, 1983. 306p.
- BERNABÉ, A.A.; ESTRADA, M.E.Z.; BUENDÍA, L.G.; REYES, R.C.; CHAVES, V.M. A.; CRUZ, F.S. Production of anti-HIV-1 calanolides in a callus culture of *Calophyllum brasiliense* (Cambes). **Plant Cell, Tissues and Organ Culture**, v.103, p.33-40, 2010.
- BRAGA, F.C.; SERRA, C.P.; VIANA JUNIOR, N.S.; OLIVEIRA, A.B.; CORTES, S.F.; LOMBARDI, J.A. Angiotensin-converting enzyme inhibition by Brazilian plants. **Fitoterapia**, v.78, p.353-358, 2007.
- BRAGA, N.S.; MORAIS, C.S.B.; ROSSETO, C.A. Hidratação controlada de sementes de pinhão manso. **Revista Ciência Agronômica**, v.43, n.3, p.589-597, 2012.
- BRANCALION, P.H S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R. Temperatura ótima de germinação de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.15-21, 2010.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395p.

- BRASILEIRO, B.G.; DIAS, D.C.F.S.; CASALI, V.W.D.; BHERING, M.C. CECON, P.R. Effects of temperature and pre-germinative treatments on seed germination of *Talinum triangulare* (Jacq.) Willd (Portulacaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.151-157, 2010.
- CARVALHO, H.O.; MEDEIROS, B.J. L.; SÁ, B.M.; ARAUJO, J.T.C.; KAWAKAMI, M.Y.M.; FAVACHO, H.A.S.; CARVALHO, J.C.T. Study of dissolution profiles and desintegration of capsules containing the dried hydro ethanolic extract of *Calophyllum brasiliense*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.23, n.1, p.194-199, 2013.
- CARVALHO, M.N.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590p.
- CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>. Acesso em: 20 de nov. 2013.
- COLINA, L.C.; RAMOS, M.M.; CORONADO, M.E.S.; HUANTE, P.; MENDONZA, A.; SEGOVIA, A.O. Effect of hydro priming and acclimation treatment on *Quercus rugosa* acorns and seedling. **European Journal of Forest Research**, v.131, p.747-756, 2012.
- LIMAS, J.D.; SILVA, B.M.S.; MORAES, W.S. Germinação e armazenamento de sementes de *Virola surinamensis* (Rol.) Warb. (Myristicaceae). **Revista Árvore**, v.31, n.1, p.37-42, 2007.
- LIU, Y.; QIU, Y.P.; ZHANG, L. CHEN, J. Dormancy Breaking and Storage Behavior of *Garcinia cowa* Roxb. (Guttiferae) Seeds: Implications for Ecological Function and Germplasm conservation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.47, n.1, p.38-49, 2005.
- LISBOA, A.C.; SANTOS, P.S.; OLIVEIRA NETO, S.N.; CASTRO, D.N.; ABREU, A.H.M.; Efeito do volume de tubetes na produção de mudas de *Calophyllum brasiliense* e *Toona ciliata*. **Revista Árvore**, v.36, n.4, p.603-609, 2012.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495p.

NERY, F.C.; ALVARENGA, A.A.; JUSTO, C.F.; DOUSSEAU, S.; VIEIRA, C.V. Efeito da temperatura e do tegumento na germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, p. 1872-1877, 2007.

NOLDIN, V.F.; ISIAS, D.B.; CECHINEL FILHO, V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. **Nova Química**, v.29, n.3, p.549-554, 2006.

OLIVEIRA, V.C.; JOLY, C.A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae): morphological, physiological and growth response. **Trees**, v.24, p.185-193, 2010.

PACHECO, M.V.; MATTEI, V.L.; MATOS, V.P.; SENA, L.H.M. Germination and vigor of *Dimorphandra mollis* Benth. seeds under different temperature and substrates. **Revista Árvore**, v.34, n.2, p.205-213, 2010.

PACHECO, M.V.; MATOS, V.P.; FERREIRA, R.L.C.; FELICIANO, A.L.P.; PINTO, K.M.S. Efeito da temperatura e substrato na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v.30, n.3, p.359-367, 2006.

REGO, S.S.; NOGUEIRA, A.C.; KUNIYOSHI, Y.S.; SANTOS, A.F. Germinação de sementes de *Blepharocalyx salicifolius* (H.B.K.) Berg. em diferentes substratos e condições de temperaturas, luz e umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.212-220, 2009.

SCHULTZ, J. *Calophyllum brasiliense*: Olandi. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. 440-443p.

STOCKMAN, A.L.; BRANCALION, P.H.S.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Sementes de ipê-branco *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand. – Bignoniaceae): temperatura e substrato para o teste de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.139-143, 2007.

VASQUEZ, W.; THOMSEN, K.A.; JØKER, D. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. In: SACANDÉ, M.; JØKER, D.; DULLOO, M.E.; THOMSEN, K.A. **Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. 285-294p.

ZAMITH, L.R.; CRUZ, D.D.; RICHERS, B.T.T. The effect of temperature on the germination of *Melocactus violaceus* Pfeiff. (Cactaceae), a threatened species in restinga sandy coastal plain of Brazil. **Anais da Academia Brasileira Ciências**, v.85, n.2, p.615-622, 2013.

8. CAPÍTULO III - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE GUANANDI, UMA FLORESTAL NATIVA

RESUMO - O conhecimento da morfologia de sementes e plântulas são ferramentas para a identificação das espécies e subsidiam avaliações na área de tecnologia de sementes. Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi descrever as estruturas morfológicas de sementes e de plântulas normais e anormais de guanandi, e também investigar se a completa extração do endocarpo das sementes interfere na morfologia e no desenvolvimento da plântula. Assim, constatou-se que as sementes de guanandi são grandes com endocarpo rígido e tegumento membranáceo; os cotilédones respondem pela maior parte do embrião e tem função de reserva; o eixo embrionário é muito pequeno, porém diferenciado. As plântulas apresentam germinação hipógea criptocotiledonar, com presença de pecíolos cotiledonares e hipocótilo curto, tem raiz pivotante e robusta, epicótilo desenvolvendo em haste longa e ápice protegido por catafilos, além de possuir capacidade de resiliência da parte aérea. As principais anormalidades são relacionadas ao sistema radicular, e a extração do endocarpo e do tegumento não altera a morfologia da plântula e proporciona seu maior desenvolvimento.

Palavras-chave: *Calophyllum brasiliense* Cambess.; germinação; dormência e morfologia.

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF GUANANDI SEEDS AND SEEDLINGS, A BRAZILIAN NATIVE FOREST SPECIES

ABSTRACT – Knowing the morphology of seeds and seedlings is a tool to identify species and offer subsidies for evaluations in the seed technology area. In that sense, the objective of this paper was to describe the morphological structures of normal and abnormal guanandi seeds and seedlings, and also to investigate whether the complete extraction of the endocarp of seeds interferes in the morphology and development of the seedling. Therefore, it was observed that the guanandi seeds are large, with a rigid endocarp and membranaceous tegument; cotyledons are the major part of the embryo, and they work as a reserve; the embryonic axis is very small, but differentiated. Seedlings have a hypogeal cryptocotyledonary germination, with the presence of cotyledon petioles and short hypocotyl, with pivoting and robust root, epicotyl developed as a long stem and apex protected by cataphylls, in addition to the resiliency capacity of the aerial part. The main abnormalities are related to the radicular system, and the extraction of the endocarp and tegument does not change the morphology of the seedling and offers greater development.

Keywords: *Calophyllum brasiliense* Cambess.; germination; dormancy and morphology.

8.1. INTRODUÇÃO

Calophyllum brasiliense Cambess. (guanandi) é uma espécie nativa não endêmica brasileira, pertencente à família Calophyllaceae (Bittrich, 2009) que está presente desde a região Amazônica até Santa Catarina, podendo receber diferentes nomes populares dependendo do local de ocorrência, tais como: guanandi, jacareúba e olandi (Lorenzi, 2002).

Apesar da sua importância na medicina popular e na pesquisa científica farmacêutica (Carvalho et al., 2013), tem grande potencial como uso madeireiro (Schultz, 2011). A espécie adapta-se a solos pobres e de frequentes inundações, sendo assim importante para recuperação de áreas degradadas, além de participar de programas de reflorestamento para extração da madeira, uma vez que tem demonstrado resultados satisfatórios quando empregado manejo florestal (Oliveira e Joly, 2010; Schultz, 2011).

O conhecimento detalhado da morfologia de frutos, sementes e plântulas tem sido defendido por diferentes autores em razão do seu uso em inventários florestais, na identificação e classificação taxonômica das espécies em estágios iniciais de desenvolvimento, para identificação das sementes em bancos no solo e para auxílio nos estudos de regeneração natural (Araújo et al., 2004). Entretanto, outro emprego não muito abordado, mas de fundamental importância, é o uso do conhecimento da morfologia de sementes e do desenvolvimento inicial das plantas (plântulas) para subsidiar avaliações na área de tecnologia de sementes (Ramos e Ferraz, 2008; Gordin et al., 2012), ou seja, auxiliar o analista de sementes no julgamento e classificação das plântulas normais e anormais, bem como na identificação dos tipos de anormalidades apresentadas.

No que se referem às espécies florestais nativas, poucas são as pesquisas que relatam as características morfológicas e fundamentais de uma plântula normal, sendo que em muitos casos características comumente observadas em plântulas de grandes culturas, podem não ser observadas em plântulas de espécies florestais, uma vez que tais espécies apresentam diferentes estratégias de sobrevivência (Figliolia, 2015).

As sementes de guanandi apresentam particularidades: como serem recalcitrantes, ou seja, não toleram perda de água e armazenamento em condições tradicionalmente aplicadas para conservação de sementes; além de apresentarem dormência física e mecânica ocasionada pelo endocarpo rígido que envolve o embrião, sendo a retirada completa dessa estrutura uma alternativa para superação da dormência e aceleração do desenvolvimento da plântula (Vasquez et al., 2004; Nery et al. 2007, Silva et al., 2014). Neste sentido, estudos sobre a

morfologia são necessários para verificar se a completa retirada do envoltório das sementes não interfere negativamente no desenvolvimento da plântula.

O trabalho teve por objetivo descrever as principais estruturas morfológicas das sementes e das plântulas normais e anormais de guanandi, bem como investigar se a completa extração do endocarpo das sementes, para superação de dormência, pode interferir na morfologia e no desenvolvimento da plântula.

