

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

CRISTINA FERNANDA SCHNEIDER

**VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler
EM FUNÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA E ARMAZENAMENTO**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON
2015**

CRISTINA FERNANDA SCHNEIDER

**VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler
EM FUNÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA E ARMAZENAMENTO**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientadora: Marlene de Matos Malavasi

Coorientadores: Ubirajara Contro Malavasi

Edmar Soares de Vasconcelos

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE - Campus de Marechal Cândido Rondon - PR., Brasil)

S358v	Schneider, Cristina Fernanda Viabilidade de sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler em função dos locais de coleta e do armazenamento / Cristina Fernanda Schneider. - Marechal Cândido Rondon, 2015. xii, 47 p. Orientadora: Dr ^a Marlene Matos Malavasi Coorientador: Dr Ubirajara Contro Malavasi Dr. Edmar Soares de Vasconcelos Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2015. 1. Árvores - Brasil. 2. Silvicultura. 3. Pau marfim - Sementes - Armazenamento. I. Malavasi, Marlene Matos. II. Malavasi, Ubirajara Contro. III. Vasconcelos, Edmar Soares de. IV. Título. CDD 22.ed.634.95 CIP-NBR 12899
-------	--

Ficha catalográfica elaborada por Marcia Elisa Sbaraini Leitzke CRB-9/539

CRISTINA FERNANDA SCHNEIDER

**VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler
EM FUNÇÃO DOS LOCAIS DE COLETA E ARMAZENAMENTO**

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2015

Prof. Dr^a. Nádia Graciele Krohn
(UEM)

Dr. João Alexandre Lopes Dranski
(UNIOESTE)

Prof. Dr. Edmar Soares de Vasconcelos
(UNIOESTE)

Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi
(UNIOESTE)

Prof^a. Dr^a. Marlene de Matos Malavasi
(Orientadora)
(UNIOESTE)

DEDICO

Aos meus pais Arno Schneider e
Nelci Beppler Schneider, com todo
meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, e por permitir que eu conclua mais essa etapa de minha vida.

À Professora Dra. Marlene de Matos Malavasi, pela amizade, conselhos, preciosos ensinamentos, paciência e atenção, dedicada a mim, ao longo desses anos, que contribuíram imensamente para minha formação pessoal e profissional. Muito Obrigada!!!

Ao professor Dr. Ubirajara Contro Malavasi, pela amizade, conselhos, conhecimentos repassados e revisão deste trabalho

Ao professor Dr. Edmar Soares de Vasconcelos, pela amizade, auxílio nas análises estatísticas e revisão deste trabalho.

A minha família, meu alicerce. Meus pais Arno Schneider e Nelci Beppler Schneider que nunca deixaram de me apoiar, principalmente nos momentos de dificuldade e fraqueza. Aos meus irmãos Márcia Beppler Schneider e Jorge Eduardo Schneider e cunhados Elenice Decker Schneider e Victor Jorge Konzen pela amizade, companheirismo e apoio. Aos meus amados sobrinhos e afilhado Augusto Juarez Schneider Konzen, Bruno Eduardo Schneider e Amanda Beatriz Schneider Konzen, que tornam meus dias mais doces e alegres.

A minha colega de longa caminhada Fabiane Cristina Gussatto, minha companheira de todas as horas, que sempre esteve me auxiliando nos trabalhos dos experimentos, com sua incansável disposição e alegria. Saiba que sua amizade foi fundamental, e que sempre poderá contar comigo. Fabi nós conseguimos!

Ao colega e amigo Dr. João Alexandre Lopes Dranski, pelas inúmeras vezes que me auxiliou em trabalhos de campo, laboratório e análises estatísticas. Sempre disposto a ajudar e repassar conhecimentos.

Aos amigos e colegas do Programa de Pós Graduação: Deisnara Giane Schulz, Sidiane Coltro Roncato, Michelle Cristina Ajala, Heloísa Ferro Constâncio Mendonça, Vanessa Leonardo Ignácio, Neusa Michelon Herzog, Cristiane Meinerz, Paulo Ricardo Lima, André Luiz Piva, Anderson Santin e Éder Junior Mezzalira pelo companheirismo, auxílio no experimento e momentos de descontração.

As minhas queridas amigas Melany Andrea Becker Kaefer, Priscila Francener e Vanessa Daniele Mattiello, pela amizade pura e recíproca, momentos de descontração e, principalmente, pelo apoio durante essa jornada.

A todos os funcionários da Unioeste que auxiliarem de alguma forma na condução de minha pesquisa, em especial ao Cláudio do Núcleo de Estações Experimentais, que não mediu esforços para as saídas a campo nas coletas de sementes, sempre disposto a ajudar e passar conhecimentos práticos.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Agronomia que contribuíram para minha formação.

À professora Dra. Nádia Graciele Krohn, pela avaliação e pelas considerações ao trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pela concessão de bolsa de estudos.

A todas aquelas pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte mais feliz, quem sabe
Só levo a certeza de que muito pouco sei...
Ou nada sei...

Conhecer as manhas e as manhãs
O sabor das massas e das maçãs
É preciso amor pra poder pulsar
É preciso paz pra poder sorrir
É preciso a chuva para florir

Penso que cumprir a vida seja simplesmente
Compreender a marcha e ir tocando em frente
Como um velho boiadeiro levando a boiada
Eu vou tocando os dias pela longa estrada
Eu vou... Estrada eu sou

Conhecer as manhas e as manhãs
O sabor das massas e das maçãs
É preciso amor pra poder pulsar
É preciso paz pra poder sorrir
É preciso a chuva para florir

Todo mundo ama um dia... Todo mundo
chora...
Um dia a gente chega... Um outro vai embora...
Cada um de nós compõe a sua história...
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz...
De ser feliz...

RESUMO

SCHNEIDER, Cristina F. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, fevereiro de 2015. **Viabilidade de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler em função dos locais de coleta e do armazenamento.** Orientadora: Dra. Marlene de Matos Malavasi. Coorientadores: Dr. Ubirajara Contro Malavasi e Dr. Edmar Soares de Vasconcelos.

O *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler é uma espécie nativa de relevante importância que pode ser utilizada para a regeneração de áreas devastadas, no entanto, as informações relacionadas à obtenção e conservação das sementes são escassas. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi identificar enzimas eficientes no monitoramento da deterioração e perda da capacidade germinativa de sementes de *B. riedelianum*, bem como, determinar as constantes da equação de longevidade. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Sementes da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR. Foram colhidas sementes em Diamante do Oeste, Mercedes e Missal – PR, que foram submetidas ao beneficiamento, secagem, caracterização inicial e, em seguida, ao armazenamento em embalagem hermética sob condições de armazenamento controladas e não controladas. Amostras de sementes foram avaliadas aos 0, 120, 240 e 360 dias de armazenamento. As análises foram: teste de germinação; índice de velocidade de germinação (Maguire), envelhecimento acelerado e atividade enzimática de peroxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase. O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade de erro. Para a elaboração das equações de longevidade determinou-se as constantes que compõem a equação através de curvas de regressão. O comportamento germinativo e IVG foram semelhantes para todos os locais de coleta, com queda até os 240 dias e aumento ao final do período de armazenamento. O padrão de envelhecimento das sementes foi distinto nos diferentes locais de coleta, e nas diferentes condições de armazenamento sendo observado pela atividade das enzimas. O decréscimo da viabilidade de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler foi possível ser detectado através da atividade da enzima peroxidase nos locais de coleta Diamante do Oeste e Missal e através da enzima β -1,3-glucanase para o local de coleta Missal nos períodos de 0, 120 e 240 dias de armazenamento. A determinação da longevidade das sementes não foi possível, pelo fato das sementes não terem apresentado comportamento germinativo cumulativo negativo durante o período de armazenamento.

Palavras-chave: Pau-marfim; Potencial fisiológico; Análises bioquímicas; Armazenamento; Constantes de viabilidade.

ABSTRACT

SCHNEIDER, Cristina F. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, in February 2015. **Viability of *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler seeds depending on provenance and storage.** Advisor: Dra. Marlene de Matos Malavasi. Co-Advisors: Dr. Ubirajara Contro Malavasi and Dr. Edmar Soares de Vasconcelos.

The *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler is a native species of great importance that can be used for regeneration of devastated areas, however, the information related to the collection and conservation of seeds are scarce. Thus, the objective of this study was to identify efficient enzymes in monitoring the deterioration and loss of germination of *B. riedelianum* seeds, as well as determine the constants of longevity equation. Assays were performed in the Seed Technology Laboratory of Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Campus Marechal Cândido Rondon - PR. Seeds were harvested at Diamante do Oeste, Mercedes and Missal - PR, which were submitted for processing, drying, initial characterization and then storing in airtight packaging under controlled storage conditions and uncontrolled. Seed samples were evaluated at 0, 120, 240 and 360 days of storage. The analyzes were: germination test; germination rate index (Maguire), accelerated aging and enzymatic activity of peroxidase, phenylalanine ammonia lyase and β -1,3-glucanase. The experiment was a completely randomized design. The results were subjected to regression analysis to 5% of probability. For the development of longevity equations was determined the constants that make up the equation by regression curves. The germination behavior and IVG were similar for all sampling sites, down to 240 days and increased at the end of the storage period. The aging pattern of the seeds was different in the different collection sites, being observed by the activity of enzymes. The decrease in viability of *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler can be detected through peroxidase enzyme activity in the local collection of Diamante do Oeste and Missal and through β -1,3-glucanase enzyme of the local collection Missal on 0, 120 and 240 days of storage. The determination of seed longevity was not possible, because the seeds had not presented negative cumulative germination behavior during the storage period.

Keywords: Ivory wood; Physiological potencial; Biochemical analysis; Storage; Viability constants.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Dados de temperatura máxima e mínima (°C) do ambiente não controlado de armazenamento, Marechal Cândido Rondon, PR, entre Julho de 2013 a Junho de 2014..... 10
- Figura 2 – Germinação de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para diferentes locais de coleta, durante o período de armazenamento. . 16
- Figura 3 – Índice de Velocidade de Germinação de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para diferentes locais de coleta, durante o período de armazenamento. 17
- Figura 4 – Envelhecimento acelerado de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para diferentes locais de coleta, durante o período de armazenamento..... 18
- Figura 5–Atividade de peroxidase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Diamante do Oeste, do desdobramento da interação entre diferentes ambientes de armazenamento: ambiente controlado (AC) e ambiente não controlado (ANC), durante o período de armazenamento de 360 dias. 21
- Figura 6–Atividade de peroxidase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler do local de coleta Missal, em função do período de armazenamento..... 21
- Figura 7- Atividade de fenilalanina amônia-liase de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Diamante do Oeste, em função do período de armazenamento. 22
- Figura 8–Atividade de fenilalanina amônia-liase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Missal, do desdobramento da interação entre diferentes ambientes de armazenamento: ambiente controlado (AC) e ambiente não controlado (ANC), durante o período de armazenamento de 360 dias. 23
- Figura 9 – Atividade de β -1,3-glucanase de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, dos locais de coleta Mercedes e Missal, em função do período de armazenamento..... 24

Figura 10– Dados de temperatura máxima e mínima (°C) do ambiente não controlado de armazenamento, Marechal Cândido Rondon, PR, entre Julho de 2013 a Junho de 2014.	35
Figura 11 - Curva de sobrevivência, em probit de sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, armazenadas em ambiente controlado (15 °C), apresentando grau de umidade médio de 9,2%.....	38
Figura 12 - Curvas de sobrevivência, em probit de sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, armazenadas em ambiente não controlado (25 °C), apresentando grau de umidade médio de 9,2%.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Caracterização dos frutos de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler de três locais de coleta.....	14
Tabela 2 – Resumo da análise de variância para os dados, obtidos da porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, envelhecimento acelerado, peroxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase de sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, em função de diferentes condições de armazenamento e período de armazenamento. 15	15
Tabela 3 – Atividade de peroxidase em sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, aos 0, 120, 240 e 360 dias de armazenamento em função das condições de armazenamento para os locais de coleta Diamante do Oeste e Missal.....	19
Tabela 4 – Atividade de fenilalanina amônia-liase, do local de coleta Missal, do desdobramento da interação entre diferentes condições de armazenamento e o período de armazenamento.....	23
Tabela 5 – β -1,3-glucanase em sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, do local de coleta Missal, em função das condições de armazenamento e do período de armazenamento.....	24
Tabela 6 –Valores de germinação (G), obtidos em porcentagem e em unidades de probit para as sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, das diferentes procedências para cada condição de armazenamento.....	37
Tabela 7 – Qualidade inicial estimada (K_i em <i>probit</i>) de sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> Engler (Engler), de diferentes procedências, nas diferentes condições de armazenamento (CA): controlado (15 °C) e não controlado (25 °C).	39
Tabela 8 – Coeficientes para determinar a longevidade de sementes de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler.	40

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Frutos maduros de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, colhidos em diferentes locais de coleta	44
APÊNDICE B – Secagem dos frutos de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, sobre estruturas de madeira com tela, em ambiente aberto e ventilado, na Fazenda Guar da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, <i>Campus</i> Marechal Cândido Rondon – PR.....	45
APÊNDICE C – Frutos de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler, armazenados em embalagem hermética de vidro transparente com tampa de rosca e capacidade de 500 mL, vedadas com fita adesiva, dos locais de coleta (da esquerda para direita): Missal, Mercedes, Diamante do Oeste.....	46
APÊNDICE D – Plântulas normais de <i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler.	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS.....	3
2 ISOENZIMAS NO MONITORAMENTO DA DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE	
<i>Balfourodendron riedelianum</i> (Engler) Engler.....	4
2.1 INTRODUÇÃO	5
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	8
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
2.4 CONCLUSÃO.....	25
2.5 REFERÊNCIAS.....	25
3 EQUAÇÕES DE LONGEVIDADE PARA SEMENTES DE <i>Balfourodendron</i>	
<i>riedelianum</i> (ENGLER) ENGLER	30
3.1 INTRODUÇÃO	31
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
3.4 CONCLUSÃO.....	40
3.5 REFERÊNCIAS.....	41
4 CONCLUSÕES GERAIS	43
APÊNDICES	44

1 INTRODUÇÃO GERAL

A necessidade de conservação das florestas tropicais e o fortalecimento da política ambiental promoveram um aumento de demanda nas sementes de espécies nativas, que constituem insumo básico nos programas de recuperação de conservação de ecossistemas (CARVALHO; SILVA; DAVIDE, 2006).

Os recursos naturais, no Oeste do Paraná, foram submetidos à exploração intensiva e predatória durante a sua colonização. Como resultado, inúmeras mudanças drásticas no meio ambiente foram observadas tais como: redução da composição florística, infertilidade dos solos, processo de erosão e o assoreamento de rios e de canais.

O *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, popularmente conhecido como pau-marfim, pertence à família Rutaceae. A espécie é utilizada para fabricação de móveis de luxo, produção de energia, celulose e papel, arborização em praças e parques e pode ser usado na restauração de mata ciliar, e recuperação ambiental. Segundo Carvalho (2003), a espécie apresenta sementes com comportamento ortodoxo, por tolerarem a dessecação e resistirem a períodos prolongados de armazenamento.

Essa espécie é relatada pelo Instituto Ambiental do Paraná como pertencente à flora ameaçada de extinção no Paraná (IAP, 2008), da mesma forma, o IUCN Red List of Threatened Species (IUCN, 2015) inclui a espécie na lista de espécies ameaçadas, o primeiro autor ainda acrescenta que esta é uma das principais espécies procuradas devido seu valor econômico. Esse fato reforça a importância nos esforços da conservação do *B. riedelianum*.

As sementes constituem-se no principal meio de regeneração da maioria das espécies arbóreas. Estas são vias de transferência do material genético da geração atual para a próxima. A parte do ciclo de vida da árvore, que envolve a formação, maturação, disseminação e germinação de sementes, é uma complexa cadeia de eventos ainda pobremente entendida (MARCOS FILHO, 2005).

Durante o período de armazenamento de sementes, é necessário que se mantenham condições adequadas de temperatura e umidade, na tentativa de preservar sua qualidade. Muitas vezes, a falta de conhecimento das condições ideais de armazenamento torna difícil a manutenção da qualidade fisiológica das sementes, pois o envelhecimento é um processo natural.

Variações nos perfis de proteínas e de enzimas específicas, principalmente aquelas relacionadas ao processo respiratório e à peroxidação de lipídios e remoção de radicais livres, podem constituir-se em ferramenta eficiente para monitorar as alterações bioquímicas, resultantes da deterioração das sementes (CHAUHAN; GOPINATHAN; BABU, 1985).

Vários estudos vêm sendo apresentados e discutidos sobre como a deterioração de sementes promove alterações fisiológicas e bioquímicas nas mais diversas espécies de vegetais, buscando relacioná-las com os efeitos observados naturalmente.

A utilização das equações de viabilidade para prever o período de armazenamento das sementes é uma ferramenta muito importante para a manutenção de bancos de germoplasma, bem como, para a produção de sementes. Esses modelos matemáticos, geralmente, levam em consideração a viabilidade inicial, período de armazenagem, grau de umidade e temperatura de armazenamento (SINÍCIO; BHERING; VIDIGAL, 2013). Segundo Ellis e Roberts (1980), essa estimativa da longevidade somente pode ser utilizada em sementes ortodoxas, no entanto, já existem trabalhos relatando a utilização dessas equações para prever a viabilidade de sementes recalcitrantes, como é o caso de *Myrciaria jaboticaba* (SINÍCIO, BHERING e VIDIGAL, 2013).

A propagação do *B. riedelianum* é realizada através dos frutos (CARVALHO, 2004), e sua germinação é demorada e desuniforme, tornando-se um fator limitante à produção de mudas da espécie. Portanto, a identificação da atividade de certas enzimas, envolvidas nos processos fisiológicos das sementes pode ajudar a elucidar as causas desse problema, e em adição, a previsão da longevidade das sementes pode auxiliar na tomada de decisões quanto à conservação e manutenção do banco de germoplasma da espécie.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo estudar o comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, através da identificação de enzimas eficientes no monitoramento da deterioração e perda da capacidade germinativa das sementes, provenientes de diferentes locais de coleta e, submetidas ao armazenamento, bem como, estimar a sua longevidade, através da utilização das equações de longevidade.

REFERÊNCIAS

Americas Regional Workshop (Conservation & Sustainable Management of Trees, Costa Rica). *Balfourodendron riedelianum* in **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2015.2. IUCN Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em 06 de Julho de 2015.

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, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.

CARVALHO, P.E.R. **Pau-Marfim – *Balfourodendron riedelianum***. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 11 p. (Circular técnica, 93)

CHAUHAN, K.P.S.; GOPINATHAN, M.C.; BABU, C.R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, v. 13, p. 629-641, 1985.

ELLIS, R.H.; ROBERTS, E.H. Improved equations for the prediction of seed longevity. **Annals of Botany**, Oxford, v. 45, p. 13-30, 1980.

IAP, Instituto Ambiental do Paraná. **Lista oficial de espécies da flora ameaçada de extinção do Paraná**. 2008. 2p. Disponível em: <www.iap.pr.gov.br>. Acesso em: 06 de Junho de 2015.

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

SINÍCIO, R.; BHERING, M.C.; VIDIGAL, D.S. Equação de longevidade para sementes de jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg). **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 21, n. 4, p. 323-333, 2013.

2 ISOENZIMAS NO MONITORAMENTO DA DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler

RESUMO

Neste trabalho buscou-se identificar enzimas eficientes no monitoramento da deterioração e perda da capacidade germinativa de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Tecnologia de Sementes e Mudanças da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon – PR. As sementes foram colhidas em três locais de coleta, em seguida, submetidas ao beneficiamento, secagem, caracterização inicial e armazenamento em embalagem hermética sob condições de armazenamento controladas e não controladas. Foram realizados testes nos períodos de 0, 120, 240 e 360 dias de armazenamento, sendo determinado: porcentagem de plântulas normais no teste de germinação; índice de velocidade de germinação (Maguire); envelhecimento acelerado; e atividade das enzimas peroxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase. O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos à análise de regressão a 5% de probabilidade de erro. Tanto a germinação quanto o IVG apresentaram comportamento semelhante entre os locais de coleta, sendo que houve decréscimo até os 240 dias e pequeno aumento ao final do período de armazenamento. O envelhecimento foi distinto entre os locais de coleta, assim como entre as diferentes condições de armazenamento, sendo que o mesmo pode ser observado na atividade das enzimas avaliadas. Através da atividade da enzima peroxidase nos locais de coleta Diamante do Oeste e Missal e da enzima β -1,3-glucanase para o local de coleta Missal, nos períodos de armazenamento de 0, 120 e 240 dias foi possível ser detectado o decréscimo da viabilidade de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler.

Palavras-chave: Pau marfim, Deterioração, Qualidade fisiológica, Atividade enzimática.

ISOENZYMES IN MONITORING DETERIORATION OF *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler SEEDS

ABSTRACT

In this study we sought to identify efficient enzymes in monitoring the deterioration and loss of germination of *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler seeds. The research was conducted at the Laboratório de Tecnologia de Sementes e Mudanças of the Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* Marechal Cândido Rondon - PR. Seeds were harvested at three collection sites, then submitted for processing, drying, initial characterization and storage in airtight packaging under controlled storage conditions and uncontrolled. Tests were conducted during periods of 0, 120, 240 and 360 days, using the germination test; germination rate index (Maguire), accelerated; and activity of peroxidase, phenylalanine ammonia lyase and β -1,3-glucanase. The experiment was a completely randomized design. The results were subjected to regression analysis to 5% of probability. Both germination and IVG showed similar behavior among sampling sites, and there was a decrease to 240 days and a small increase at the end of storage period. Aging was different among sampling sites, as among different storage conditions, and the same can be observed in the activity of enzymes evaluated. Through the activity of peroxidase enzymes of Diamante do Oeste and Missal and β -1,3-glucanase enzyme of Missal on the storage periods of 0, 120 and 240 days was possible being detected the decrease in viability seeds of *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler.

Key-words: Ivory wood, Deterioration, Physiological quality, Enzymatic activity.

2.1 INTRODUÇÃO

O *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler pertence à família Rutaceae. Popularmente conhecido como pau-marfim, guatambu, pequiá-mamona, pequiá-mamão, farinha-seca, marfim, gramixinga, pau-liso, pau-cetim, guataia, guarataia e guamuxinga (LORENZI, 2008). É encontrada, principalmente, na Floresta Estacional Semidecidual, na formação Submontana, onde ocupa o estrato superior e na Floresta Estacional Decidual (CARVALHO, 2004).

O fruto do *B. riedelianum* é classificado por Lorenzi (2008), como tri a tetralada, e por Silva (2001) e Carvalho (2004), como sâmara, indeiscente, lenhoso, seco, com dois ou mais lóculos, apresentando apêndices sob a forma de alas, verde quando imaturo e amarelo a acinzentado quando maduro.

As sementes são elipsóides, pretas, anátropas, endotestais com tégmem reduzido, exariladas e albuminosas, sendo que o endosperma possui reserva lipoprotéica (SILVA; PAOLI, 2006). As sementes medem até 9 mm de comprimento e são encontradas 1 a 4 sementes por fruto ou por aborto, podendo apresentar lóculos vazios (CARVALHO, 2004).

Sementes de *B. riedelianum* são classificadas como sendo de comportamento ortodoxo em relação ao armazenamento (CARVALHO, 2003), ou seja, apresentam maior tolerância à dessecação, resistindo ao armazenamento por período prolongado.

O armazenamento de sementes de espécies florestais é uma prática que visa controlar a velocidade de deterioração, já que o mesmo não pode ser evitado. Contudo, as sementes podem ser mantidas com o mínimo de deterioração possível, através de armazenamento adequado (VIEIRA et al., 2005).

Segundo Bewley et al. (2013), dentre os fatores que influenciam a longevidade das sementes, os mais importantes são o grau de umidade da semente e a temperatura durante o armazenamento. Quando esses fatores não são ideais, inicia-se e/ou acelera-se o processo deteriorativo das sementes.

A deterioração é um processo contínuo e irreversível que determina o decréscimo do vigor e viabilidade das sementes (MARCOS FILHO, 2005). Segundo Demirkaya, Dietz e Sivritepe (2010), vários fatores contribuem para a deterioração das sementes, dentre eles pode-se citar fatores genéticos, danos mecânicos, umidade relativa e temperatura de armazenamento, grau de umidade da semente, presença de microrganismos, maturidade da semente, dentre outros.

Muitas manifestações fisiológicas e bioquímicas em sementes deterioradas têm sido amplamente reportadas (MCDONALD, 1999; MARCOS FILHO, 2005; BEWLEY et al., 2013; SHABAN, 2013). As manifestações mais evidentes são as fisiológicas, sendo observadas, durante a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas. Contudo, muito antes da identificação dessas manifestações, várias outras, de caráter ultraestrutural e bioquímico, já devem ter ocorrido (MARCOS FILHO, 2005). Essas alterações estão relacionadas ao sistema de membranas

(SHABAN, 2013) e com as atividades respiratória e enzimática (BEWLEY et al., 2013).

O principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros, relacionados à deterioração das sementes, que precedam a perda da capacidade germinativa. Dentro desta ideia, destaca-se a técnica da eletroforese e espectrofotometria de proteínas e isoenzimas, que pode possibilitar a detecção dos estádios iniciais da deterioração, através da atividade de enzimas, associadas com a degradação e oxidação de substâncias de reserva bem como biossíntese de novas substâncias (SPINOLA; CÍCERO; MELO, 2000). Dentre as alterações enzimáticas mais frequentes, encontradas durante o processo de deterioração, destacam-se a peroxidação de lipídeos, remoção de radicais livres e metabolismo respiratório da semente.

Danos celulares, causados pela peroxidação de lipídeos, podem ser reduzidos ou prevenidos por mecanismos protetores, entre os quais os provenientes das ações de enzimas removedoras de radicais livres e de peróxidos, como a peroxidase (MENEZES et al, 2008). As peroxidases são responsáveis pela maioria das reações de oxiredução, estimuladas pelas variações ambientais, injúrias e reações infecciosas (KUHN, 2007). O aumento da atividade dessa enzima indica a evolução da deterioração, devido à necessidade de atuação mais intensa da enzima participante do complexo antioxidante (MARCOS FILHO, 2005).

A fenilalanina amônia-liase (FAL) é uma enzima largamente estudada por fisiologistas devido a sua importância no metabolismo secundário das plantas (KUHN, 2007). Sua função é catalisar a eliminação não oxidativa da amônia da L-fenilalanina, transformando-a em ácido *trans*-cinâmico, o qual é o primeiro produto formado na rota biossintética dos fenilpropanóides em plantas superiores (RITTER; SCHULZ, 2004; TAIZ; ZEIGER, 2009).

Os fenilpropanóides contribuem para todos os aspectos das respostas das plantas a fatores bióticos e abióticos (VOGT, 2010). Com isso, a FAL, além de ser importante no desenvolvimento normal da planta, é também uma enzima chave indicadora de estresse na planta (RITTER; SCHULZ, 2004), sendo que, a atividade da FAL aumenta em resposta aos estresses, aumentando a síntese dos protetores (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

As β -1,3-glucanases são enzimas que hidrolisam polímeros de β -1,3-glucana, e estão amplamente distribuídas nas plantas superiores (KUHN, 2007). Essa enzima

é acumulada em plantas após contato com patógenos, tratamento com elicitores, hormônios e outros fatores físicos ou químicos (MARTINS, 2008). Contudo, essa enzima também possui importante papel em plantas não infectadas por patógenos, atuando na divisão celular, germinação do grão de pólen, crescimento do tubo polínico, germinação de sementes, dentre outros (LEUBNER-METZGER; MEINS, 1999).

Os trabalhos que apresentam a relação entre a β -1,3-glucanase e a germinação de sementes demonstram que existe uma particularidade entre cada espécie, com relação a sua atividade e função, podendo ter atividade antes ou depois da protrusão radicular, e em diferentes partes da semente (MOROHASHI; MATSUSHIMA, 2000), e em adição, existe uma forte relação entre essa enzima e sementes dormentes, já que sua atividade é diminuída em sementes que se encontram com algum tipo de dormência (FINCH-SAVAGE; LEUBNER-METZGER, 2006; FARASHAH et al., 2011).