8.2. MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de guanandi foram coletados no mês de novembro de 2012, de diferentes árvores localizadas em áreas naturais da Mata Atlântica, no município de Pontal do Paraná (25° 35' S e 48° 33' W). O clima da região é classificado como Cfa segundo Köppen (Caviglione et al., 2000), ou seja, clima subtropical com temperaturas médias de 18 °C e 22 °C, respectivamente, no mês mais frio e mais quente, apresentando verões quentes e geadas pouco frequentes, com chuvas concentradas no verão, sem estação seca definida.

Assim que coletados, os frutos foram levados ao Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, da Universidade Federal do Paraná, onde foram despulpados manualmente, lavados em água corrente e colocados para secar sobre papel toalha, em ambiente com temperatura de 20 °C.

Para caracterização das sementes foram realizadas as seguintes avaliações e observações: **peso de mil sementes e determinação do teor de água**: realizados de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009b); **diâmetro das sementes**: realizado com medição do diâmetro central de 100 sementes, por meio de paquímetro digital com precisão de 0,1 mm; **descrição das características morfológicas externas e internas das sementes**: para melhor visualização do eixo embrionário, estes foram extraídos e coloridos em solução de tetrazólio a 1 % por duas horas, a 40 °C, sendo as observações realizadas com auxílio de microscópio estereoscópico.

Para descrição e caracterização morfológica das plântulas duas formas de preparo foram utilizadas: **sementes íntegras** (caracterizada pela presença do endocarpo e do tegumento) e **sementes nuas** (sem a presença destas partes). Para tanto, foram semeadas 200 sementes íntegras e 100 sementes nuas em caixas plásticas com perfurações no fundo, preenchidas com vermiculita de textura média, e mantidas em casa de vegetação com regas

diárias. As observações foram realizadas a cada sete a 10 dias, a partir do início de sinais de germinação, ou seja, ruptura do endocarpo observado em sementes desenterradas. As avaliações foram encerradas quando não se observou mais a possibilidade de ocorrência de germinação. Assim, foram contabilizadas as sementes não germinadas e as plântulas anormais (parte aérea e raiz principal bem desenvolvida), sendo realizada a descrição das anormalidades encontradas.

Com intuito de comparar o desenvolvimento das plântulas originadas de sementes íntegras e nuas, 20 exemplares de cada tratamento foram coletados aleatoriamente, divididos em quatro repetições de cinco plântulas, sendo avaliados: comprimento das plântulas; diâmetro de colo; massa seca de plântulas e dos cotilédones, ou seja, das reservas não consumidas durante o seu desenvolvimento; e volume radicular por meio de leitura ótica com *scanner* e análise pelo programa “Win Mac Rhizo”.

Realizaram-se análises descritivas dos dados e, quando necessário, foi efetuada análise pela ANOVA, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Assistat 7.7 beta (Silva, 2015).

8.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos do gênero *Calophyllum*, segundo Barroso (1999), são classificados como do tipo drupa, apresentando como característica a formação frequente de apenas uma semente, que por sua vez, é revestida por endocarpo lenhoso e um tegumento membranáceo (Brasil, 2009). No presente trabalho tais características foram observadas, uma vez que não foi encontrada mais de uma semente por fruto, e a mesma se encontrava envolvida por estrutura extremamente rígida, de coloração marrom, constituindo o endocarpo (Figura 9A). Vale ressaltar, no entanto, de acordo com Barroso (1999), o que muitos consideram endocarpo (tecido pertencente ao fruto) é classificado por Corner (1976) como a parte externa do mesófilo da testa da semente, fazendo parte assim do tegumento, o que revela a necessidade de estudos adicionais para investigar a real origem deste tecido.

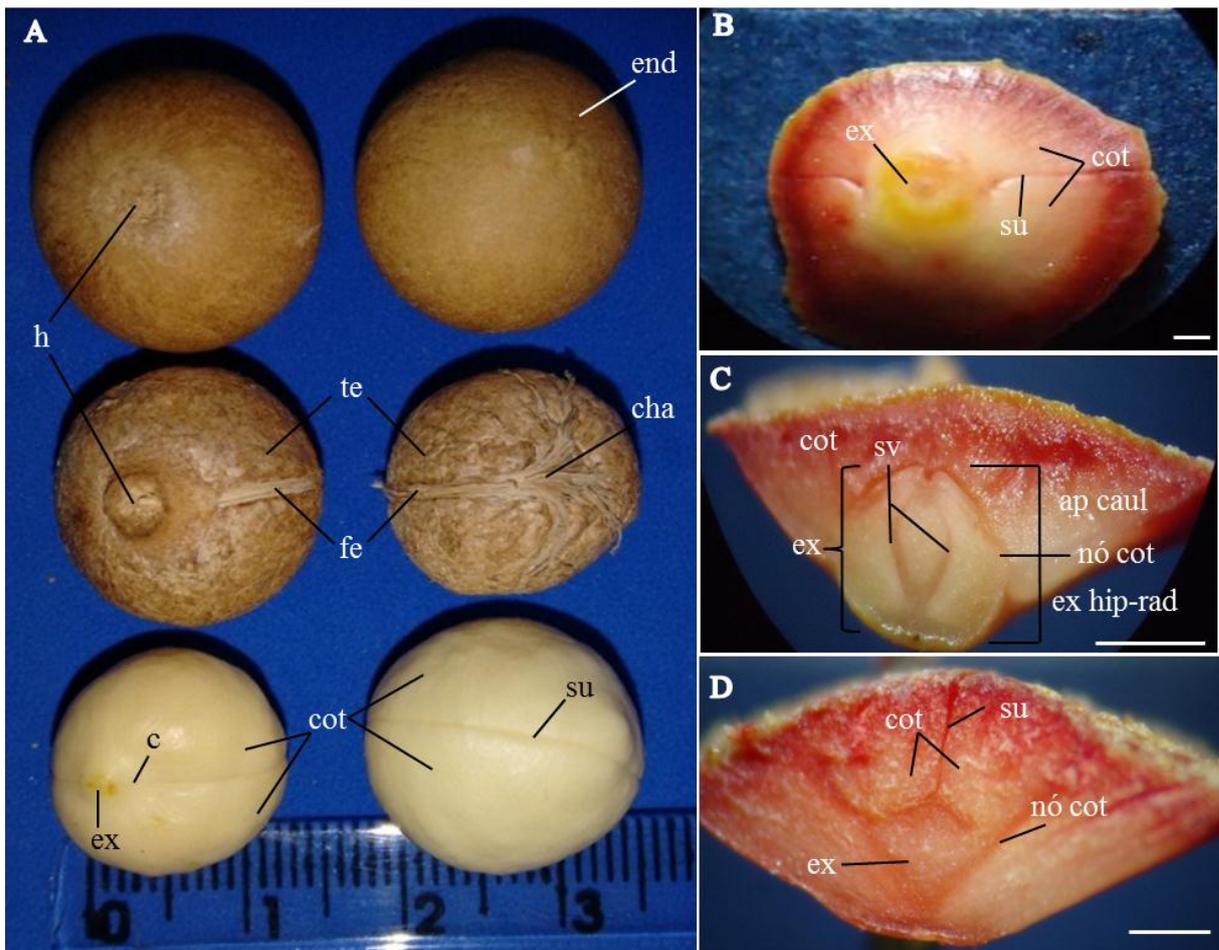


Figura 9: Caracterização morfológica da semente e do embrião de guanandi. A - sementes íntegras na primeira linha, sementes sem endocarpo na segunda linha e embrião propriamente dito (sem endocarpo e tegumento) na terceira linha. B - eixo embrionário com fragmentos dos cotilédones coloridos em solução de tetrazólio. C e D - eixos embrionários coloridos em solução de tetrazólio seccionados, respectivamente, na sutura cotiledonar e através dos cotilédones. (ap caul) ápice caulinar. (c) côncavo - impressão do hilo deixada no embrião. (cha) chalaza/calaza. (cot) cotilédone. (end) endocarpo. (ex) eixo embrionário. (ex hip-rad) eixo hipocótilo-radícula. (fe) feixes vasculares calazais. (h) hilo. (nó cot) nó cotiledonar. (su) sutura cotiledonar. (sv) sistema vascular. (te) tegumento. Barras brancas representam escala de 1mm.

Baseado na Figura 9A, a camada abaixo do endocarpo é constituída por tecido membranáceo de coloração marrom, constituindo o tegumento; este, por sua vez, é circundado por feixes vasculares que se ramificam em uma extremidade, sendo assim chamados de feixes vasculares calazais, ou seja, a região da calaza, que se unem seguindo ao redor da semente até a extremidade oposta, caracterizada como a região hilo-micropilar (Almeida et al., 2013), ou seja, cicatriz deixada pela ligação entre a semente e o fruto e deste ao pedúnculo, que por sua vez liga o fruto à planta mãe.

Ao se extrair o tegumento, pode-se visualizar um embrião grande (Figura 9A), composto por dois cotilédones fortemente unidos e marcados por uma linha de sutura (Barroso, 1999).

Na extremidade terminal dos cotilédones encontra-se o eixo embrionário, que pode ser identificado externamente pela formação de uma protuberância geralmente de coloração naturalmente mais amarelada em relação à cor dos cotilédones (Figura 9A e 9B). Outra característica que auxilia a identificação do eixo embrionário é sua localização, do lado oposto à ramificação da calaza, abaixo do ponto de inserção dos feixes vasculares na região hilo-micropilar. Nesta mesma região, com a extração do tegumento, é possível observar uma área abaulada (côncava), impressão deixada pelo hilo no embrião (Figura 9A). Estas características são condizentes com as de uma semente anátropa, originada de um óvulo anátropo, que por sua vez é o mais frequentemente observado nas angiospermas, tais sementes apresentam a cicatriz deixada pelo funículo, ou seja, o hilo, próxima à micrópila (Beltrati e Paoli, 2006), local onde ocorre a protrusão da raiz primária do guanandi (Figura 10A).

O diâmetro das sementes foi de 14,0 a 17,6 mm, com média de 16,1 mm. O peso médio de mil sementes de guanandi foi de 1.480,9 g, com o teor de água das sementes de 30,1%. Conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009b) o peso de mil sementes está diretamente ligado ao teor de água, podendo variar em função da umidade que as sementes se encontram. As sementes de guanandi podem ser consideradas grandes, uma vez que o peso de mil sementes é maior que 200 g, conforme recomendações descritas nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009b).