Assim, o objetivo deste trabalho foi identificar enzimas indicadoras da deterioração e perda da capacidade germinativa de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e Mudas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon, PR.

Os frutos de *B. riedelianum* (RNC: 23531) foram colhidos manualmente com auxílio de podão, durante o mês de junho de 2013, de 4 matrizes, de cada local de coleta, previamente marcadas dentro do convênio UNIOESTE/ITAIPU BINACIONAL, sendo estas, localizadas na Bacia do Paraná III, em fragmentos florestais.

Foram empregados três lotes de frutos maduros (coloração marrom) de pau marfim, colhidos nas regiões de Diamante do Oeste, Mercedes e Missal, no estado do Paraná.

O clima da região abrangendo todas as localidades de coleta, segundo classificação de Köppen, é o Subtropical Úmido Mesotérmico (Cfa), com verões quentes, temperatura média superior a 22 °C, com tendência à concentração de chuvas, invernos com geadas pouco frequentes, com temperatura média inferior a

18 °C, contudo, sem estação seca definida. Nos locais de coleta predominam solos do tipo Latossolo Vermelho Eutrófico, argiloso, profundo e de boa drenagem (EMBRAPA, 2013).

A região de Diamante do Oeste está à uma altitude média de 266 m com coordenadas geográficas 24°57'532" latitude sul e 54°09'556" longitude oeste. A região de Mercedes com coordenadas geográficas de 24°24'503" S e 54°07'896" O e altitude de 281 m, e a região de Missal com coordenadas geográficas de 25°01'661" S e 54°12'411" O e altitude de 358 m.

Logo após a colheita, os frutos foram submetidos à secagem, para tanto, foram mantidos sobre estruturas de madeira com tela, em ambiente aberto e ventilado, na Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), *Campus* Marechal Cândido Rondon – PR. A secagem dos frutos estendeu-se pelo período de 12 dias, até atingirem grau de umidade (B.U.) de 9%, ideal para o armazenamento hermético.

Após a secagem, foi realizado beneficiamento manual, objetivando a retirada de alas. Para tanto, os frutos foram acondicionados dentro de um saco de polipropileno, que foi submetido a força mecânica com auxílio de um pedaço de madeira. Feito isso, os frutos foram retirados e friccionados sobre uma peneira de metal para a retirada completa das alas. Em seguida, parte dos frutos foi utilizada para as avaliações prévias, e outra parte foi armazenada.

Os frutos foram armazenados em embalagem hermética de vidro transparente com tampa de rosca e capacidade de 500 mL, vedadas com fita adesiva. Cada embalagem continha 175 frutos, usando-se, para cada período de avaliação, duas embalagens por tratamento, por conter a quantidade de frutos necessários para os testes.

As embalagens, contendo os frutos, foram armazenadas em dois ambientes: controlado e não controlado. A condição controlada possuía ar condicionado e desumidificador para controle das condições ambientais e estas variaram entre 13 e 17 °C de temperatura, monitoradas por termo-higrômetro, modelo Gehaka. No ambiente não controlado, as embalagens contendo os frutos eram mantidas sobre uma estante em uma sala arejada, e a temperatura variou conforme apresentado na Figura 1, sendo que foi monitorada por termo-higrômetro, modelo Incoterm.

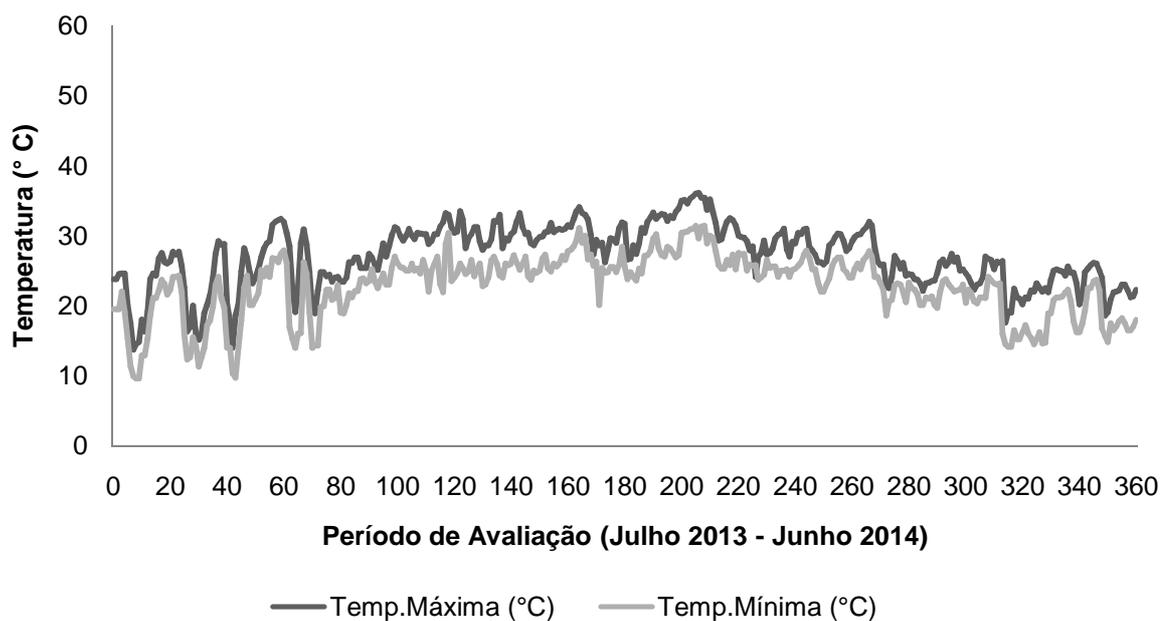


Figura 1 – Dados de temperatura máxima e mínima (°C) do ambiente não controlado de armazenamento, Marechal Cândido Rondon, PR, entre Julho de 2013 a Junho de 2014.

Os testes laboratoriais foram realizados aos 0, 120, 240 e 360 dias, após o beneficiamento dos frutos, caracterizando os períodos de armazenamento. Os parâmetros avaliados foram: grau de umidade, massa seca de sementes, tamanho de sementes, germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), envelhecimento acelerado e atividade de peroxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase.

O pau marfim apresenta fruto do tipo sâmara (CARVALHO, 2004). A extração da semente do fruto é muito difícil. Portanto, o fruto foi utilizado como unidade de reprodução. Todas as análises, realizadas nesta pesquisa, exceto na determinação de enzimas, foram realizadas com o fruto. Para facilitar o entendimento, neste trabalho, será utilizada a denominação semente para o fruto.

O grau de umidade foi determinado através de método de estufa, pelo método gravimétrico após as sementes serem submetidas à secagem com temperatura de 105 ± 2 °C por 24 h (BRASIL, 2009), foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem na base úmida.

A massa seca de sementes foi determinada simultaneamente ao grau de umidade, sendo utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, e os resultados foram expressos em gramas.

Com auxílio de paquímetro digital, foi mensurado o diâmetro e comprimento

dos frutos de pau marfim, utilizando-se amostra composta por 4 repetições de 25 frutos. Considerou-se o comprimento como a medida da parte distal do fruto, compreendida entre as extremidades, e o diâmetro a média entre duas medidas transversais ao comprimento. Os resultados foram expressos em milímetros.

O teste de germinação foi conduzido com 25 sementes para cada repetição, em rolo de papel germitest umedecido com água na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato (BRASIL, 2009). Os rolos de papel foram mantidos em câmara de germinação (BOD) em temperatura alternada de 20-30 °C com fotoperíodo de 8 h de luz, associada à temperatura mais alta, e 16 h de escuro (IGNÁCIO, 2013). As contagens foram realizadas diariamente para a avaliação de sementes germinadas pelo período de 90 dias. Considerou-se semente germinada a plântula que emitiu os cotilédones e apresentou sistema radicular desenvolvido (SILVA, 2001; IGNÁCIO, 2013). Em cada fruto pode-se encontrar mais de uma plântula, mas computou-se apenas a primeira. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi obtido simultaneamente ao teste de germinação, seguindo metodologia descrita por Maguire (1962), conforme Equação 1, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento.

$$IVG = \sum P_i / D_i \quad \text{Equação (1)}$$

Em que:

IVG = índice de velocidade de germinação;

P_i = número de sementes germinadas no i -ésimo dia de contagem;

D_i = número de dias em que as sementes levaram para germinar no i -ésimo dia de contagem.

No teste de envelhecimento acelerado, foi adotada a metodologia descrita por Marcos Filho (1999), utilizando-se 25 sementes por repetição dos tratamentos. As sementes foram distribuídas em camada única, sobre tela de plástico, fixada no interior de uma caixa de plástico tipo gerbox, com dimensões de 11,0 x 11,0 x 3,5cm, contendo 40 mL de água. As caixas tampadas foram mantidas em BOD a 41 °C por 48 h. Após este período, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, nas mesmas condições dos citados acima, com avaliação diária pelo

período de 90 dias, computando-se a porcentagem de plântulas normais.

Para as análises bioquímicas, utilizou-se três repetições. Fez-se inicialmente o preparo enzimático, para tanto, as amostras foram compostas por 0,1 g de sementes de pau marfim, que foram homogeneizadas em 4mL de tampão fosfato de sódio $0,01 \text{ MoL L}^{-1}$ (pH 6,0) (tampão extração) em almofariz de porcelana previamente resfriado. O homogeneizado foi centrifugado a 20.000 g durante 20 min. O sobrenadante obtido, considerado como a fração contendo as proteínas solúveis, sendo armazenado a 4°C (LUSSO; PASCHOLATI, 1999) para as posteriores determinações de peroxidase, proteínas totais, fenilalanina amônia-liase e β -1,3 glucanase.

A atividade da peroxidase foi determinada a 30°C, através de método espectrofotométrico direto, pela medida do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO; PASCHOLATI, 1999). A mistura da reação era composta de 0,10 mL do extrato protéico e 2,9 mL de solução com 250 μL de guaiacol e 306 μL de peróxido de hidrogênio em 100 mL de tampão fosfato $0,01 \text{ MoL L}^{-1}$ (pH 6,0). A cubeta de referência continha 3mL da solução com 250 μL de guaiacol e 306 μL de peróxido de hidrogênio em 100 mL de tampão fosfato $0,01 \text{ MoL L}^{-1}$ (pH 6,0). A atividade da peroxidase foi expressa como atividade específica (unidades de absorbância $\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$ de semente).

A atividade da fenilalanina amônia-liase foi determinada pela quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico, liberado do substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). A mistura da reação, incubada a 40 °C por 2 h, apresentava 100 μl do extratoprotéico, 400 μl do tampão Tris HCl 25 mMoL L^{-1} , (pH 8,8) e 500 μl de L-fenilalanina (50 mM em tampão Tris HCl 25 mMoL L^{-1} , pH 8,8). A absorbância das amostras foi determinada a 290 nm, contra tampão de extração, sendo subtraído de cada amostra o valor do controle (esse controle corresponde a mistura 100 μl do extrato protéico e 900 μl de tampão Tris HCl 25 mMoL L^{-1} , pH 8,8). As leituras de absorbância foram plotadas em curva padrão para o ácido trans-cinâmico e a atividade enzimática expressa em μg de ácido trans-cinâmico $\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$ de semente.

Para a determinação espectrofotométrica da atividade de β -1,3-glucanase, foi utilizado como substrato uma solução de carboximetilcurdlan-remazol brilhante azul (CM-Curdlan-RBB $4,0 \text{ mg mL}^{-1}$, LoeweBiochemiaGmbH), de acordo com metodologia desenvolvida por Wirth e Wolf (1992) e com procedimento descrito por Guzzo e Martins (1996). Para tanto, 200 μL do extrato protéico foi misturado com

600 μL do mesmo tampão de extração e 200 μL de CM-Curdlan-RBB (4,0 mg mL^{-1}). Após incubação por 20 min a 40 $^{\circ}\text{C}$, a reação foi paralisada com a adição de 200 μL de solução de HCl 1 MoL L^{-1} , seguida de resfriamento em gelo por 10 min e centrifugação a 10.000 g por 5 min. A absorbância a 600 nm do sobrenadante foi determinada tendo-se tampão de extração na cubeta de referência. Os resultados foram expressos em unidades de absorbância $\text{min}^{-1}\text{g}^{-1}$ de proteína, descontando-se os valores de absorbância do controle (800 μL de tampão de extração + 200 μL de “CM-Curdlan-RBB”).

O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4x2 (4 períodos de armazenamento e 2 ambientes de armazenamento), com quatro repetições, exceto para a atividade enzimática, em que foram utilizadas três repetições. Os locais de coleta foram avaliados isoladamente.

Os resultados, obtidos, foram submetidos ao teste de Lilliefors e qui-quadrado para verificar a normalidade da distribuição dos resíduos, seguida de análise de variância. Quando da existência de significância pelo teste F, os dados foram desdobrados pela análise de regressão polinomial a 5% de probabilidade, com o auxílio do software Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2011).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na caracterização dos frutos (Tabela 1), é possível observar que a média do comprimento dos frutos variou de 14,61 a 16,42 mm, e o diâmetro variou de 11,80 a 14,64 mm. Silva e Paoli (2006) e Ignácio (2013), obtiveram comprimento dos frutos de pau marfim de 20 a 26 mm, sendo superiores aos resultados, obtidos no presente trabalho. Essa variação pode ocorrer devido à interferência de fatores ambientais nas matrizes, influenciando na formação de frutos com diferentes tamanhos.

O local de coleta Missal apresentou médias superiores de comprimento e massa de frutos, Mercedes foi superior no diâmetro, ao passo que, Diamante do Oeste foi inferior em todas as variáveis. A massa seca é proporcional ao tamanho dos frutos, sendo que, esse fato pode ser claramente visualizado no local de coleta Missal.

O grau de umidade variou pouco entre os diferentes locais de coleta (9,20 a 9,68%) (Tabela 1), desta forma, os dados estão de acordo com Marcos Filho (2005),

do qual afirma que sementes armazenadas em embalagem impermeável devem estar com grau de umidade inferior a 10%. Os dados também ilustram que os diferentes locais de coleta foram submetidos a condições semelhantes durante o período de armazenamento. Segundo Marcos Filho (2005), a secagem pós colheita das sementes tem como objetivo reduzir o grau de umidade das sementes até níveis seguros, sendo esse processo de extrema importância, pois quando bem conduzido tende a desacelerar o metabolismo destrutivo sem promover distúrbios às sementes.

Tabela 1 – Caracterização dos frutos de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler de três locais de coleta.

Local de Coleta	Comprimento (mm)	Diâmetro (mm)	Massa Seca (g)	Grau de Umidade (%)
Diamante do Oeste	14,61 ± 1,20*	11,80 ± 1,01	0,1808 ± 0.01	9,20 ± 0,08
Mercedes	15,56 ± 1,54	14,64 ± 1,23	0,2698 ± 0.02	9,64 ± 0,09
Missal	16,42 ± 1,74	13,67 ± 1,43	0,2962 ± 0.01	9,68 ± 0,23

*Desvio Padrão

O período de armazenamento interferiu em todos os atributos avaliados, sendo que apenas em alguns locais de coleta não houve significância. As condições de armazenamento apresentaram significância apenas para o local de coleta Missal nos atributos peroxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase. A interação foi significativa para os locais de coleta Diamante do Oeste no parâmetro peroxidase e para Missal na variável fenilalanina amônia-liase (Tabela 2).

Tabela 2 – Resumo da análise de variância para os dados, obtidos da porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, envelhecimento acelerado, peroxidase, fenilalanina amônia-liase e β -1,3-glucanase de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, em função de diferentes condições de armazenamento e período de armazenamento.

Causas de Variação	GL	Diamante do Oeste		Mercedes		Missal	
		Porcentagem de Germinação					
		QM	P _{valor}	QM	P _{valor}	QM	P _{valor}
PA	3	805,83	0,0070	288,00	0,0143	748,00	0,0009
CA	1	0,50	0,9555	32,00	0,4951	162,00	0,2108
PA x CA	3	92,50	0,6284	32,00	0,6992	22,00	0,8785
Resíduo	24	157,17		66,67		98,00	
C.V. (%)		39,96		32,66		31,43	
Índice de Velocidade de Germinação							
PA	3	0,0524	0,0005	0,0156	0,0038	0,0266	0,0047
CA	1	0,0009	0,6974	0,0043	0,2151	0,0084	0,1962
PA x CA	3	0,0040	0,5883	0,0013	0,6911	0,0009	0,8927
Resíduo	24	0,0061		0,0027		0,0048	
C.V. (%)		39,52		34,41		32,83	
Envelhecimento Acelerado							
PA	3	664,5000	0,0073	56,5000	0,4826	1314,0000	0,0000
CA	1	312,5000	0,1353	40,5000	0,4439	98,0000	0,2461
PA x CA	3	56,6000	0,7321	8,5000	0,9432	12,6667	0,9072
Resíduo	24	130,8333		66,8333		69,3333	
C.V. (%)		35,61		29,07		26,65	
Peroxidase							
PA	3	5,3043	0,0000	4,7293	0,0730	5,4916	0,0000
CA	1	0,06673	0,6225	2,7169	0,2223	3,7181	0,0013
PA x CA	3	1,8808	0,0030	0,3073	0,9069	0,6721	0,0795
Resíduo	16	0,2648		1,6847		0,2478	
C.V. (%)		19,69		78,44		20,00	
Fenilalanina amônia-liase							
PA	3	4,9577	0,0000	0,8541	0,0792	3,0395	0,0000
CA	1	0,0430	0,9012	0,4592	0,2442	0,9779	0,0183
PA x CA	3	0,0050	0,9966	0,1531	0,6961	0,9779	0,0034
Resíduo	16	0,2706		0,3144		0,1417	
C.V. (%)		38,64		106,76		66,07	
β -1,3-glucanase							
PA	3	8,1938	0,6725	164,5704	0,0046	145,0946	0,0000
CA	1	0,0170	0,9741	60,4199	0,1437	39,8190	0,0041
PA x CA	3	20,1841	0,3122	11,1503	0,7301	4,9621	0,2791
Resíduo	16	15,6620		25,5592		3,5440	
C.V. (%)		60,46		58,91		28,84	

Em que: (PA) porcentagem de germinação; (CA) condições de armazenamento.

A porcentagem de germinação de sementes de pau marfim apresentou significância ($P \leq 0,05$) para os três locais de coleta na variável período de armazenamento (Figura 2). A porcentagem declinou até os 240 dias de armazenamento sendo este o ponto mínimo, e aumentou aos 360 dias, sendo que,

nesse período, a germinação não diferiu estatisticamente do período 0, apresentando comportamento quadrático para todos os locais de coleta.

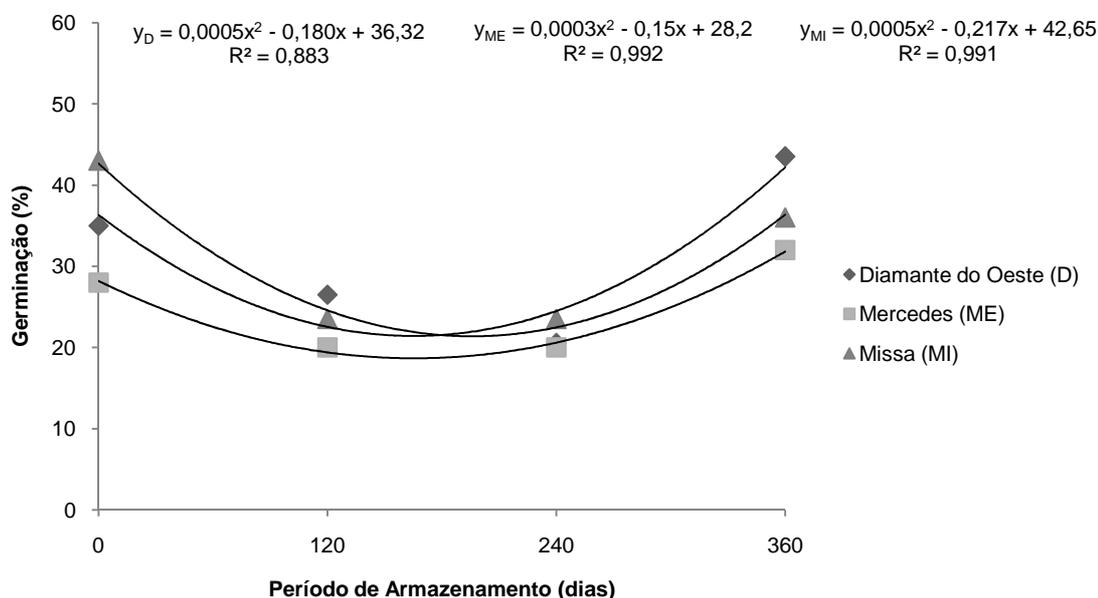


Figura 2 – Germinação de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para diferentes locais de coleta, durante o período de armazenamento.

Ignácio (2013), trabalhando com *B. riedelianum*, obteve comportamento semelhante, utilizando a temperatura alternada de germinação de 20-30 °C. Porém, ao empregar temperatura constante de 25 °C, a germinação permaneceu a mesma durante todo o período de armazenamento.

Corroborando com os resultados, obtidos neste trabalho, Pinto Junior et al., (2012) e Zonta et al. (2014), verificaram que a germinação de sementes de *Jatropha curcas* não sofreram influencia dos ambientes controlado e não controlado, durante o armazenamento, em embalagem impermeável.

O índice de velocidade de germinação (IVG) foi significativo ($P \leq 0,05$) para as três procedências na variável período de armazenamento (Figura 3), seguindo comportamento semelhante ao da porcentagem de germinação.

O período em que houve melhor expressão de vigor para as procedências Mercedes e Missal pode ser observado aos 0 e 360 dias de armazenamento. Já para Diamante do Oeste, aos 360 dias o vigor das sementes foi superior que dos demais períodos.

Resultado semelhante foi apresentado por Ignácio (2013), em uma das três procedências de *B. riedelianum* pesquisadas, em que nos períodos 0 e 360 dias de

armazenamento o IVG foi superior aos períodos intermediários avaliados.

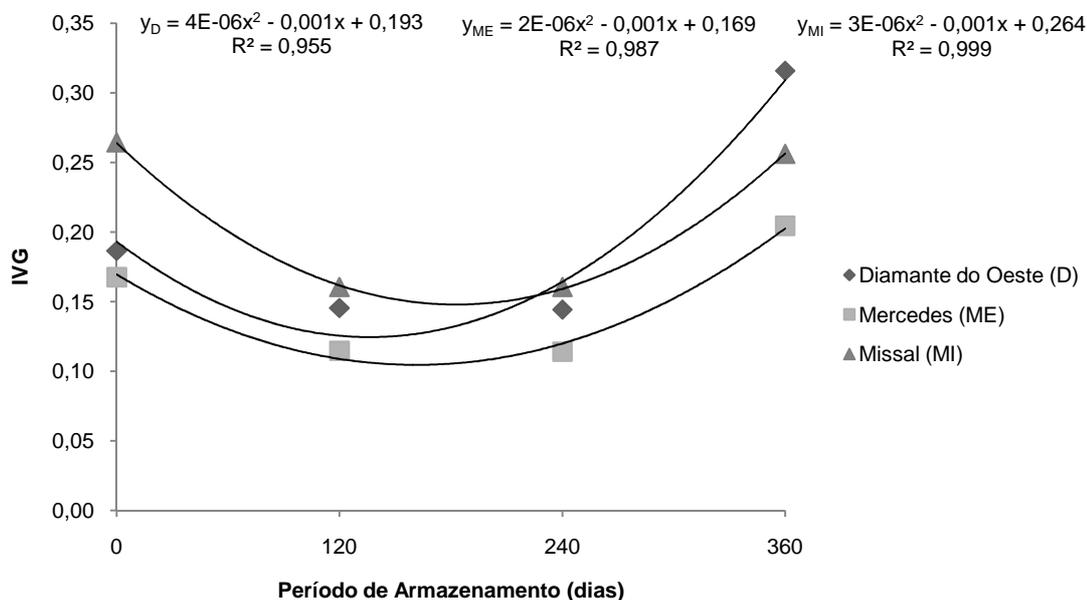


Figura 3 – Índice de Velocidade de Germinação de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para diferentes locais de coleta, durante o período de armazenamento.

Segundo Silva (2001), o pericarpo do fruto maduro de *B. riedelianum* apresenta o endocarpo constituído por várias fileiras de fibras, paralelamente orientadas em relação ao eixo do fruto. No mesocarpo, as células parenquimáticas das camadas subepidérmicas, apresentam forma mais alongada e paredes mais espessas, e no exocarpo as células epidérmicas possuem parede e cutícula espessas. Não existem relatos relacionados à germinação com a constituição do fruto, semelhante à espécie estudada nesse trabalho. Muito provável que o comportamento semelhante, observado para os três locais de coleta na germinação e IVG, estejam relacionados com alguma característica do fruto, seja ela de retenção de umidade ou de indução de algum impedimento químico, já que o armazenamento foi hermético e não houve trocas com o meio exterior.

Em adição, é possível que a alta porcentagem de germinação e o alto IVG do período inicial (0 dias) em relação ao período de 120 e 240 dias de armazenamento seja em decorrência do beneficiamento dos frutos ter proporcionado a síntese de etileno, já que, sua síntese é induzida por tensões mecânicas, tais como flexão, fricção ou agitação (GOESCHL; RAPPAPORT; PRATT, 1966; ABELES; MORGAN; SALTVEIT, 1992). Fato semelhante foi retratado por Uchida e Yamamoto (2002), trabalhando com sementes de *Arabidopsis thaliana* que apresentaram maiores taxas

de germinação após serem submetidas a vibrações mecânicas.

O teste de envelhecimento acelerado proporcionou a identificação de maiores diferenças entre os locais de coleta quanto à resistência ao estresse, imposta pelas condições extremas de umidade e temperatura. Para Diamante do Oeste e Missal houve significância no período de armazenamento. Já para Mercedes, as condições de temperatura e umidade impostas não foram suficientes para identificar diferenças no vigor das sementes ($P \geq 0,05$).

Com o aumento do período de armazenamento, houve incremento linear da porcentagem de germinação das sementes de Diamante do Oeste, submetidas ao envelhecimento acelerado, com o ponto mínimo de 24% em 0 dias e ponto máximo de 45% em 360 dias. Em contrapartida, as sementes, do local de coleta Missal, iniciaram com alto desempenho (50%), sendo que ao longo do período de armazenamento o teste identificou queda do vigor, atingindo o mínimo de 23 % de germinação aos 240 dias. A equação que explica esses resultados teve ajuste linear e polinomial quadrático para Diamante do Oeste e Missal, respectivamente.

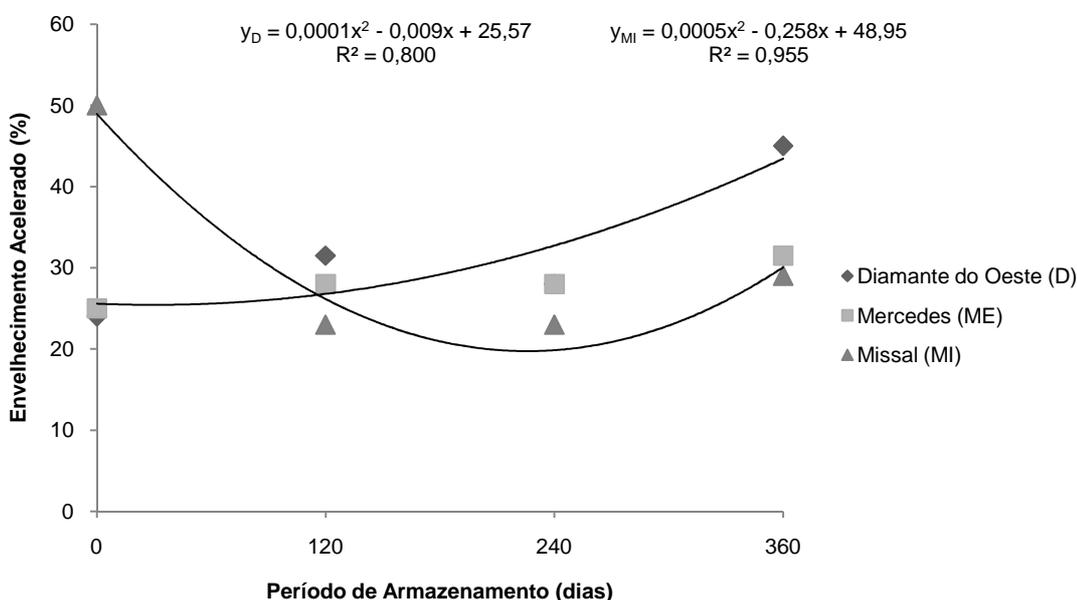


Figura 4 – Envelhecimento acelerado de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler para diferentes locais de coleta, durante o período de armazenamento.