O guanandi produz frutos e sementes globosas e de elevado tamanho, sendo que o embrião ocupa toda a cavidade interna da semente (Figura 9A), com cotilédones representando quase a totalidade do embrião, especializados em acúmulo de reservas, podendo a semente ser assim classificada como exalbuminosa (Gonçalves e Lorenzi, 2007), ou seja, desprovida de endosperma.

Segundo descrição de Lorenzi (2002), um quilograma de frutos de guanandi pode conter aproximadamente 160 unidades. A característica de produzir sementes grandes é frequentemente observada em espécies de florestas tropicais, o que por muitos pesquisadores é considerado uma forma de adaptação às condições climáticas que essas espécies estão submetidas e à necessidade de superar obstáculos, como a predação de animais e insetos (Baraloto e Forget, 2007). O guanandi ocorre naturalmente no Brasil em regiões quentes e

úmidas, havendo dessa forma coerência em suas sementes apresentarem características de espécies tropicais.

O eixo embrionário é pequeno, medindo entre 1 e 2 mm (Figura 9C e 9D). Apesar do seu tamanho reduzido, com auxílio de microscópio estereoscópio foi possível visualizar certo grau de diferenciação, pois se destaca dos demais tecidos da semente por sua forma arredondada (Figura 9C). É possível observar diferenças marcantes entre o ápice caulinar do eixo (epicótilo mais arredondado, que se encontra em uma pequena cavidade formada entre os cotilédones) e o ápice oposto (mais afunilado, constituindo a região do hipocótilo-radícula) (Figura 9C). Entre as regiões do epicótilo e do hipocótilo-radícula localiza-se o ponto de inserção dos cotilédones também chamado de nó cotiledonar (Damião Filho, 2005). Com o corte na sutura cotiledonar foi possível observar na região central o sistema vascular do eixo embrionário (Figura 9C).

Na Figura 9D verifica-se o eixo embrionário em outra perspectiva, deixando em evidência a região de inserção de ambos cotilédones ao eixo, local onde ocorre a transferência das reservas cotiledonares para o eixo embrionário. Foi possível visualizar, nesse corte, a linha de sutura entre os dois cotilédones, marcando ao centro do embrião a região onde se encerra os cotilédones, formando assim a cavidade onde o ápice caulinar do eixo embrionário (epicótilo) está inserido (Figura 9D).

A plântula de guanandi apresenta germinação criptocotiledonar, do tipo hipógea, e com reserva cotiledonar, caracterizada pela permanência dos cotilédones presos ao envoltório das sementes e abaixo ou na superfície do solo (Brasil, 2009a). Conforme ressaltado por Souza (2009), uma plântula criptocotiledonar possui, geralmente, eixo hipocótilo-radícula muito reduzido, com desenvolvimento significativo após a germinação, características estas observadas nas sementes e plântulas de guanandi.

A germinação da semente de guanandi se inicia com o crescimento do pecíolo cotiledonar, que auxilia o rompimento do endocarpo lenhoso, possibilitando a liberação e o crescimento da raiz primária que rompe do endocarpo (Figuras 10A, 10B, 11A e 11B). A parte aérea (epicótilo) inicialmente apresenta desenvolvimento discreto permanecendo protegida internamente no endocarpo, entre os pecíolos cotiledonares (Figura 10C e 10D). A região do epicótilo é marcada por coloração geralmente avermelhada, que é gradualmente substituída pela coloração verde com o desenvolvimento das primeiras folhas.

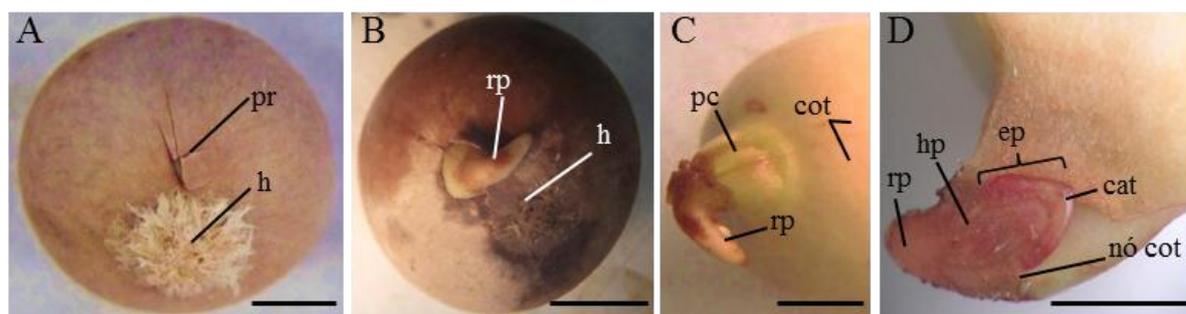


Figura 10: Início do processo germinativo das sementes e desenvolvimento inicial da plântula de guanandi. A - rompimento do endocarpo; B - início do desenvolvimento da raiz primária; C e D – vista, respectivamente, externa e interna da plântula em início de germinação. (cat) catafilo. (cot) cotilédone. (ep) epicótilo. (h) hilo. (hp) hipocótilo. (nó cot) nó cotiledonar. (pc) pecíolo cotiledonar. (pr) protrusão da raiz. (rp) raiz primária. Barras no canto das figuras representam escala de 5 mm em (A) e (B), e 2,5 mm em (C) e (D).

Com o início da germinação, após o rompimento do tegumento (Figura 11A), observou-se a formação de pecíolos cotiledonares curtos característicos de plântulas cujas sementes possuem cotilédones especializados em acúmulo de reserva, sendo a função do pecíolo projetar a raiz e a plúmula para fora do envoltório da semente (11B a 11C). Outra característica comum dessas plântulas é o fato de apresentarem um hipocótilo curto (Figuras 11D) (Vogel, 1980).

A raiz originada da radícula do embrião é pivotante e robusta, e se desenvolve perpendicularmente à semente (Vogel, 1980; Vidal e Vidal, 2003) (Figura 11I). A formação das primeiras raízes secundárias foi observada aproximadamente aos 35 dias após o início da germinação, coincidindo com o início do desenvolvimento das folhas primárias (eofilos) (Figura 11E).

A parte aérea da plântula, o epicótilo, primeiro entrenó desenvolvido acima do nó cotiledonar, começa a ser projetada para fora do endocarpo com aproximadamente 30 dias após o início da germinação, formando uma haste ortotrópica, que eleva a gema apical protegida por catafilos, até a superfície do substrato (Figura 11D e 11E). Segundo Vogel (1980), catafilos são folhas reduzidas frequentemente presentes em plântulas com germinação hipógea, e tem a função de proteger a gema plumular, podendo ser caducos ou não. No caso do guanandi, os catafilos perdem sua função e caem no decorrer do desenvolvimento da plântula (Figura 11H).



Figura 11: Processo de germinação das sementes e desenvolvimento de plântulas de guanandi. A - rompimento do endocarpo. B - protrusão da raiz primária. C - início da emissão da parte aérea (epicótilo). D - expansão do epicótilo e da raiz primária. E - início do desenvolvimento do primeiro par de folhas (eofilos) e raízes secundárias. F - plântula normal. G - planta com completa expansão eofilos e o metafilo (segundo par de folhas). H - detalhe do epicótilo, com eofilos em expansão e catafilo em senescência. I - detalhe das raízes da plântula de guanandi. (hp) hipocótilo. (pa) parte aérea. (pc) pecíolo cotiledonar.

A formação e expansão dos eofilos começam a ser observadas aos 35 dias após início da germinação, sendo que em aproximadamente 40 dias é possível visualizar o início da formação do segundo par de folhas (metafilos) (Figura 11E e 11F). Os eofilos possuem características muito semelhantes a uma folha adulta, com diferenças marcantes principalmente pelo menor tamanho e coloração, que permanece mais avermelhada até alcançar pleno desenvolvimento, quando a coloração predominante passa ser verde pela ação da clorofila, marcando início da atividade fotossintética (Figuras 11F a 11H). Sua filotaxia é predominantemente oposta, cruzada ou decussada; suas folhas pecioladas, com limbo único compondo uma folha simples e de consistência coriácea, com superfície glabra, bordo inteiro e forma oblonga; apresenta venação característica de uma folha peninérvia com ápice e base aguda (Figura 11F a 11H) (Vogel, 1980; Vidal e Vidal, 2003; Gonçalves e Lorenzi, 2007).

O tempo necessário para uma semente íntegra formar uma plântula normal, a partir do rompimento do endocarpo, foi entre 40 e 50 dias, considerando plântula normal aquela com sistema radicular, parte aérea (epicótilo) e folhas primárias desenvolvidas e saudáveis (Brasil,

2009). No entanto, como as sementes foram coletadas de uma população de plantas em ambiente natural, ou seja, não melhoradas, e pelo fato das sementes íntegras apresentarem dormência física e mecânica, esperava-se uma heterogeneidade na germinação das sementes e desenvolvimento de plântulas, o que de fato ocorreu. Assim, foi necessária a condução do experimento até os 112 dias após semeadura (DAS), para que a última plântula normal pudesse ser avaliada (Figura 12A).



Figura 12: Diferentes estádios de desenvolvimento de sementes e plântulas de guanandi. A - diferentes estádios das plântulas normais oriundas de sementes íntegras aos 112 DAS. B - sementes íntegras e C - plântulas em início de germinação, oriundas de sementes nuas, respectivamente aos 10 DAS. D - aspecto geral da plântula aos 68 DAS. E - comparativo entre as plântulas mais vigorosas aos 112 DAS. (1) plântulas oriundas de sementes nuas. (2) plântulas oriundas de sementes íntegras.

As plântulas oriundas de sementes nuas apresentaram a mesma estrutura morfológica daquelas de sementes íntegras; no entanto, o desenvolvimento das plântulas foi mais acelerado. Aos 10 DAS, a grande maioria das sementes nuas já havia iniciado o processo germinativo com raiz primária em desenvolvimento (Figura 12C), enquanto que em sementes íntegras não havia vestígios do rompimento do endocarpo (Figura 12B).

Os reflexos dessa diferença de desenvolvimento foram observados até o término do experimento. Com 68 DAS, às plântulas mais vigorosas de sementes nuas e íntegras apresentavam dois pares de folhas; no entanto, com diferenças perceptíveis no estágio de desenvolvimento de suas estruturas, como parte aérea e raiz (Figura 12D).