A literatura retrata vários trabalhos que assim como na presente pesquisa, identificaram diferenças entre procedências, através do teste de envelhecimento acelerado, tais como, em aroeira (ARAÚJO et al., 2013), *Corymbia citriodora* (GONZALES; VALERI; PAULA, 2011), *Sebastiania commersoniana* (SANTOS;

PAULA, 2009) e cedro (CHEROBINI; MUNIZ; BLUME, 2008).

Esses resultados podem ser explicados pelas diferenças morfológicas e fisiológicas entre sementes, coletadas em diferentes locais. Tal fato, pode ser claramente observado anteriormente na caracterização dos frutos e no teste de envelhecimento acelerado. Essas variações fenotípicas podem ocorrer devido a propriedades genéticas da população, como pela influência do meio ambiente na expressão de seus genótipos (MORAES et al., 2011; FUZETO; LOMÔNACO, 2000).

A atividade da enzima peroxidase apresentou interação significativa entre o período de armazenamento e as diferentes condições de armazenamento para o local de coleta Diamante do Oeste. Houve menor atividade da peroxidase na condição controlada de armazenamento aos 120 dias em relação aos demais períodos. Já aos 360 dias, a atividade foi menor na condição não controlada, em relação aos demais períodos (Tabela 3).

Tabela 3 – Atividade de Peroxidase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, aos 0, 120, 240 e 360 dias de armazenamento em função das condições de armazenamento para os locais de coleta Diamante do Oeste e Missal.

Diamante do Oeste					
CA	Período de Armazenamento				Média
	0	120	240	360	
AC	0,3844a	0,0829b	0,2734a	0,2837a	0,2561
ANC	0,3844a	0,2401a	0,2742a	0,1680b	0,2667
Missal					
CA	Período de Armazenamento				Média
	0	120	240	360	
AC	0,1291	0,2137	0,2137	0,2815	0,2095b
ANC	0,1291	0,2893	0,2893	0,4452	0,2882a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

CA: Condições Ambientais; AC: ambiente controlado; ANC: ambiente não controlado

O desdobramento da interação pode ser observado na Figura 5, em que, para ambiente de armazenamento controlado houve ajuste quadrático e ambiente não controlado o ajuste foi linear, sendo que, para o ambiente controlado a menor atividade pode ser constatada aos 120 dias. No entanto, para o ambiente não controlado houve decréscimo da atividade, ao longo do período de armazenamento, com menor atividade aos 360 dias.

Para o local de coleta Missal, ocorreu significância nas variáveis período de armazenamento e condições de armazenamento. O ambiente não controlado proporcionou maior atividade da peroxidase (Tabela 3). Durante o período de armazenamento (Figura 6) foi possível observar pelo ajuste linear que ocorreu

aumento da atividade da enzima, ao longo do período, com maior atividade aos 360 dias.

As sementes de Diamante do Oeste, armazenadas em ambiente não controlado, apresentaram grau de deterioração mais avançado, em comparação ao ambiente controlado, haja vista que a atividade da peroxidase foi reduzida. Shaban (2013), explica que a medida em que ocorre o progresso da deterioração além da germinação, a atividade enzimática também é diminuída. Contudo, na procedência Missal, a atividade da peroxidase foi maior, demonstrando que as sementes ainda não se encontravam em um grau de deterioração tão avançado quanto o de Diamante do Oeste. Apesar da porcentagem de germinação dessas procedências ter aumentado, ao final do período de armazenamento, e a atividade de peroxidase ter apresentado diferentes comportamentos entre os locais de coleta, isso talvez deve-se às variações genéticas dentro de uma mesma espécie, que podem estar relacionadas com a sua distribuição geográfica, ou seja, sofrem influência das variações ambientais de cada local (BIERNASKI; HIGA; SILVA, 2012).

Atividade de peroxidase foi descrita por Martins, Nakagawa e Ramos (2011), que verificaram que a atividade dessa enzima foi a única dentre as estudadas que demonstrou ser eficiente no monitoramento da deterioração de sementes de *Euterpe espirosantensis* Fernandes. Porém, em sementes de *Mimusops elengia* L. atividade de peroxidase e demais enzimas removedoras de radicais livres, não foram suficientes para prevenir a peroxidação de lipídeos das membranas, causada pela extrema perda de água (TANG, 2012).

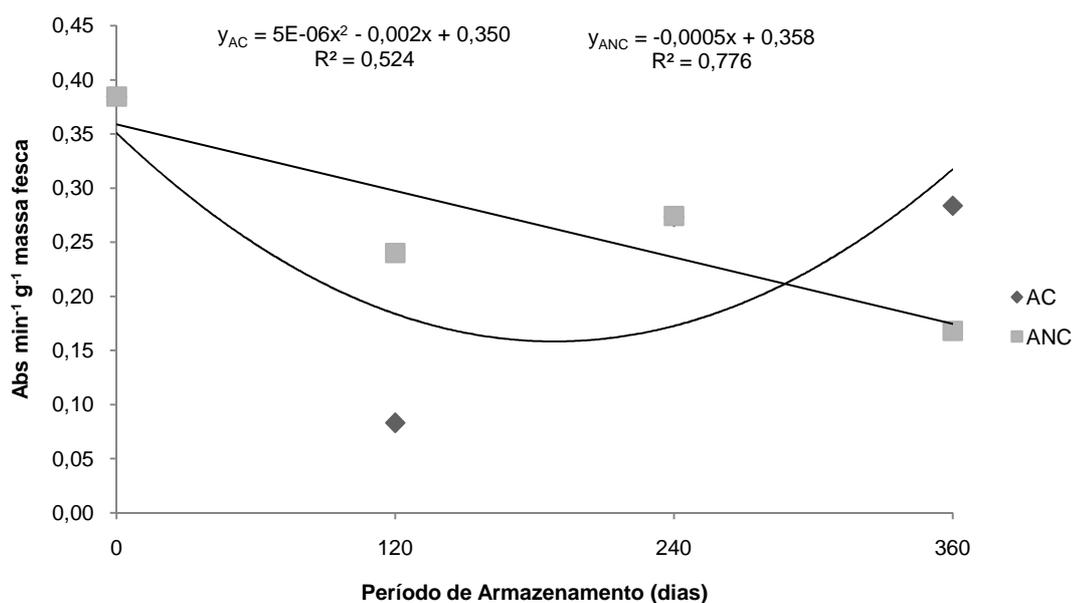


Figura 5 – Atividade de peroxidase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Diamante do Oeste, do desdobramento da interação entre diferentes ambientes de armazenamento: ambiente controlado (AC) e ambiente não controlado (ANC), durante o período de armazenamento de 360 dias.

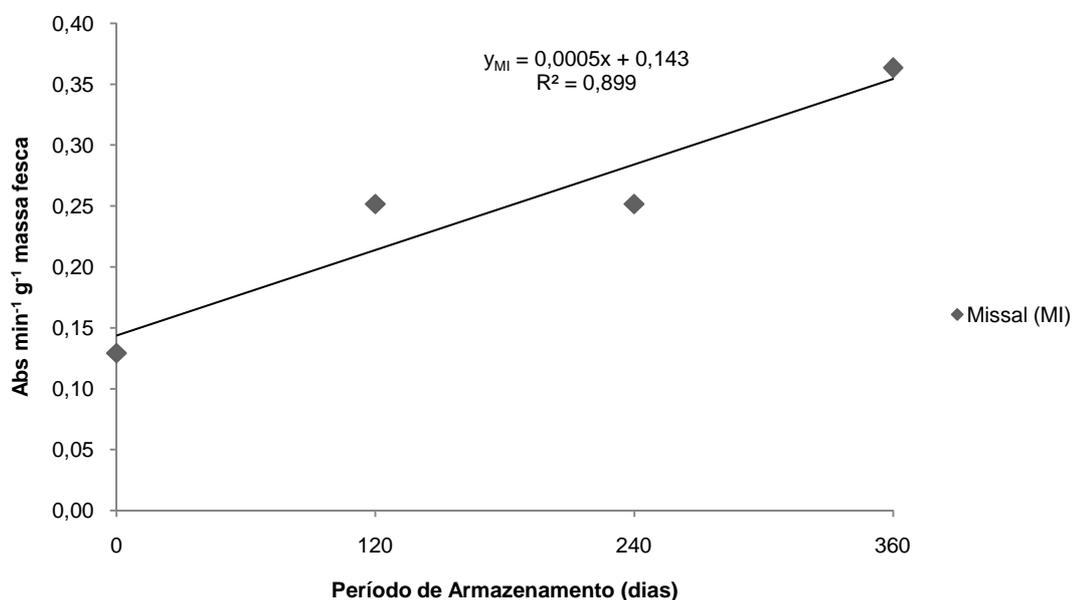


Figura 6 – Atividade de peroxidase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler do local de coleta Missal, em função do período de armazenamento.

A atividade de fenilalanina amônia-liase foi significativa, durante o período de armazenamento para o local de coleta Diamante do Oeste (Figura 7). Aos 360 dias, de armazenamento, o método utilizado para detecção da atividade dessa enzima,

não detectou atividade, com isso, o ajuste dos dados foi quadrático.

Fato semelhante pôde ser observado para Missal, que apresentou interação significativa e também não pode ser detectado atividade da fenilalanina amônia-liase aos 240 e 360 dias para a condição controlada e para condição não controlada, apenas em 0 dias, foi detectada atividade (Tabela 4) (Figura 8).

Tanto para Diamante do Oeste, quanto para Missal, nos períodos de armazenamento, em que foi detectada atividade dessa enzima, não houve diferença significativa, o que poderia indicar que toda a rota dos fenilpropanóides não sofreu alteração durante esses períodos. Com isso, mecanismos como síntese de lignina, compostos fenólicos, quinonas, dentre outros, podem não ter sido potencializados em função do período de armazenamento em que foi detectada atividade.

A baixa atividade de enzimas deve ter influenciado na não identificação da atividade da fenilalanina amônia-liase em determinados períodos. Os resultados observados para Diamante do Oeste apresentaram relação com a enzima peroxidase na condição não controlada, em que ocorreu diminuição da atividade. Já para Missal, essa relação não pode ser observada.

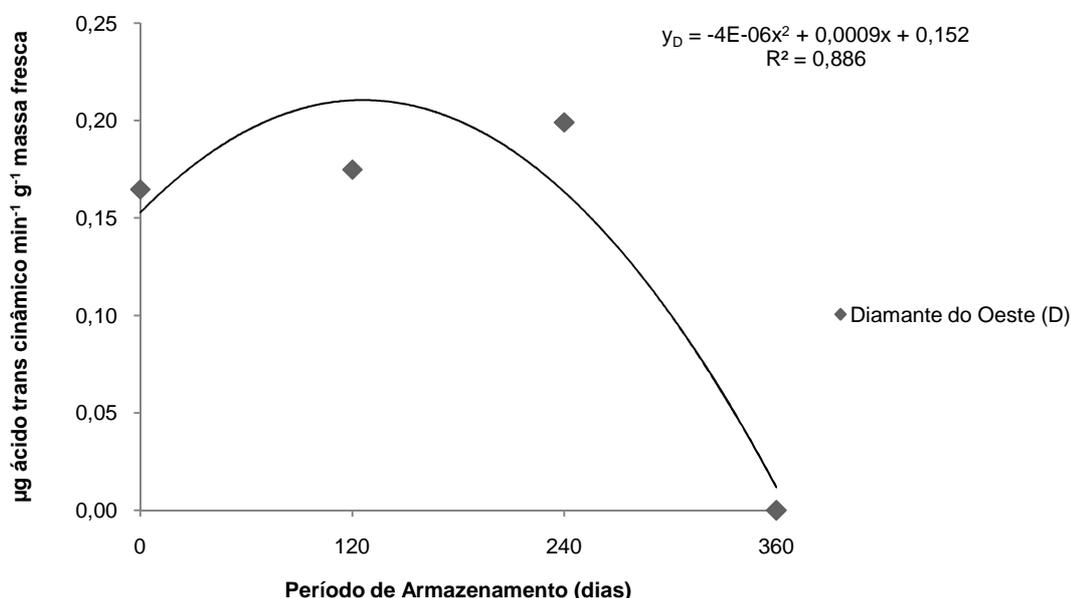


Figura 7 - Atividade de fenilalanina amônia-liase de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Diamante do Oeste, em função do período de armazenamento.

Tabela 4 – Atividade de fenilalanina amônia-liase, do local de coleta Missal, do desdobramento da interação entre diferentes condições de armazenamento e o período de armazenamento.

Local de Coleta	CA	Período de Armazenamento				Média
		0	120	240	360	
Missal	AC	0,1472a	0,1615a	0,0000a	0,0000a	0,0772
	ANC	0,1472a	0,0000b	0,0000a	0,0000a	0,0368

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

AC: ambiente controlado; ANC: ambiente não controlado

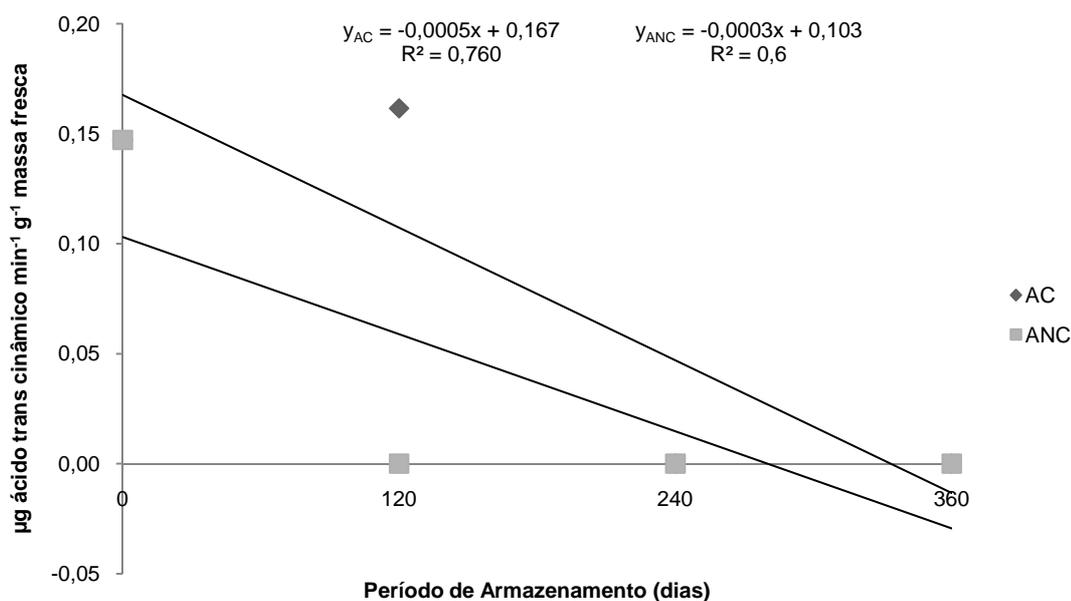


Figura 8 – Atividade de fenilalanina amônia-liase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Missal, do desdobramento da interação entre diferentes ambientes de armazenamento: ambiente controlado (AC) e ambiente não controlado (ANC), durante o período de armazenamento de 360 dias.

A atividade da β -1,3-glucanase para Mercedes apresentou significância para o período de armazenamento (Figura 9), sendo que obteve ajuste quadrático, havendo um aumento de sua atividade aos 167 dias e decréscimo aos 360 dias.

Para Missal, tanto o período quanto as condições de armazenamento foram significativas, sendo que em condições não controladas houve maior atividade da enzima (Tabela 5). Durante o período de armazenamento, houve pico da atividade em 0 dias com subsequente diminuição e estabilização da atividade (Figura 9).

Tabela 5 – β -1,3-glucanase em sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, do local de coleta Missal, em função das condições de armazenamento e do período de armazenamento.

Missal					
CA	Período de Armazenamento				Média
	0	120	240	360	
AC	1,3834	0,3064	0,3064	0,0996	0,5239b
ANC	1,3834	0,6076	0,6076	0,5277	0,7816a

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

CA: Condições de armazenamento; AC: ambiente controlado; ANC: ambiente não controlado

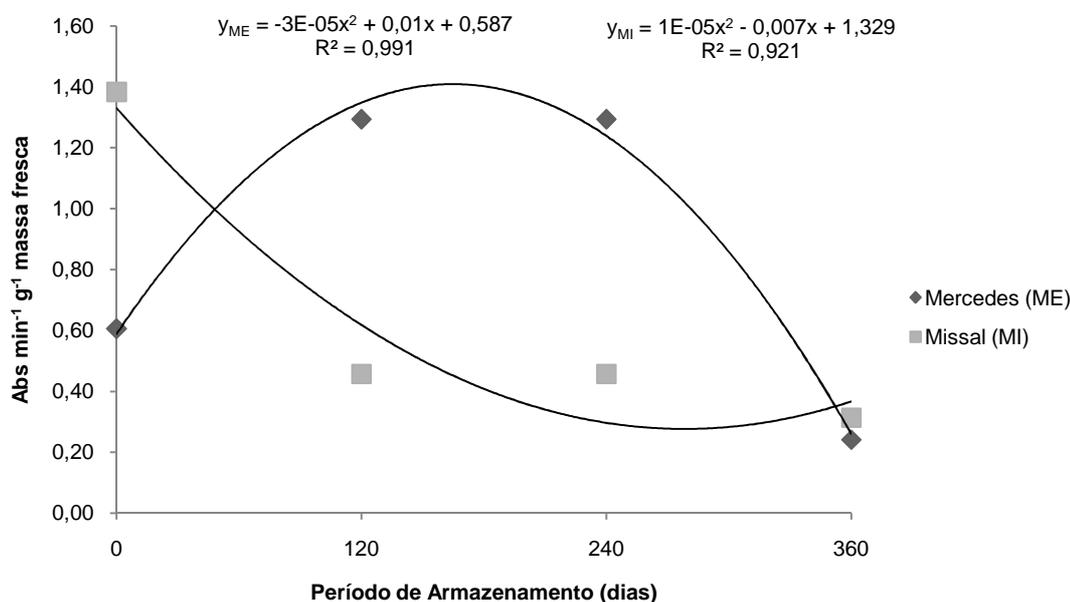


Figura 9 – Atividade de β -1,3-glucanase de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, dos locais de coleta Mercedes e Missal, em função do período de armazenamento.

A β -1,3-glucanase apresenta papel importante, durante a germinação de sementes de tabaco (LEUBNER-MENTZGER et al., 1995), catalizando a hidrólise dos componentes da parede celular, resultando no enfraquecimento da região micropilar do endosperma, onde ocorre a protrusão da radícula. Contudo, em sementes de tomate (MOROHASHI; MATSUSHIMA, 2000) a atividade de β -1,3-glucanase foi detectada apenas após a protrusão da radícula.

Segundo Leubner-Mentzger (2003), a β -1,3-glucanase atua como um fator chave na regulação da dormência e germinação de sementes, em resposta a condições ambientais e hormonais, já que a expressão da β -1,3-glucanase e a ruptura do embrião são promovidas pela giberelina (GA) e etileno e podem ser inibidos pelo ácido abscísico (ABA). Tal fato foi reportado por Farashah et al.,

(2011), em sementes dormentes de *Origanum vulgare* L. que apresentavam baixa atividade da enzima. No entanto, essa atividade enzimática foi maior em sementes germinadas após serem submetidas a quebra dormência.

A atividade da enzima β -1,3-glucanase apresentou comportamento distinto entre sementes colhidas em diversos locais, assim como pode ser observado para a peroxidase. Levando-se em consideração o papel da β -1,3-glucanase na germinação das sementes, apenas para o local de coleta Missal houve uma relação da atividade da enzima com a germinação e IVG nos períodos 0, 120 e 240 dias de armazenamento, no entanto, em 360 dias o mesmo não pode ser observado. Já, em Mercedes, houve comportamento contrário.

Os resultados, obtidos, reforçam o fato de que as diferenças genéticas entre sementes, oriundas de locais diferentes aliadas ou não às condições climáticas, influenciam nas características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas das sementes desta espécie (MARTINS et al., 2007; MARTINS; NAKAGAWA; RAMOS, 2011).

2.4 CONCLUSÃO

A perda da capacidade germinativa de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler foi possível ser detectada através da atividade da enzima peroxidase para Diamante do Oeste e Missal e pela enzima β -1,3-glucanase para o local de coleta Missal, nos períodos de armazenamento de 0, 120 e 240 dias. O padrão de envelhecimento das sementes de *B. riedelianum* foi variável para diferentes locais de coleta, bem como, para as diferentes condições de armazenamento.

2.5 REFERÊNCIAS

ABELES, F.B.; MORGAN, P.W.; SALTVEIT, M.E., JR. **Ethylene in plant biology**. Academic Press, San Diego, 2nd Edition, 1992. 414p.

ARAÚJO, E.R. et al. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de aroeira produzidas no estado da Paraíba. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 34, n. 1, p. 9-20, 2013.

BEWLEY, J.D. et al. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. 3. ed. New York: Springer, 2013. 392p.

BIERNASKI, F.A.; HIGA, A.R.; SILVA, L.D. Variabilidade genética para caracteres juvenis de progênies de *Cedrela fissilis* Vell.: subsídio para definição de zonas de coleta e uso de sementes. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 36, n. 1, p. 49-58, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039p.

CARVALHO, P.E.R. **Pau-Marfim – *Balfourodendron riedelianum***. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 11p. (Circular Técnica, 93)

CHEROBINI, E.A.I.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.18, n.1, p.65-73, 2008.

DEMIRKAYA, M.; DIETZ, K.J.; SIVRITEPE, H.O. Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion seeds. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v.38, n.1, p.49-52. 2010.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3.ed. Brasília: Embrapa, 2013. 353p.

FARASHAH H.D. et al. Germination improvement and α -amylase and β -1,3-glucanase activity in dormant and non-dormant seeds of Oregano (*Origanum vulgare*). **Australian Journal of Crop Science**, v.5, n.4, p. 421-427, 2011.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotencologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FINCH-SAVAGE, W.E.; LEUBNER-METZGER, G. Seed dormancy and the control of germination. **New Phytologist**, n. 171, p. 501-523, 2006.

FUZETO, A. P.; LOMÔNACO, C. Plasticidade fenotípica em *Cabralea canjerana*. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 169-176, jun. 2000.

GOESCHL, J.D.; RAPPAPORT, L.; PRATT, H.K. Ethylene as a factor regulating the growth of pea epicotyls subjected to physical stress. **Plant Physiology**. v.41, p.877-884, 1966.

GONZALES, J.L.S.; VALERI, S.V.; DE PAULA, R.C. Qualidade fisiológica de sementes de diferentes árvores matrizes de *Corymbia citriodora* (Hook.)

K.D.Hill&L.A.S. Johnson. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 39, n. 91, p. 171-181, 2011.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 144, n. 9/10, p. 449-454, 1996.

IGNÁCIO, V.L. **Germinação e conservação de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler**. 2013. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2013.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

LEUBNER-MENTZGER, G.; MEINS, F.J. Function and regulation of plant β -1, 3-glucanases. In: S.K.DATTA, S. MUTHUKRISHNAN, E.D.S., **Pathogenesis-Related Proteins in Plants**. CRC Press, Boca Raton, Flórida, p. 49-76, 1999.

LEUBNER-MENTZGER, G. et al. Class I β -1,3-glucanases in the endosperm of Tobacco during germination. **Plant Physiology**, n. 109, p. 751-759, 1995.

LEUBNER-MENTZGER, G. Functions and regulation of β -1,3-glucanase during seed germination, dormancy release after-ripening. **Seed Science Research**, v. 13, p. 17-34, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. v. 1, 368 p.

LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathological**, v. 25, p. 244-249, 1999.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

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

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 3.1-3.21.

MARTINS, C.C, et al. Isoenzimas na diferenciação de sementes de três espécies do gênero *Euterpe*. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 31, n. 1, p. 51-57, 2007.

MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J.; RAMOS, P.R.R. Isoenzimas no monitoramento da deterioração de sementes de *Euterpe espirotosantensis* Fernandes. **Revista Árvores**, v. 35, n. 1, p. 85-90, 2011.

MARTINS, E.M.F. Proteínas relacionadas à patogênese. In: PASCHOLATI, S.F. et al. **Interação planta-patógeno**: fisiologia, bioquímica e biologia molecular. Piracicaba: FEALQ, 2008. 627 p.

MCDONALD, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v. 27, p. 177-237, 1999.

MENEZES, M. et al. Identificação de cultivares de milho, feijão, algodão e soja por meio de enzimas e proteínas resistentes ao calor. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 111-122, 2008.

MORAES, E. et al. Comportamento e variação de procedências de *Corymbia citriodora* em diferentes tipos de solos. **Floresta**, Curitiba, v. 41, n. 2, p. 277-286, 2011.

MOROHASHI, Y.; MATSUSHIMA, H. Development of β -1,3-glucanase activity in germinated tomato seeds. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, n. 349, p. 1381-1387, 2000.

PINTO JUNIOR, A. et al. Armazenamento de sementes de pinhão manso em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 636-643, 2012.

RITTER, H.; SCHULZ, G.E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalysed by phenylalanine ammonia-lyase. **The Plant Cell**, v. 16, p. 3426-3436, 2004.

SANTOS, S.R.G.; PAULA, R.C. Testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baill.) Smith & Downs. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 81, p. 7-16, 2009.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F. et al. (Eds.). **Interação planta patógeno**: fisiologia, bioquímica e biologia molecular. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.227-248.

SHABAN, M. Review on physiology aspects of seed deterioration. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 6, n. 11, p. 627-631, 2013.

SILVA, L.L. **Morfologia, anatomia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., *Esenbeckia grandiflora* Mart., *Dictioloma vandellianum* A.D. Juss. e *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler (RUTACEAE)**. 2001. 142 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2001.

SILVA, L.L.; PAOLI, A.A.S. Morfologia e anatomia da semente de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler – Rutaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 1, p. 16-20, 2006.

SPINOLA, M.C.; CÍCERO, S.M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo ao envelhecimento acelerado. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TANG, A. Desiccation-induced changes in viability, lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in *Mimosa elengi* seeds. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 44, p. 10255-10266, 2012.

UCHIDA, A.; YAMAMOTO, K.T. Effects os mechanical vibration of seed germination of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Plant Cell Physiol**. v.46, n.6, p.647-651, 2002.

UMESHA S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.

VIEIRA, A.H. et al. **Técnicas de produção de sementes de espécies florestais**. Rondônia: EMBRAPA-CPAF, 2005.4 p. (Circular Técnico, 205).

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 3, n. 1, p. 2-20, 2010.

WIRTH, S.J.; WOLF, G.A. Micro-plate colourimetric assay for endoacting cellulase, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, v.24, p.511-519, 1992.

ZONTA, J.B.et al. Armazenamento de sementes de pinhão manso em diferentes embalagens e armazenamento. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, suplemento 2, p. 599-608, 2014.