Ao término das avaliações, aos 112 DAS, a grande maioria das plântulas oriundas de sementes nuas estava com três a cinco pares de folhas bem desenvolvidas, enquanto as de sementes íntegras entre um e três pares (Figura 12E). O ganho no desenvolvimento inicial das plantas com a retirada do tegumento foi significativo em relação a sua não retirada (Figura 13).

Para o mesmo período de desenvolvimento total, de 112 dias contados a partir da semeadura, sementes nuas originaram plântulas com comprimento total 28% a mais que as obtidas de sementes íntegras. As plântulas obtidas de sementes nuas também apresentaram ganho de 22% no diâmetro do colo, de 64% na massa seca e 55% no volume radicular. Entretanto, tiveram o mesmo consumo das reservas cotiledonares (Figuras 13A a 13E), indicando que as plântulas de sementes íntegras gastaram mais energia e suas reservas para romper o envoltório rígido das sementes, investindo menos no seu crescimento.

Trabalhos anteriores com germinação de sementes de guanandi demonstraram vantagens na retirada do envoltório das sementes, tanto na porcentagem quanto na velocidade de germinação (Nery et al. 2007; Silva et al., 2014). Assim, sabendo que a retirada do endocarpo e tegumento das sementes não alterou a morfologia das plântulas, e possibilitou a formação de plantas mais desenvolvidas, principalmente no que se refere à melhoria na formação radicular, essa pode ser uma estratégia vantajosa para produção de mudas de guanandi.

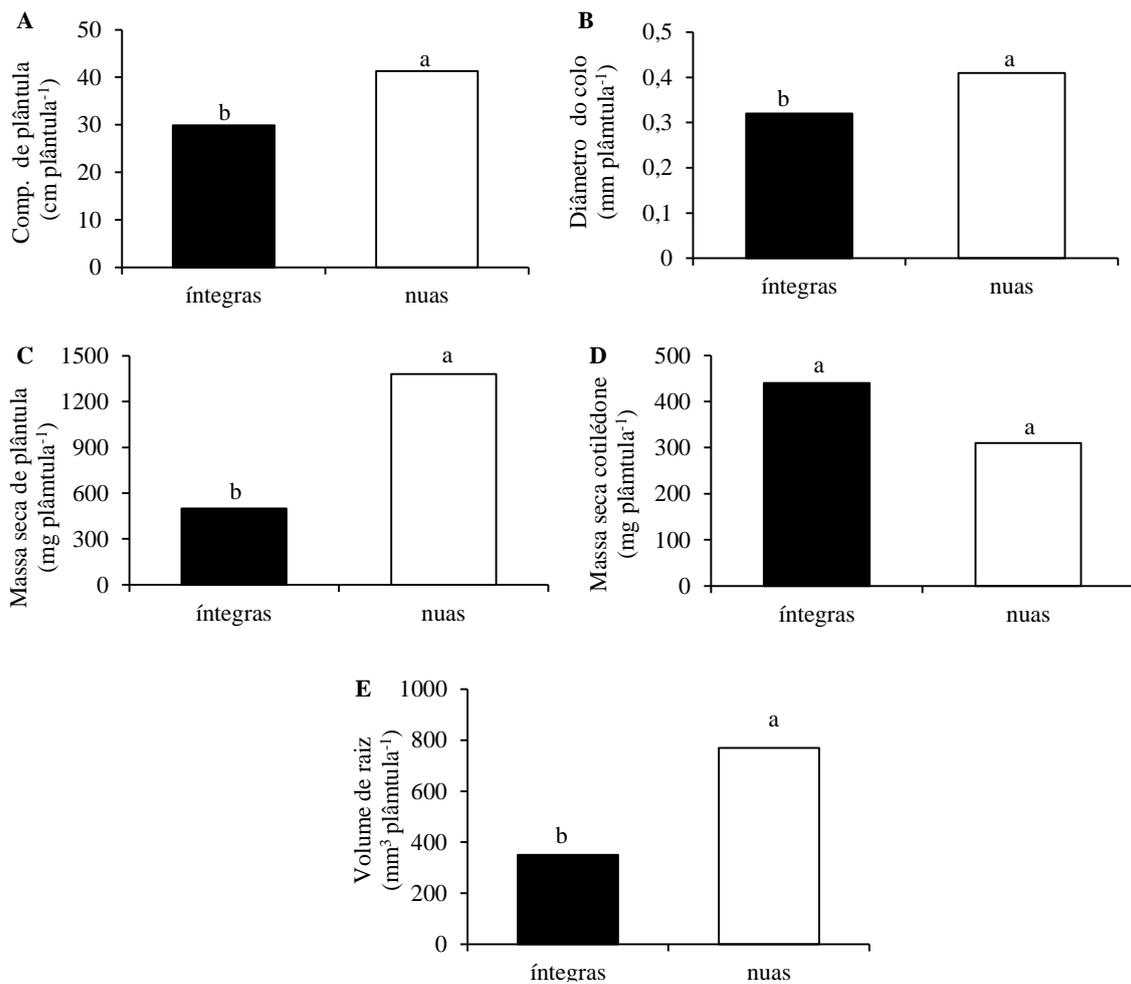


Figura 13: Desenvolvimento inicial de plantas de guanandi originadas de sementes íntegras e nuas. A - comprimento médio total da planta. B - diâmetro médio do colo. C - massa seca média da planta. D - massa seca média do cotilédone (reserva não consumida). E - volume médio de raiz. Letras iguais acima das colunas não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,5$).

Dentre as anormalidades observadas durante a condução do experimento (Figura 14), destacam-se às relacionadas a raiz. Observaram-se frequentes defeitos no pecíolo cotiledonar, muitas vezes unidos e exteriorizados, porém sem desenvolver raiz ou parte aérea, ou ainda pecíolo completamente ou parcialmente fendido, impossibilitando o pleno desenvolvimento tanto da raiz quanto da parte aérea (Figuras 14A e 14B). Frequentemente verificou-se o desenvolvimento normal da parte aérea sem a presença da raiz (Figura 14C) ou com raízes defeituosas, como engrossamento radicular que interrompeu seu o desenvolvimento, causando uma desproporção entre parte aérea e sistema radicular (Figura 14D); também defeitos da raiz principal como bifurcação ou formação de várias raízes (Figura 14E).



Figura 14: Anormalidades em plântulas de guanandi. A e B - defeitos relacionados ao pecíolo cotiledonar. C - plântula com ausência de raiz. D - plântulas com raízes atrofiadas. E - plântula com bifurcação da raiz primária. F - epicótilo sem expansão das folhas primárias (eofilos). G - plântula com engrossamento na base epicótilo. H - plântulas normais (1 e 2) com coloração avermelhada e verde, e anormal (3) sem coloração (hialina). I - plântula com brotação de diversas hastes (parte aérea).

As principais anormalidades relacionadas com a parte aérea foram epicótilo muito alongado sem a expansão dos eofilos (Figura 14F); engrossamento na parte basal do epicótilo (Figura 14G); formação de plântulas albinas, pois as plântulas normais de guanandi podem apresentar coloração avermelhada ou verde claro, nunca branca ou hialina (Figura 14H).

Durante a condução do trabalho foi observado que as plântulas de guanandi apresentam capacidade de resiliência da parte aérea. Plântulas, que por algum motivo, não conseguiram emitir a haste principal da parte aérea (epicótilo) desenvolveram da base dos cotilédones uma a duas hastes substitutas (Figura 14I), no entanto, no presente trabalho não foi observado a mesma capacidade de resiliência relacionada à raiz.

Conforme ressaltou Vogel (1980), as sementes com características de acúmulo de reservas apresentam, frequentemente, gemas nas axilas dos cotilédones, como função de reparar danos ou perdas do eixo principal das plântulas nos estágios iniciais; suas reservas são capazes de sustentar uma ou mais novas estruturas. Essa é uma estratégia de sobrevivência de diversas espécies florestais, principalmente de florestas úmidas e tropicais, que sofrem com frequente predação de herbívoros, e utilizam suas reservas para recompor as estruturas perdidas (Baraloto e Forget, 2007; Teixeira e Barbedo, 2012).

A formação de inúmeras hastes (parte aérea) sem predominância de uma principal pode caracterizar-se como uma anormalidade (Figura 14I); no entanto, como esta é uma estratégia de resiliência da espécie, pode então ser tolerável. Neste caso, a tolerância foi de formação de uma até duas novas hastes, com pelo menos uma apresentando as folhas primárias bem desenvolvidas, sendo considerada uma plântula normal. A formação de inúmeras hastes foi considerada, porém, uma anormalidade.

Outra particularidade que deve ser tolerada é a presença de defeitos em mais de 50% dos cotilédones, uma vez que a grande quantidade de reserva dos cotilédones permite que haja formação de uma plântula normal sem o gasto total das reservas. Assim, no presente trabalho, priorizou-se a formação das partes essenciais da plântula, mesmo que esta apresentasse eventuais defeitos acima de 50% nos cotilédones. Ao término de 112 dias, com as plantas completamente formadas com um a cinco pares de folhas bem desenvolvidos, restaram em média 375 mg de massa seca nos cotilédones, ou seja, reservas não consumidas durante a formação da planta em ambiente favorável (Figura 13D).

Existem divergências entre os técnicos da área de tecnologia de sementes quanto à avaliação das estruturas da semente e das anormalidades de uma plântula de espécies florestais, como por exemplo, a porcentagem a ser tolerada de infecções nos cotilédones, pois em muitos casos, com menos de 50% dos cotilédones, há emissão do primeiro par de folhas saudáveis e vigorosas, conforme observado com o guanandi, o que reforça a necessidade de avanços no conhecimento morfológico, fisiológico e biológico de cada espécie, para então ser realizada uma correta interpretação do teste de germinação (Figliola, 2015).

8.4. CONCLUSÕES

As sementes de guanandi são marcadas pela presença de envoltório rígido (endocarpo) e tegumento membranáceo; pelo tamanho expressivo de suas sementes, formada por grandes cotilédones com função de reserva; apresentam eixo embrionário muito pequeno e diferenciado em epicótilo e eixo hipocótilo-radícula.

As plântulas possuem germinação hipógea e criptocotiledonar, com presença de pecíolos cotiledonares, hipocótilo muito curto e epicótilo que desenvolve uma haste longa com catafilos protetores na região apical; tem raiz pivotante e robusta, e apresenta capacidade

de resiliência da parte aérea; suas principais anormalidades são relacionadas ao sistema radicular.

A extração do endocarpo e do tegumento não alterou a morfologia da plântula, mas proporcionou vantagens no desenvolvimento e crescimento inicial das plantas.