3 EQUAÇÕES DE LONGEVIDADE PARA SEMENTES DE *Balfourodendron riedelianum* (ENGLER) ENGLER

RESUMO

A longevidade é o período em que as sementes se mantêm viáveis. A previsão da perda de viabilidade das sementes, em relação às condições de armazenamento a que são submetidas, é de extrema importância para a avaliação de sua armazenabilidade. O *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler é uma espécie lenhosa nativa, de importância econômica e ecológica, popularmente conhecida como pau marfim. O presente trabalho objetivou determinar as constantes da equação de longevidade de pau marfim e prever o período de armazenamento das sementes desta espécie. Foram estudadas sementes, colhidas nos seguintes locais de coleta: Diamante do Oeste, Mercedes e Missal – PR. Para o teste de germinação, utilizou-se a temperatura alternada de 20–30°C, com fotoperíodo de 8 horas. As sementes foram armazenadas em embalagem hermética de vidro, pelo período de 360 dias, em ambiente controlado e não controlado. Para a elaboração das equações de longevidade determinou-se as constantes que compõem a equação, através de curva de regressão. A determinação da longevidade das sementes não foi possível, pelo fato das sementes não terem apresentado comportamento germinativo cumulativo negativo durante o período de armazenamento.

Palavras-chave: Pau marfim, Constantes de viabilidade, Viabilidade, Deterioração.

LONGEVITY EQUATIONS FOR *Balfourodendron riedelianum* (ENGLER) ENGLER SEEDS

ABSTRACT

Longevity is the period in which the seeds remain viable. The forecast loss of seed viability in relation to storage conditions to which they are subjected is extremely important for the evaluation of storability. The *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler is a native woody species, economic and ecological importance, popularly

known as ivory stick. This study aimed to determine the constants of wood ivory longevity equation and predict the shelf life of the seeds of this species. Seeds were studied in the following collection sites: Diamante do Oeste, Mercedes and Missal - PR. For germination test was used alternating temperature of 20–30°C with a photoperiod of 8 hours. The seeds were stored in glass hermetic packaging for 360 days period in controlled and uncontrolled environment. For the development of longevity equations was determined the constants that make up the equation by regression curve. For ivory wood seeds studied in this work, the constant found to predict longevity were: $K_e = 12$; $C_w = -0.75$; $C_h = 0.0195$; $C_q = 0$. The determination of seed longevity was not possible, because the seeds had not presented negative cumulative germination behavior during the storage period.

Key-words: Ivory wood, Viability constants, Viability, Deterioration.

3.1 INTRODUÇÃO

O *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler é conhecido, vulgarmente, como pau-marfim (LORENZI, 2008). Carvalho (2004), afirma que essa espécie apresenta diferentes ecótipos, pois, frequentemente, são encontrados exemplares com folhagem durante a estação de repouso fisiológico, apesar de ser classificada como caducifolia. As sementes do pau-marfim são classificadas como sendo de comportamento ortodoxo em relação ao armazenamento (CARVALHO, 2003), ou seja, apresentam maior tolerância à dessecação, resistindo ao armazenamento por período prolongado.

A previsão da perda de viabilidade de sementes armazenadas, por meio de modelos matemáticos, é importante tanto para a manutenção de bancos de germoplasma como para o gerenciamento da produção e armazenamento de sementes (MEAD; GRAY, 1999). Modelos matemáticos, usados para descrever a perda de viabilidade de sementes ortodoxas, durante o armazenamento, geralmente, levam em consideração a viabilidade inicial, período de armazenagem, teor de água e temperatura das sementes (SINÍCIO, BHERING, VIDIGAL, 2013). Sementes ortodoxas são tolerantes à dessecação, por tolerarem os efeitos imediatos da perda severa de água.

A longevidade de sementes ortodoxas, armazenadas, aumenta

progressivamente à medida que a umidade relativa (UR) do ambiente de armazenamento é reduzida até, aproximadamente, 20% e, então, tendência inversa pode ser observada com UR abaixo desse valor (MEDEIROS; EIRA, 2006).

Essa perda de longevidade das sementes tem sido prevista com sucesso para muitas espécies ortodoxas, utilizando-se o modelo de Ellis e Roberts (1980), conforme Equação (2).

$$v = K_i - \frac{p}{10^{K_e - C_w \log m - C_H t - C_Q t^2}} \quad \text{Equação (2)}$$

Em que:

v = porcentagem de viabilidade das sementes, após período de armazenamento;

p = tempo de armazenamento em dias;

K_i = constante que quantifica a viabilidade inicial do lote de sementes;

K_e = constante relacionada com a espécie;

m = grau de umidade das sementes (em base úmida);

t = temperatura de armazenamento (°C);

C_w = constante que descreve o efeito relativo da umidade na longevidade;

C_H e C_Q = constantes que descrevem o efeito da temperatura de armazenamento na longevidade.

O termo K_i deste modelo é uma constante que representa uma estimativa da qualidade inicial das sementes, específica para cada lote de sementes, que depende de vários fatores, sendo os mais importantes o genótipo, as condições de pré-armazenamento e a sua interação (ELLIS; ROBERTS, 1980). O valor de K_i é determinado, pela interceptação da curva de sobrevivência das sementes plotadas em probit, com o tempo zero de armazenamento. Probit é um tipo de regressão utilizado para analisar variáveis com resposta binomial, que transforma a curva sigmóide em uma linha reta, permitindo, assim, os dados serem analisados por meio de regressão, através dos mínimos quadrados (VICENT, 2013).

O coeficiente K_e representa o valor extrapolado do log a 1% de umidade e 0°C. O valor de C_w descreve o efeito relativo ao teor de água na longevidade. Os efeitos combinados dos coeficientes C_h e C_q descrevem a resposta da longevidade à temperatura (SINÍCIO, BHERING, VIDIGAL, 2013).

A Equação prevê a porcentagem de germinação, esperada para qualquer lote de sementes, durante o armazenamento para diferentes valores de temperatura e grau de umidade das sementes, maneira relativamente simples e precisa (HONG; ELLIS, 2003; TEIXEIRA, 2010).

A determinação das constantes de espécies é um processo moroso que consome muitos recursos, especialmente sementes, sendo que, a constante K_e pode ser afetada pela maturação das sementes (KEW GARDENS, 2014).

Vários trabalhos vêm utilizando a determinação de equações de longevidade em diversas espécies, tais como Fantinatti (2004), com *Eucalyptus grandis* e *Pinus taeda*, Ignácio (2013), com *Balfourodendron riedelianum* e Sinício, Bhering e Vidigal (2013), com *Myrciaria jaboticaba*. Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar as constantes da equação de longevidade de pau marfim e prever o período de armazenamento das sementes desta espécie.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Sementes e Mudas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* de Marechal Cândido Rondon, PR.

Os frutos de *B. riedelianum* (Engler) Engler (RNC: 23531) foram colhidos manualmente com auxílio de podão, durante o mês de junho de 2013, de 4 matrizes, de cada local de coleta, previamente marcadas dentro do convênio UNIOESTE/ITAIPU BINACIONAL, sendo estas, localizadas na Bacia do Paraná III, em fragmentos florestais.

Utilizaram-se três lotes de frutos maduros (coloração marrom) de pau marfim, colhidos, nas regiões: Diamante do Oeste, Mercedes e Missal, no Estado do Paraná.

O clima da região, abrangendo todas as localidades de coleta, segundo classificação de Köppen é o Subtropical Úmido Mesotérmico (Cfa), com verões quentes, temperatura média superior a 22 °C, com tendência à concentração de chuvas, invernos com geadas pouco frequentes, com temperatura média inferior a 18 °C, contudo, sem estação seca definida. Nos locais de coleta, predominam solos do tipo Latossolo Roxo Eutrófico, argiloso, profundo e de boa drenagem (EMBRAPA, 2013).

A região de Diamante do Oeste está à altitude média de 266 m com

coordenadas geográficas 24°57'532" latitude sul e 54°09'556" longitude oeste, a região de Mercedes com coordenadas geográficas de 24°24'503" S e 54°07'896" O e altitude de 281 m, e a região de Missal com coordenadas geográficas de 25°01'661" S e 54°12'411" O e altitude de 358 m.

Após a colheita, os frutos foram submetidos à secagem, para tanto, foram mantidos sobre estruturas de madeira com tela, em ambiente aberto e ventilado, na Estação Experimental Prof. Antônio Carlos dos Santos Pessoa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus Marechal Cândido Rondon* – PR. A secagem dos frutos estendeu-se pelo período de 12 dias, até atingirem grau de umidade (B.U.) de 9%, ideal para o armazenamento hermético.

Posteriormente a secagem, foi realizado beneficiamento manual, objetivando a retirada de alas. Para tanto, os frutos foram acondicionados dentro de um saco de polipropileno, que foi submetido a várias batidas com auxílio de um pedaço de madeira, feito isso, os frutos foram retirados e friccionados sobre uma peneira de metal para a retirada completa das alas. Em seguida, parte dos frutos foi utilizada para as avaliações prévias, e outra parte foi armazenada.

Os frutos foram armazenados em embalagem hermética de vidro transparente com tampa de rosca e capacidade de 500 mL, vedadas com fita adesiva. Cada embalagem continha 175 frutos, com isso, para cada período de avaliação eram utilizadas duas embalagens por tratamento, por conter a quantidade de frutos necessários para os testes.

As embalagens, contendo os frutos, foram armazenadas em dois ambientes: controlado e não controlado. O ambiente controlado possuía ar condicionado e desumidificador para controle das condições ambientais e estas variaram entre 13 e 17 °C de temperatura, monitoradas por termo-higrômetro, modelo Gehaka. No ambiente não controlado, as embalagens, contendo os frutos, eram mantidos sobre uma estante em uma sala arejada, e a temperatura variou conforme apresentado na Figura 10, sendo que foi monitorada por termo-higrômetro, modelo Incoterm.

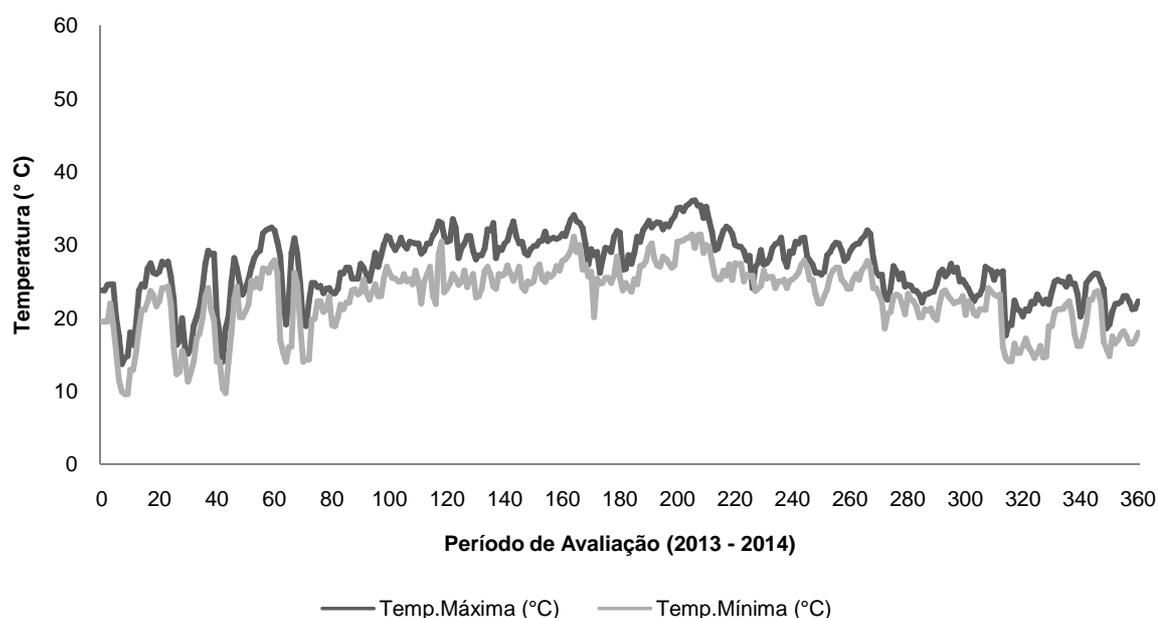


Figura 10 – Dados de temperatura máxima e mínima (°C) do ambiente não controlado de armazenamento, Marechal Cândido Rondon, PR, entre Julho de 2013 a Junho de 2014.

Os testes laboratoriais foram realizados aos 0, 120, 240 e 360 dias, após o beneficiamento dos frutos, caracterizando os períodos de armazenamento. Os parâmetros, avaliados, foram: grau de umidade, massa seca de sementes, germinação e índice de velocidade de germinação (IVG).

O pau marfim apresenta fruto do tipo sâmara (CARVALHO, 2004). A extração da semente inteira do fruto é muito difícil. Portanto, o fruto é utilizado como unidade de reprodução. Para facilitar o entendimento, neste trabalho, será utilizada a denominação semente para o fruto.

O grau de umidade foi determinado através de método de estufa, pela diferença de massas, após as sementes serem submetidas à estufa, com temperatura de 105 ± 2 °C por 24 horas (BRASIL, 2009), foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem na base úmida.

A massa seca de sementes foi determinada, simultaneamente, ao grau de umidade, sendo utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, os resultados foram expressos em gramas.

O teste de germinação foi conduzido com 25 sementes para cada repetição dos tratamentos, em rolo de papel germitest umedecido com água na proporção de 2,5 vezes o peso do substrato (BRASIL, 2009). Os rolos de papel foram mantidos

em câmara de germinação (BOD) em temperatura alternada de 20-30 °C com fotoperíodo de 8 horas de luz, associada à temperatura mais alta e 16 horas de escuro (IGNÁCIO, 2013). As contagens foram realizadas diariamente para a avaliação de sementes germinadas pelo período de 90 dias. Considerou-se semente germinada a plântula que emitiu os cotilédones e apresentou sistema radicular desenvolvido (SILVA, 2001; IGNÁCIO, 2013). Em cada fruto pode-se encontrar mais de uma plântula, mas computou-se apenas a primeira. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 4x2 (4 períodos de armazenamento e 2 ambientes de armazenamento), com quatro repetições. As procedências foram avaliadas isoladamente.

Após a obtenção de todos os dados de qualidade de sementes, foram elaboradas equações de viabilidade, propostas por Ellis e Roberts (1980), através da Equação (2), com a finalidade de prever a viabilidade das sementes de pau marfim durante o armazenamento.