8.5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, O.J.G.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A.; COTA-SÁNCHEZ, J. H. Seedling morphology and development in the epiphyticcactus *Epiphyllum phyllanthus* (L.) Haw. (Cactaceae: Hylocereeae). **Journal of the Torrey Botanical Society**, v.140, n.2, p. 196-214, 2013.

ARAÚJO, E.C. de; MENDONÇA, A.V.R.; BARROSO, D.G.; LAMÔNICA, K.R.; SILVA, R.F da. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 26, n. 1, p. 105-110, 2004.

BARALOTO, C.; FORGET, P.M. Seed size, seedling morphology, and response to deep shade and damage in neotropical rain forest trees. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 6, p. 901-911, 2007.

BARROSO, G.M. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: UFV, 1999. 443p.

BELTRATI, C.M.; PAOLI, A.A.S. Semente. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S.M. **Anatomia vegetal**. 2 ed. Viçosa: UFV, 2006. p. 399-424.

BITTRICH, V. Calophyllaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2009. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB6827>>. Acesso em: 15 Jan. 2014.

BRASIL. **Glossário ilustrado de morfologia**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009 a. 406p.

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

CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>. Acesso em: 10 set. 2015.

CARVALHO, H.O.; MEDEIROS, B.J. L.; SÁ, B.M.; ARAUJO, J.T.C.; KAWAKAMI, M.Y.M.; FAVACHO, H.A.S.; CARVALHO, J.C.T. Study of dissolution profiles and disintegration of capsules containing the dried hydro ethanolic extract of *Calophyllum brasiliense*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.23, n.1, p.194-199, 2013.

DAMIÃO FILHO, C.F. **Morfologia vegetal**. 2 ed. Jaboticabal: Funep, 2005. 172p.

FIGLIOLIA, M.B. Teste de germinação. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015. p.325-343.

GONÇALVEZ, E.G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2007. 448p.

GORDIN, C.R.B.; MARQUES, R.F.; MASETTO, T.E.; SCALON, S.P.Q. Germinação, biometria de sementes e morfologia de plântulas de *Guizotia abyssinica* Cass. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 619-627, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. v.1. 368p.

NERY, F.C.; ALVARENGA, A.A.; JUSTO, C.F.; DOUSSEAU, S.; VIEIRA, C.V. Efeito da temperatura e do tegumento na germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, p. 1872-1877, 2007.

OLIVEIRA, V.C.; JOLY, C.A. Flooding tolerance of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceas): morphological, physiological and growth response. **Trees**, v.24, p.185-193, 2010.

RAMOS, M.B.P.; FERRAZ, I.D.K. Estudos morfológicos de frutos, sementes e plântulas de *Enterolobium schomburgkii* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae). **Revista Brasileira Botânica**, v.31, n.2, p.227-235, 2008.

SCHULTZ, J. *Calophyllum brasiliense*: Olandi. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. p.440-443.

SILVA, F.A.S. **Sistema de Assistência Estatística – ASSISTAT versão 7.7 beta**. Departamento de Engenharia Agrícola (DEAG) do CTRN da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, Campina Grande – PB, 2015. Disponível em: <http://www.assistat.com/>. Acesso em 01 de abril de 2015.

SILVA, R.C da; VIEIRA, E.S.N.; PANOBIANCO, M. Técnicas para superação de dormência de sementes de guanandi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 9, p. 719-727, 2014.

SOUZA, L.A de. **Morfologia e anatomia vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula**. 1 ed. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2009. 259p.

TEIXEIRA, C.C.; BARBEDO, C.J. The development of seedlings from of mono embryonic seeds as an important survival strategy for *Eugenia* (Myrtaceae) tree species. **Trees**, v. 26, p. 1069-1077, 2012.

VASQUEZ, W.; THOMSEN, K.A.; JØKER, D. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. In: SACANDÉ, M.; JØKER, D.; DULLOO, M.E.; THOMSEN, K.A. **Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. p.285-294.

VIDAL, W.N.; VIDAL, M.R.R. **Botânica – Organografia; quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2003. 124p.

VOGEL, E.F. de. **Seedling of dicotyledons. Structure, development, types. Descriptions of 150 woody Malesian taxa**. Centre for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen: Netherlands, 1980. 465p.

9. CAPÍTULO IV - SEMENTES DE GUANANDI: DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA E DO POTENCIAL DE ARMAZENAMENTO

RESUMO: O conhecimento de técnicas para conservação de sementes florestais nativas é um dos fatores fundamentais para o avanço da pesquisa e para viabilização de seu uso. O guanandi é uma espécie florestal nativa com particularidades que dificultam o armazenamento de suas sementes, em razão do seu comportamento recalcitrante e por não haver ainda um protocolo específico e prático para determinação do teor de água da semente. O presente trabalho teve por objetivo testar formas de preparo das sementes para determinação do teor de água e estudar diferentes condições de ambiente e embalagens para o armazenamento de sementes de guanandi. Para a determinação do teor de água utilizou-se o método estufa a baixa temperatura 101 – 105 °C, testando-se três formas de preparo da semente (íntegras, cortadas ao meio e fragmentos menores que 7,0 mm) e diferentes períodos de secagem. Para o armazenamento das sementes testou-se quatro ambientes (câmara úmida, câmara seca, refrigerador e condições de ambiente de laboratório) em combinação com dois tipos de embalagens, permeável (papel Kraft) e semipermeável (polietileno – 0,15 mm), durante quatro períodos (0, 1, 2, 3 e 4 meses). Pelos resultados obtidos observou-se que o método da estufa a baixa temperatura 101 – 105 °C / 17 h, utilizando-se sementes íntegras, deve ser utilizado para a determinação do teor de água das sementes de guanandi. A melhor combinação entre ambiente e embalagem para o armazenamento das sementes de guanandi, no período testado, foi condição de ambiente de laboratório (média entre 19,6 - 23,1 °C e UR 53- 62%) em embalagem de polietileno.

Palavras-chave: *Calophyllum brasiliense* Cambess., conservação, recalcitrante, método da estufa.

GUANANDI SEEDS: DETERMINATION OF THE MOISTURE CONTENT AND STORAGE POTENTIAL

ABSTRACT: Knowing techniques to preserve native forest seeds is one of the fundamental factors to advance the research and to make its use viable. Guanandi is a Brazilian native forest species, with characteristics that make it difficult to store its seeds, due to its recalcitrant behavior and because there is not a specific and practical protocol to determine the water content of the seed. The objective of this paper was to test preparation methods of the seeds in order to determine the water content and to study different environmental conditions and packages to store the guanandi seeds. In order to determine the water content, the oven method at low temperature, 101 – 105 °C, was used, testing three seed preparation methods (whole, cut in half and fragments with less than 7.0 mm) and different drying periods. In order to store the seeds, four environments were tested (moist chamber, dry chamber, refrigerator and laboratory environment conditions) in combination with two types of packages, permeable (Kraft paper) and semi-permeable (polyethylene – 0.15 mm) packages, during four periods (0, 1, 2, 3 and 4 months). Due to the results obtained, it was observed that the oven method at low temperature, 101 – 105 °C / 17 h, using whole seeds, must be used to determine the water content of the guanandi seeds. The best combination between environment and package to store the guanandi seeds, during the tested period, was the laboratory environment condition (mean between 19.6 – 23.1 °C and UR 53- 62%) in a polyethylene package.

Keywords: *Calophyllum brasiliense* Cambess., conservation, recalcitrant, oven method.

9.1. INTRODUÇÃO

A busca por ferramentas que auxiliam na conservação de sementes de espécies florestais é um grande desafio para a pesquisa, uma vez que a semente constitui na principal forma de conservação das espécies (Salomão et al., 2015), tendo ganhado ainda mais importância com a necessidade de preservação de recursos genéticos de espécies nativas, que sofrem pressões antrópicas constantemente.

A deterioração da semente durante o armazenamento não pode ser evitada, mas deve ser minimizada com aplicação de técnicas para manter condições mais adequadas de ambiente, visando conservar a sua qualidade fisiológica pelo maior período possível, sendo tais condições variáveis para cada espécie (Souza et al., 2011, Abud et al., 2012) e dependentes de características da própria semente (como físicas, fisiológicas e bioquímicas) e da sua capacidade de tolerância a perda de água e baixa temperatura. Neste sentido, as sementes são classificadas como de comportamento ortodoxo, intermediário ou recalcitrante (Martins et al., 2007; Silva e Ferraz, 2015).

Sementes recalcitrantes, como as de *Calophyllum brasiliense* Cambess. (guanandi) (Vasquez et al., 2004; Carvalho et al., 2006), são menos favorecidas pelas técnicas convencionais de armazenamento, as quais se baseiam na retirada de água das sementes até limites muito baixos, aliado à baixa temperatura e umidade relativa do ar, condições essas não toleradas pelas recalcitrantes.

O armazenamento pode ser dividido em curto, médio e longo prazo, sendo os primeiros utilizados para a conservação das sementes por dias, meses e anos, em grandes volumes para atender demandas comerciais; já no armazenamento a longo prazo (acima de 10 anos), são utilizados normalmente volumes menores, normalmente em bancos de germoplasma, para conservação de material genético, o que implica no emprego de temperaturas ultrabaixas (-80 °C) ou criopreservação em nitrogênio líquido (Silva e Ferraz, 2015).

Estudos abordando o armazenamento de sementes de espécies nativas têm revelado um período de conservação geralmente curto (meses), em temperatura amena (20 – 25 °C) e umidade relativa do ar elevada (70 – 80% UR), empregando embalagens que minimizam as perdas de água da semente (Faria et al., 2006; Martins et al., 2007; Matos et al., 2008; Ferreira et al., 2010; Nascimento et al., 2010).

As sementes de guanandi apresentam dificuldades para serem armazenadas por longos períodos, não havendo ainda protocolo que indique a melhor forma de conservação a curto

prazo, tempo mínimo muitas vezes necessário para transporte das sementes, desenvolvimento de pesquisas em laboratório e escalonamento da produção de mudas, melhorando assim a logística do viveiro.

Por outro lado, a determinação do teor de água das sementes é requisito para o monitoramento da qualidade fisiológica durante o período de armazenamento. Assim, metodologias que garantam confiabilidade e praticidade nessa determinação são demandas pertinentes em sementes florestais.

Dentre os métodos mais confiáveis, está o de estufa a baixa temperatura 101 – 105 °C / 17 h, indicado nas Regras para Análise de Sementes (RAS) por ser um método básico para introdução de novas espécies (Brasil, 2009), além de ser adotado pelas Regras Internacionais de Análise de Sementes (ISTA, 2015). No caso de sementes de guanandi, consideradas grandes e com alto teor de água, a recomendação do método envolve a realização de cortes na semente em fragmentos menores que 7,0 mm, em tempo reduzido (quatro minutos) de exposição do material ao ambiente, sendo que as sementes de guanandi possuem endocarpo rígido, o que dificulta a fragmentação rápida e exposição do material ao tempo limite indicado.

O objetivo do trabalho foi testar formas de preparo das sementes para determinação do teor água, e avaliar diferentes condições de ambiente e embalagens para o armazenamento de sementes de guanandi.

9.2. MATERIAL E MÉTODOS

Frutos maduros de guanandi foram coletados no mês de maio de 2015 de 10 árvores distintas localizadas em áreas naturais da Mata Atlântica, no município de Pontal do Paraná (25° 35' S e 48° 33' W). O clima da região é classificado como Cfa segundo Köppen (Caviglione et al., 2000), ou seja, clima subtropical com temperaturas médias de 18 °C e 22 °C, respectivamente, no mês mais frio e mais quente, apresentando verões quentes e geadas pouco frequentes, com chuvas concentradas no verão, sem estação seca definida.

Assim que coletados, os frutos foram levados ao Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, da Universidade Federal do Paraná, onde foram despulpados manualmente, e as sementes lavadas em água corrente e colocadas para secagem superficial sobre papel toalha, em ambiente com temperatura de 20 °C.

Para o estudo da determinação do teor de água das sementes foram utilizados três diferentes tipos de preparo: sementes íntegras, sementes cortadas ao meio e sementes cortadas em fragmentos menores que 7,0 mm (Brasil, 2009). Quatro repetições de cinco sementes, ou massa equivalente a cinco sementes quando fragmentadas, foram dispostas em cápsulas de alumínio e colocadas para secar em estufa a $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ (Brasil, 2009). O teor de água das sementes foi determinado por meio de pesagens em balança analítica com precisão de 0,001 g a cada três horas (até completar 15 horas de avaliação) e depois a cada duas horas até o encerramento das pesagens (com 25 horas, uma hora a mais do período máximo recomendado para a determinação do teor de água de sementes pelas RAS). Os resultados foram expressos em porcentagem, na base úmida.

Para avaliação do potencial de armazenamento das sementes foram testadas quatro condições de ambiente (câmara úmida; câmara seca; refrigerador e condições de ambiente de laboratório) e dois tipos de embalagem, permeável (papel Kraft) e semipermeável (polietileno 0,15 mm) em cinco períodos (0, 1, 2, 3 e 4 meses).

O potencial fisiológico das sementes durante o período de armazenamento foi avaliado pelas seguintes determinações:

Teste de germinação: utilizaram-se cinco repetições de 10 sementes cada, distribuídas em rolo de papel toalha umedecidos com água na proporção de 2,5 vezes o valor da massa do substrato (Silva et al., 2014), mantidas em germinador tipo Mangelsdorf, com avaliações semanais até a estabilização da germinação, ou seja, até não ser observado a possibilidade de se obter plântulas normais.

Índice de Velocidade de germinação (IVG): conduzido juntamente com o teste de germinação, realizando-se avaliações semanais até observação da impossibilidade de ocorrência de germinação (Maguire, 1962).

Teor de água: determinado de acordo com a melhor metodologia obtida no estudo conduzido especificamente para este fim, citado anteriormente.

Para análise estatística foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial para o teor de água (períodos de secagem x preparo das sementes); esquema de parcelas subdivididas para o armazenamento das sementes, onde as parcelas receberam as combinações entre os ambientes de armazenamento e as embalagens, e as subparcelas os períodos de armazenamento. Realizou-se análise de regressão para avaliação do potencial fisiológico e o teor de água das sementes durante o período de armazenamento, realizando ajuste da equação significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

9.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos com a determinação do teor de água das sementes de guanandi (Tabela 4) mostram que com o preparo das sementes cortadas ao meio e em fragmentos menores que 7,0 mm, a extração de água após três horas de secagem foi, respectivamente, de 6,9 e 2,7%, em relação ao total de água extraída (25 horas), enquanto que nas sementes íntegras esse valor foi de 25,2%.

Tabela 4: Teor de água das sementes de guanandi, determinado pelo método de estufa a baixa temperatura 101-105 °C, testando-se diferentes formas de preparo da semente e vários períodos de secagem.

Períodos de secagem (h)	TEOR DE ÁGUA (101 – 105 °C)		
	Preparo da semente		
	Íntegras	Cortadas ao meio	Fragmentos < 7,0 mm
%.....		
3	8,8 Ac	2,4 Bb	0,9 Bb
6	26,4 Bb	32,1 Aa	33,0 Aa
9	32,6 Aa	34,0 Aa	33,6 Aa
12	34,2 Aa	34,4 Aa	33,8 Aa
15	34,2 Aa	34,4 Aa	33,8 Aa
17	34,7 Aa	34,5 Aa	33,8 Aa
19	34,9 Aa	34,6 Aa	33,8 Aa
21	34,9 Aa	34,6 Aa	33,9 Aa
23	34,9 Aa	34,6 Aa	33,9 Aa
25	34,9 Aa	34,6 Aa	33,8 Aa
C.V. (%)	3,93		

Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Essa diferença na perda de água inicial, em relação ao tipo de preparo da semente, talvez esteja relacionada à dificuldade da perda de água de material mais denso, com área menor de superfície exposta formada originada da fragmentação do embrião, diferentemente

das sementes íntegras, que possuem maior área de superfície exposta e com tecido menos denso (o endocarpo), facilitando assim a perda da água inicial.

Após seis horas de secagem foi possível observar uma estabilização na perda de água das sementes tanto nas sementes cortadas ao meio quanto nos fragmentos menores que 7,0 mm (Tabela 4), pois neste momento as sementes já haviam perdido 92,8 e 97,4% do total de água, respectivamente; já nas sementes íntegras, a estabilização só pode ser alcançada três horas depois (9 horas de secagem), apresentando 93,4% de perda de água.

A partir de nove horas de secagem não foram observadas diferenças entre os tratamentos, ficando estáveis as três formas de preparo da semente quanto à extração de água até 25 horas de secagem, demonstrando assim que a determinação do teor de água pelo método de estufa a baixa temperatura 101-105 °C / 17 h pode ser eficiente mesmo com a utilização de sementes íntegras, sendo mais fácil e prático para ser utilizado em laboratório, uma vez que as sementes de guanandi apresentam endocarpo resistente o que dificulta a aplicação da metodologia indicada nas R.A.S. (Brasil, 2009) de fragmentos menores do que 7,0 mm num período máximo de quatro minutos de exposição ao ambiente.

Conforme ressaltaram Barbedo e Lamarca (2015), o método mais adequado para determinação do teor de água de sementes de espécies florestais pode variar de acordo com as características de cada espécie, como tamanho e composição química; da finalidade, como acompanhamento da maturação no campo ou das condições de armazenamento; e também da necessidade de precisão e/ou rapidez na determinação. Ainda, segundo os autores, dentre os métodos mais confiáveis está o de estufa a baixa temperatura 101-105 °C.

De acordo com os dados obtidos (Tabela 4), em nove horas de secagem a maior diferença no teor de água, em relação a maior umidade obtida nas 25 horas de secagem, foi de 2,3%, em todos os preparos, estando este valor dentro do limite de tolerância entre amostras (2,5%) indicado nas RAS (Brasil, 2009) para sementes com teores de água maiores que 25,0%. Dessa forma, havendo necessidade de uma determinação mais rápida do teor de água das sementes de guanandi pode-se conduzir o teste com nove horas de secagem e utilizar qualquer tipo de preparo, ou ainda, optar por seis horas de secagem usando sementes cortadas ao meio ou em fragmentos menores do que 7,0 mm.

Nas Figuras 15A a 15D estão representadas as médias da umidade relativa e as médias das temperaturas máxima, mínima e média, obtidas durante o período de armazenamento em cada ambiente. A condição de ambiente de laboratório (Figura 15A) foi a que apresentou maior variação tanto da temperatura média (19,6 – 23,1 °C) quanto à umidade relativa média

(53 – 62%) (Figura 15A). A câmara úmida apresentou a menor variação na temperatura (5,6 – 5,8 °C), em seguida a câmara seca (17,4 – 17,7 °C) e o refrigerador (7,3 – 8,5 °C). Com relação à umidade relativa média a menor variação foi obtida na câmara seca (56 – 57%), seguido do refrigerador (49 – 52%) e a câmara úmida (69 – 73%) (Figuras 15B a 15D).

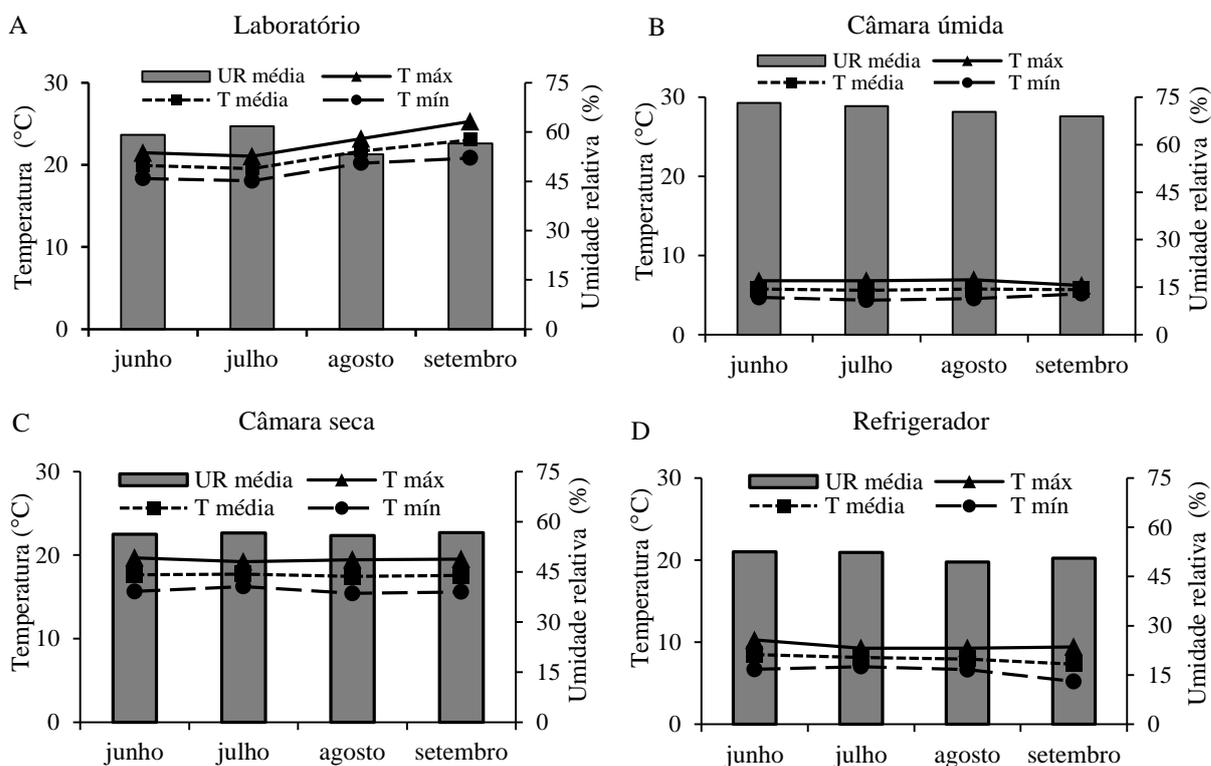


Figura 15: Dados de temperatura e umidade relativa do ar nos diferentes ambientes testados, durante o período de armazenamento das sementes de guanandi. A – laboratório (Curitiba, PR). B – câmara úmida. C – câmara seca. D – refrigerador.

Para o armazenamento de sementes de guanandi, de maneira geral, em todos os ambientes testados a embalagem polietileno foi a que melhor preservou o potencial fisiológico das sementes ao longo dos períodos de armazenamento (Figura 16).

A germinação das sementes quando armazenadas em ambiente laboratório, em embalagem de polietileno, manteve-se estável até o terceiro mês de armazenamento, ou seja, sem perdas significativas do seu poder germinativo, o qual se manteve entre 85 e 88% (Figura 16A); porém, no quarto mês, o poder germinativo reduziu para 68%. A germinação das sementes de guanandi acondicionadas em polietileno e mantidas nos demais ambientes,

exceto o refrigerador, também não foi prejudicada até o segundo mês de armazenamento (Figuras 16B a 16D).

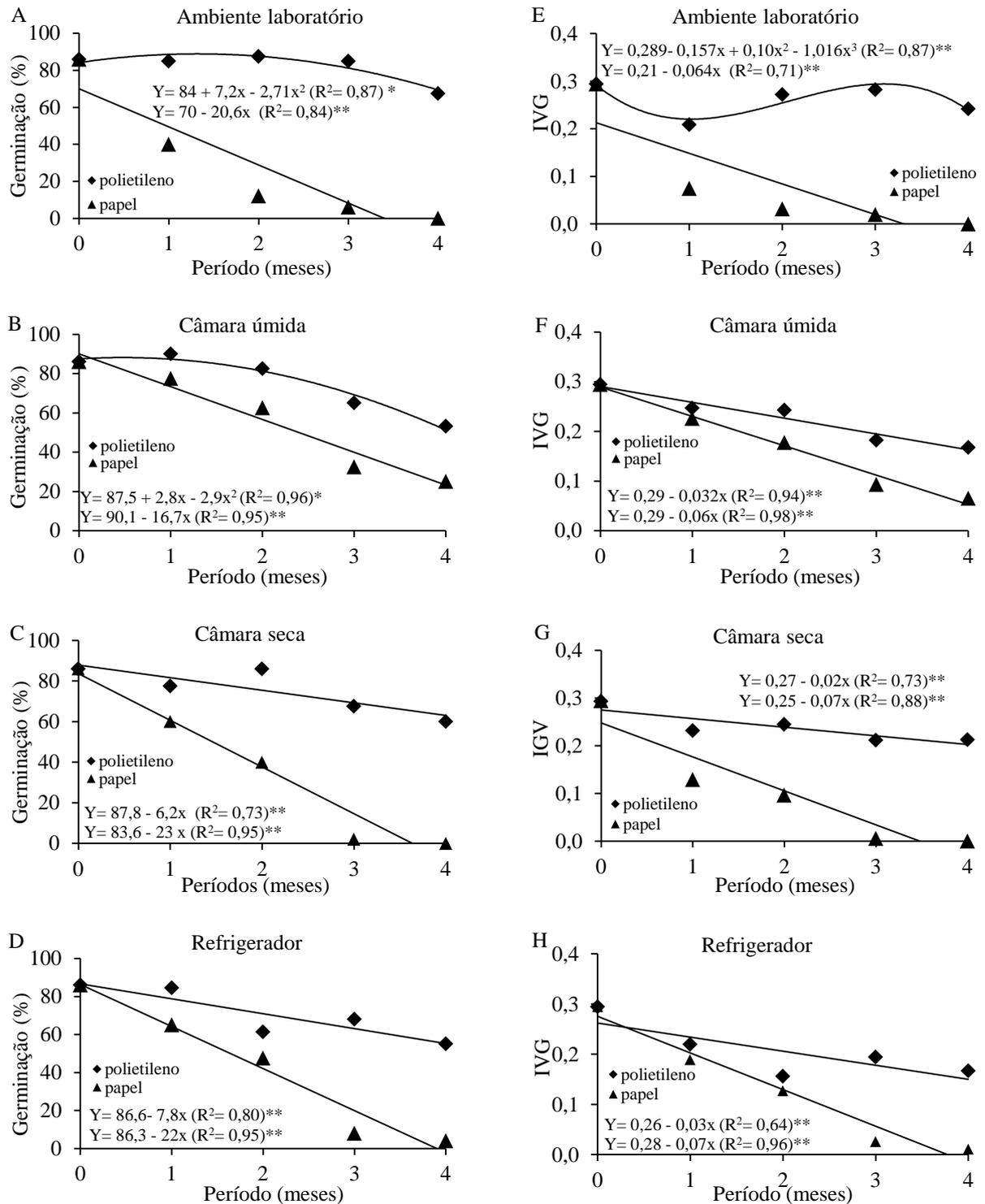


Figura 16: Germinação e vigor de sementes de guanandi armazenadas em diferentes ambientes e embalagens. A a D – Germinação. E a H – Índice de velocidade de germinação. A e E – condições de ambiente de laboratório. B e F - câmara úmida. C e G - câmara seca. D e

H - refrigerador. (*) e (**) significância $p < 0,5$ e $p < 0,01$, respectivamente. (ns) não significativo.

Destaca-se que o vigor das sementes caiu de forma linear em todos os ambientes e embalagens durante o armazenamento, menos em ambiente de laboratório e na embalagem de polietileno, onde o decréscimo foi mais atenuado, obedecendo a uma regressão de terceira ordem (Figuras 16E a 16H).

A embalagem de polietileno possibilitou que a umidade das sementes de guanandi não fosse drasticamente perdida durante o período de armazenamento, tendo redução linear significativa apenas no ambiente refrigerador (Figura 16A); em contrapartida, as sementes acondicionadas em papel (Figura 16B) perderam umidade significativamente em todos os ambientes, sendo o ambiente de câmara úmida combinada a essa embalagem o que apresentou menor redução ao final de quatro meses (7,5%) e, o ambiente laboratório, a maior redução (23,9%).

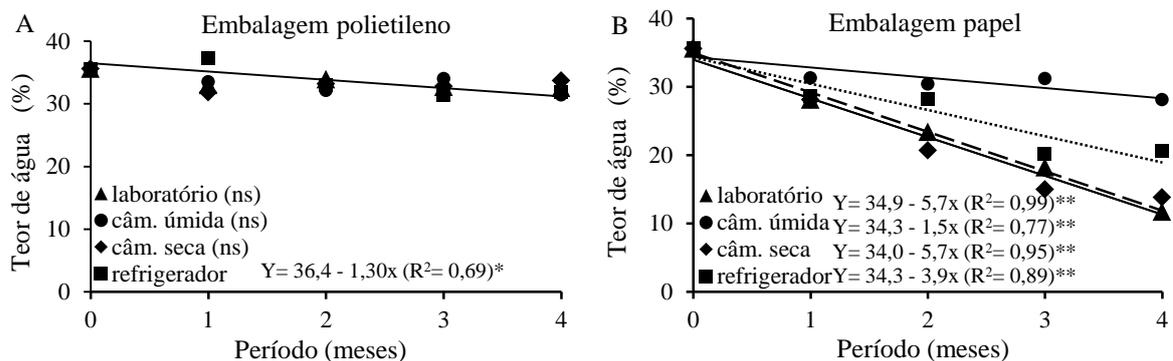


Figura 17: Teor de água das sementes de guanandi, armazenadas em dois tipos de embalagem e em quatro ambientes. A – embalagem polietileno. B – embalagem papel. (*) e (**) significância $p < 0,5$ e $p < 0,01$, respectivamente. (ns) não significativo.

A umidade relativa do ar nos ambientes, câmara seca, condições de ambiente de laboratório e câmara úmida, não foi fator determinante para alterar a umidade das sementes, quando se utilizou a embalagem polietileno, pois mesmo com a variação da umidade dentro desses ambientes (56, 58 e 71%, respectivamente) (Figuras 15A a 15C), não houve alteração significativa, demonstrando que a embalagem de polietileno nesses ambientes foi eficiente, não permitindo trocas excessivas de vapor d'água entre a semente e o ambiente (Figura 16A), condição fundamental para manutenção da qualidade fisiológica de sementes recalcitrantes.

Outros trabalhos com armazenamento de sementes de espécies nativas têm relatado resultados semelhantes na manutenção da umidade quando utilizado esse tipo de embalagem (Martins et al., 2007; Ferreira et al., 2010). Em espécies recalcitrantes, a embalagem de polietileno tem sido eficiente na manutenção da viabilidade das sementes, uma vez que por ser semipermeável dificulta a troca vapor d'água das sementes com o ambiente; porém, permite a troca de gases essenciais para a manutenção da sua viabilidade, como o oxigênio, que é necessário já que as atividades metabólicas das sementes recalcitrantes permanecem ativas durante o período de armazenamento (Pupim, et al., 2009; Nascimento et al., 2010, Souza et al., 2011; Silva e Ferraz, 2015).

A condição de umidade das sementes (teor de água de 28,1%) (Figura 17B), mantida na combinação de ambiente câmara úmida e embalagem papel, proporcionou uma germinação média de 25% ao final do período de armazenamento, enquanto que nos demais ambientes a média da germinação variou entre 0 e 4%, para a mesma embalagem (Figuras 16A a 16D). O mesmo padrão de comportamento foi observado para o vigor (Figuras 16E a 16F). Esses resultados demonstram que a manutenção do teor de água das sementes de guanandi é fundamental para preservar seu potencial fisiológico, sendo necessário adequar a melhor combinação entre embalagem e ambiente para manter o máximo da qualidade das sementes.

Sementes de guanandi, por serem recalcitrantes (Vasquez et al., 2004; Carvalho et al., 2006), não toleram a dessecação intensiva e nem a exposição a baixa temperatura. No presente trabalho, observou-se que com a manutenção do teor de água adequado das sementes o fator determinante para manutenção da viabilidade das mesmas passou a ser a temperatura, uma vez que as sementes ao serem armazenadas em embalagem de polietileno não apresentaram redução significativa da umidade em três ambientes distintos; no entanto, mantiveram maior qualidade durante todo o período de armazenamento apenas em condições de ambiente de laboratório, que apresentou no período variação da temperatura média entre 19,6 e 23,1 °C. Os dois outros melhores ambientes (câmara úmida e câmara seca) permaneceram com temperatura média entre 5,6 – 5,8 e 17,4 – 17,7 °C, respectivamente (Figuras 15A a 15C).

Conforme ressaltaram Silva e Ferraz (2015), dentre as recomendações gerais para o armazenamento de sementes recalcitrantes está a redução da temperatura de armazenamento a valores próximos ao mínimo exigido para a germinação. Em trabalho com germinação de guanandi, Nery et al. (2007) observaram alta porcentagem de germinação das sementes na temperatura constante de 20 °C, e germinação nula quando as sementes foram mantidas a 15

°C, o que reforça a ideia de que as condições de temperatura mantidas em ambiente laboratório podem ser próximas das ideais, para o armazenamento da espécie.

9.4. CONCLUSÕES

O teor de água das sementes é determinado mais facilmente pelo método da estufa a baixa temperatura 101 – 105 °C / 17 h, utilizando-se sementes íntegras, sem prejuízo no resultado.

A melhor combinação entre ambiente e embalagem para o armazenamento das sementes de guanandi, no período testado, é a condição de ambiente de laboratório, com temperatura média 19,6 - 23,1 °C e UR média de 53- 62%, em embalagem de polietileno.

9.5. REFERÊNCIAS

ABUD, H.F.; PEREIRA, D.S.; GONÇALVES, N.R.; PEREIRA, M.S.; BEZERRA, A.M.E. Armazenamento de sementes de xique-xique. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.3, p.473-479, 2012.

BARBEDO, C.J.; LAMRCA, E.V. Teor de água e dessecação. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p.308-324.

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

CARVALHO, R.L.; SILVA, E.A.A.da, DAVIDE, A.C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.2, p.15-25, 2006.

CAVIGLIONE, J.H.; KIIHL, L.R.B.; CARAMORI, P.H.; OLIVEIRA, D. **Cartas climáticas do Paraná**. Londrina: IAPAR, 2000. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=677>. Acesso em: 10 set. 2015.

FARIA, J.M.R.; DAVIDE, L.C.; SILVA, E.A.A. da; DAVIDE, A.C.; PEREIRA, R.C.; LAMMEREN, A.A.M. van; HILHORST, H.W.M. Physiological and Cytological aspect of *Inga vera* subsp. *affinis* embryos during storage. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v.18, n.4, p.503-513, 2006.

FERREIRA, E.G.B.S.; MATOS, V.P.; FERREIRA, R.L.C.; SALES, A.G.F.A.; SENA, L.H.M. Vigor de sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. sob diferentes condições de armazenamento e embalagens. **Ciência Florestal**, v.20, n.2, p.295-305, 2010.

ISTA. **International Rules for Seed Testing**. International Seed Testing Association (ISTA) Zürichstr, Switzerland: ISTA, 2015. 276p.

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

MARTINS, C.C.; BOVI, M.L.A.; NACAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de palmitero-vermelho em função da desidratação e do armazenamento. **Horticultura brasileira**, v.25, n.2, p.188-192, 2007.

MATOS, V.P.; FERREIRA, E.G.B.S.; FERREIRA, R.L.C.; SENA, L.H.M.; SALES, A.G.F.A. Efeito do tipo de embalagem e do ambiente de armazenamento sobre a germinação e o vigor de sementes *Apeiba tibourbou* Aubl. **Revista Árvore**, v.32, n.4, p.617-625, 2008.

NASCIMENTO, W.M.O.; CICERO, S.M.; NOVEMBRE, A.D.L.C. Conservação de sementes de açáí (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.24-33, 2010.

NERY, F.C.; ALVARENGA, A.A.; JUSTO, C.F.; DOUSSEAU, S.; VIEIRA, C.V. Efeito da temperatura e do tegumento na germinação de sementes de *Calophyllum brasiliense*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.6, p.1872-1877, 2007.

PUPIM, T.L.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; BRANCALION, P.H.S.; MORAES, M.H.D. de; MONDO, V.H.V.; LABONIA, V.D.S. Conservação de sementes de *Magnolia ovata* St. Hil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.3, p.96-105, 2009.

SALOMÃO, A.N.; SANTOS, I.R.I.; WALTER, B.M.T. Coleta e conservação de recursos genéticos *ex situ*: sementes de espécies florestais. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p.167-178.

SILVA, A. da; FERRAZ, I.D.K., Armazenamento de sementes. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; SILVA, A. da. **Sementes Florestas Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina, PR: ABRATES, 2015, p.219-242.

SILVA, R.C da; VIEIRA, E.S.N.; PANOBIANCO, M. Técnicas para superação de dormência de sementes de guanandi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.9, p.719-727, 2014.

SOUZA, V.C. de, ANDRADE, L.A.; CRUZ, F.R.S.; FABRICANTE, J.R.; OLIVEIRA, L.S.B.de. Conservação de sementes de marizeiro *Geoffroea spinosa* Jacq. Utilizando diferentes embalagens e ambientes. **Ciência Florestal**, v.21, n.1, p.93-102, 2011.

VASQUEZ, W.; THOMSEN, K.A.; JØKER, D. Desiccation and storage of seeds of *Astronium graveolens* and *Calophyllum brasiliense*, two native species of Costa Rica. In: SACANDÉ, M.; JØKER, D.; DULLOO, M.E.; THOMSEN, K.A. **Comparative Storage Biology of Tropical Tree Seeds**. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 2004. 285-294p.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pesquisa com sementes de espécies florestais nativas é demanda nacional, uma vez que são escassos os conhecimentos nesta área, considerando a grande diversidade das espécies brasileiras. Regiões ricas em biodiversidade são apontadas como fonte da seguridade alimentar do futuro, já que as mudanças climáticas previstas podem alterar as características do ambiente em que as espécies cultivadas e consumidas, atualmente no mundo, estão adaptadas.

A grande fonte de conhecimento na área de sementes está concentrada nas culturas amplamente cultivadas, reflexo da importância do Brasil na produção agrícola. No entanto, se faz necessário ampliar o conhecimento de espécies nativas, para que no futuro o País ainda seja uma referência mundial de fonte de alimento.

Trabalhar com espécies nativas, em especial as florestais, requer do pesquisador muita paciência, pois é trabalhar com um material desconhecido, com escasso respaldo bibliográfico, enfrentar dificuldades na coleta das sementes, no reconhecimento da época adequada para coleta, das estruturas morfológicas, do processo de germinação e, principalmente, a forma de armazenar o material durante o tempo da pesquisa.

Com o guanandi não foi diferente, mas o resultado foi compensador. O trabalho apresentado se concentrou em esclarecer questões básicas relacionadas à produção, avaliação e armazenamento das sementes, mas que são essenciais para o avanço da pesquisa científica de uma espécie, pois é improvável que se tenha sucesso em pesquisas mais avançadas, como o melhoramento genético de uma espécie, sem conhecer o processo reprodutivo.

O guanandi é uma espécie importante por ser amplamente distribuída e adaptada a diferentes condições de ambiente, e por apresentar grande potencial madeireiro pela qualidade de sua madeira; no entanto, outras potencialidades devem ser ressaltadas, como a alimentícia, pois seus frutos podem ser uma fonte de alimento alternativo, além do seu potencial químico e farmacológico.

Mesmo que se tenha o desejo de esgotar todas as dúvidas em relação ao que se pesquisa, muitas vezes as circunstâncias não permitem, sejam por escassez de tempo, recursos financeiros, entre outros. Assim, são deixadas aqui sugestões de pesquisa para complementação de algumas questões.

Com relação ao processo de maturação, seria interessante um trabalho de acompanhamento que pudesse correlacionar os eventos climáticos por um maior período de

tempo. Além disso, seria interessante fazer um paralelo com populações de plantas localizadas em outras regiões do litoral paranaense, uma vez que apesar de serem regiões próximas, recebem influências de outras variáveis, como a do mar nas regiões costeiras.

Relacionado à germinação das sementes e desenvolvimento da planta, seria interessante testar outros tratamentos para superação da dormência das sementes, que fosse tão eficiente quanto à retirada total do endocarpo, ou uma forma mais prática para ser realizada essa extração, ou seja, desenvolvimento de tecnologia (equipamento) que viabilize o despulpamento dos frutos e a retirada do envoltório das sementes, a fim de auxiliar o viveirista no momento do plantio. Seria também interessante o acompanhamento do desempenho das mudas oriundas de sementes nuas, para verificar se as vantagens obtidas com a retirada do endocarpo no desenvolvimento inicial permanecerão nos demais estágios da planta.

O período de armazenamento das sementes de guanandi é limitado, por ser uma semente recalcitrante e não tolerar a perda de água, sendo ainda menor quando as sementes são coletadas em época inadequada, ou seja, antes de completar o processo de maturação. Apesar de ter conseguido manter as sementes por um período de três meses sem alterar a germinação, ainda se faz necessário avançar nessa questão, principalmente em relação ao armazenamento por um longo prazo, necessário para preservação genética da espécie. Assim, o que se aponta nas pesquisas com sementes recalcitrantes para este fim é a criopreservação, seja das sementes ou parte destas, como eixo embrionário, podendo ser este um caminho a ser seguido para conservação em longo prazo do guanandi.