Para cada local de coleta em cada ambiente de armazenamento, os valores médios de porcentagem de germinação, foram transformados em probit, utilizando-se a tabela de transformação de valores de porcentagem proposta por Finney (1952). Na obtenção da equação de viabilidade, torna-se necessária a transformação dos dados, pois, deste modo, os ciclos de vida individuais das sementes ficam distribuídos de maneira uniforme.

Os resultados, em probit, foram submetidos à análise de regressão linear, obtendo-se a curva de sobrevivência das sementes e, conseqüentemente, o valor de K_i , que é o ponto de interceptação da curva no eixo y.

Específico para cada procedência das sementes, o valor de K_i , foi equacionado em função dos resultados do teste de germinação antes do armazenamento.

Para melhor compreensão, os dados de porcentagem de germinação, depois de armazenamento a cada combinação de grau de umidade/temperatura, foram colocados em gráficos X-Y e as linhas de regressão linear foram obtidas, a partir de valores de probit, através da mudança da escala no eixo Y.

Valores de sigma para cada combinação de temperatura de armazenamento e grau de umidade dos frutos, foram determinados por meio de regressão linear com

base nas curvas de sobrevivência dos frutos (o valor de sigma é igual ao negativo do inverso do coeficiente angular da reta). Com o uso de logaritmos decimais de sigma e de grau de umidade, para cada tratamento umidade/temperatura, foi possível a obtenção das constantes específicas para a definição da equação de longevidade para a espécie.

Os coeficientes, apresentados na equação de viabilidade (K_e , C_w , C_H e C_Q) foram determinados, utilizando-se regressão linear múltipla, em função do grau de umidade inicial das sementes (9,2%) e da temperatura média no armazenamento (23 °C em ambiente não controlado e 15°C em ambiente controlado).

Para obtenção das curvas de viabilidade e realização das regressões, utilizou-se o software Sigma Plot versão 12.0 (SIGMA PLOT, 2011).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As percentagens de plântulas normais, obtidas nos testes de germinação, foram transformadas para probit (Tabela 6), por meio da Análise de probit (FINNEY, 1952), para determinação do K_i (Tabela 7). Verifica-se que para todas as procedências estudadas houve queda da germinação até o período de 240 dias de armazenamento, e um aumento da porcentagem ao final desse período.

Tabela 6 – Valores de germinação (G), obtidos em porcentagem e em unidades de probit para as sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, dos diferentes locais de coleta para cada condição de armazenamento.

Local de Coleta	CA	Período de Armazenamento (dias)							
		0		120		240		360	
		G(%)	Probit	G(%)	Probit	G(%)	Probit	G(%)	Probit
Diamante do Oeste	AC	35	4,61	31	4,50	19	4,12	40	4,75
	ANC	35	4,61	22	4,23	22	4,23	47	4,92
Mercedes	AC	28	4,42	20	4,16	20	4,16	36	4,64
	ANC	28	4,42	22	4,23	20	4,16	28	4,42
Missal	AC	43	4,82	27	4,39	26	4,36	40	4,75
	ANC	43	4,82	34	4,59	21	4,19	32	4,53

CA: Condições de armazenamento; AC: ambiente controlado; ANC: ambiente não controlado; G: germinação

As curvas de sobrevivência de sementes de *B. riedelianum* (Figuras 11 e 12) em probit, obtidas através da regressão linear, apresentaram diferentes formatos,

nos diferentes locais de coleta e ambientes de armazenamento, não havendo distribuição cumulativa negativa, sendo que, esse fato pode ser explicado pelo resultado do teste de germinação (Tabela 6), que ao final do período apresentou um aumento da porcentagem.

Lopes (2007), obteve curvas de sobrevivência, apresentando o mesmo formato e distribuição cumulativa negativa para sementes de tomate de diferentes acessos. Ignácio (2013), trabalhando com a mesma espécie do presente trabalho, verificou que as curvas de sobrevivência, apesar de apresentarem a mesma distribuição cumulativa negativa, apresentaram taxas de decréscimo diferenciadas para diferentes procedências e diferentes ambientes de armazenamento. O mesmo pode ser observado neste trabalho, porém, sem apresentar distribuição cumulativa negativa.

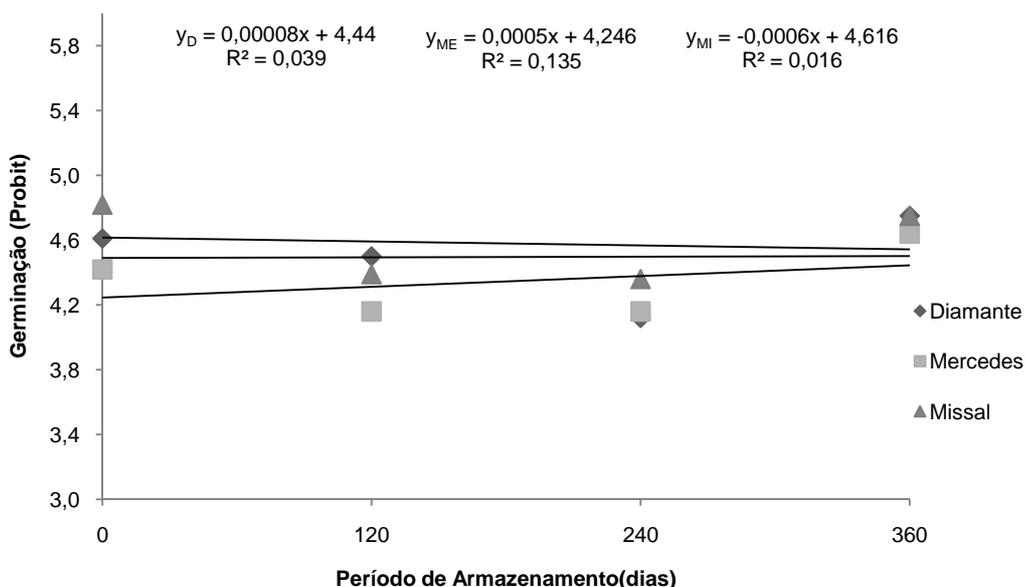


Figura 11 - Curva de sobrevivência, em probit de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, armazenadas em ambiente controlado (15 °C), apresentando grau de umidade médio de 9,2%.

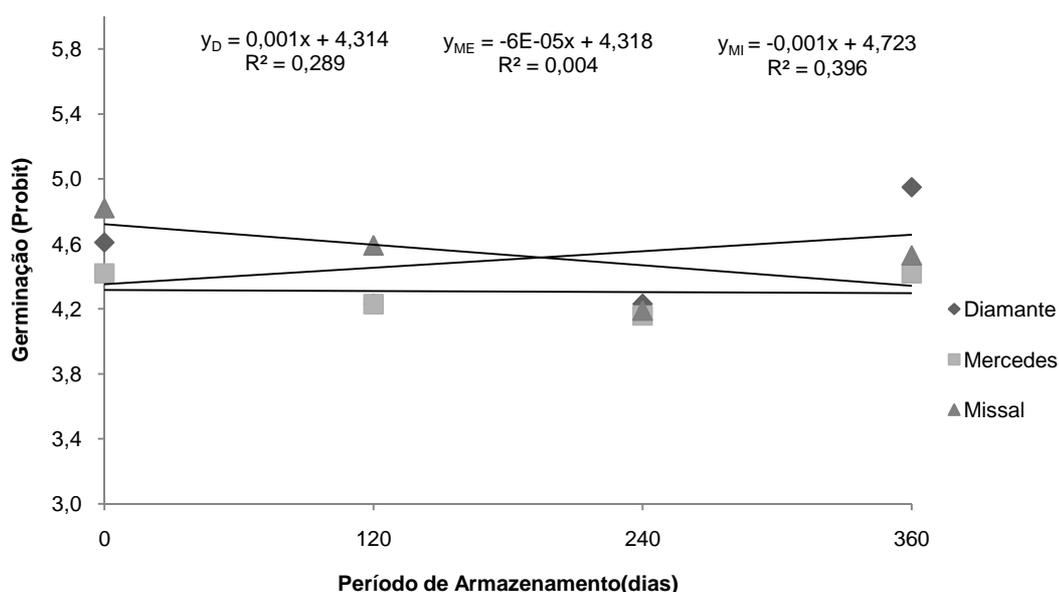


Figura 12 - Curvas de sobrevivência, em probit de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, armazenadas em ambiente não controlado (25 °C), apresentando grau de umidade médio de 9,2%.

É possível verificar a diferença entre o K_i nas procedências (Tabela 7), e entre os ambientes de armazenamento, dentro da mesma procedência. O modelo de Ellis e Roberts (1980), não apresentou alta precisão no ajuste para as sementes de pau marfim, porque as regressões lineares das curvas de sobrevivência das sementes resultaram num R^2 médio de 0,113 e um desvio padrão médio de 0,2446 probit. O desvio padrão médio de K_i , obtido, é bem maior do que o obtido por Ignácio (2013), em pesquisa com a mesma espécie que obteve desvio padrão médio de 0,1839 probit.

Tabela 7 - Qualidade inicial estimada (K_i em probit) de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, de diferentes locais de coleta, nas diferentes condições de armazenamento (CA): controlado (15 °C) e não controlado (25 °C).

Local de Coleta	CA	K_i estimado	Desvio Padrão	R^2
Diamante do Oeste	AC	4,489	0,2701	0,000
	ANC	4,358	0,3338	0,129
Mercedes	AC	4,246	0,2317	0,135
	ANC	4,318	0,1330	0,004
Missal	AC	4,616	0,2387	0,016
	ANC	4,723	0,2603	0,396

CA: Condição de armazenamento; AC: ambiente controlado; ANC: ambiente não controlado

Existe uma grande diferença entre os coeficientes utilizados para

determinação da longevidade das sementes de *B. riedelianum*, específico para cada condição de armazenamento (Tabela 8). Com isso, determinou-se as constantes K_e , C_w , C_h e C_q , independente das condições de armazenamento e procedências (geral na Tabela 8). Sendo assim, estas constantes devem ser utilizadas para determinar a longevidade de sementes de *B. riedelianum*.

Contudo, as constantes, obtidos por Ignácio (2013), para a mesma espécie em estudo, foram K_e (2,8667), C_w ($9,7697E^{-013}$), C_h ($1,3435E^{-012}$) e C_q ($1,1651E^{-013}$), apresentaram grande diferença das constantes, obtidas nesse trabalho. Essa desigualdade deve ter ocorrido, devido às diferenças dos lotes de sementes e condições de germinação que geraram germinação cumulativa negativa para Ignácio (2013) não ocorrendo o mesmo na presente pesquisa.

Tabela 8 - Coeficientes para determinar a longevidade de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler.

Local de Coleta	CA	K_e	P _{valor}	C_w	P _{valor}	C_h	P _{valor}	C_q	P _{valor}
Diamante	AC	-1,3848	1,0000	-0,8570	0,9391	0,0917	1,0000	0,0061	1,0000
	ANC	-2432,7228	<0,0001	-830,9375	<0,0001	99,5142	<0,0001	4,0502	<0,0001
Mercedes	AC	-8,6401	1,0000	-3,1907	0,9853	0,5764	1,0000	0,0384	1,0000
	ANC	-40,4640	1,0000	1,2599	0,8001	-1,3762	1,0000	-0,0358	1,0000
Missal	AC	-2,9638	1,0000	-1,2483	0,3097	0,1976	1,0000	0,0132	1,0000
	ANC	-2,3848	1,0000	-0,9936	0,0056	0,0951	1,0000	0,0038	1,0000
Geral		12,0000	<0,0001	-0,7500	<0,0001	0,0195	<0,0001	0,0000	<0,0001

CA: Condição de armazenamento; AC: ambiente controlado; ANC: ambiente não controlado

A determinação da longevidade das sementes, utilizando a equação de longevidade com as constantes, encontradas, gerou valores que extrapolaram os limites reais. Esse fato pode ter ocorrido porque para essa determinação, a germinação precisa apresentar comportamento cumulativo negativo (KEW GARDENS, 2014). O mesmo não pode ser observado nos resultados, obtidos, já que, no último período de armazenamento, essa porcentagem voltou a aumentar.

3.4 CONCLUSÃO

Não foi possível prever a longevidade das sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, devido ao comportamento germinativo não cumulativo negativo durante o período de armazenamento.

3.5 REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039p.

CARVALHO, P.E.R. **Pau-Marfim – *Balfourodendron riedelianum***. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 11 p. (Circular Técnica, 93)

ELLIS, R.H.; ROBERTS, E.H. Improved equations for the prediction of seed longevity. **Annals of Botany**, Oxford, v. 45, p. 13-30, 1980.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 3. ed. Brasília: Embrapa, 2013. 353 p.

FANTINATTI, J.B. **Equações de viabilidade para sementes de *Eucalyptus grandis* W. Hillex Maiden e *Pinus taeda* L.** 2004. 80 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, Campinas, 2004.

FINNEY, D. J., Ed. **Probit Analysis**. Cambridge, England, Cambridge University Press. 1952.

HONG, T.D.; ELLIS, R. H. S. Storage. In: VOZZO, J. A. **Tropical tree seed manual**. Washington: United States Department of Agriculture/Forest Service. 2003. p. 125-136.

IGNÁCIO, V.L. **Germinação e conservação de sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler**. 2013. 103 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2013.

KEW GARDENS. **Seed viability equation**: viability utility. Disponível em: <<http://data.kew.org/sid/viability/>>. Acesso em 28 de setembro de 2014.

LOPES, J.F. **Equacionamento da longevidade de sementes de tomate**. 2007. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. V. 1, 368 p.

MEAD, A.; GRAY, D. Prediction of seed longevity: a modification of the shape of the Ellis and Roberts seed survival curves. **Seed Science Research**, England, v. 9, p. 63-73, 1999.

MEDEIROS, A.C.S.; EIRA, M.T.S. **Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas**. Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2006. 13 p. (Embrapa Florestas. Circular Técnica, 127).

SIGMA PLOT. **Scientific Graphing Software Versão 12.0**. San Rafael: Jandel Comporation, 2011.

SILVA, L.L. **Morfologia, anatomia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., *Esenbeckia grandiflora* Mart., *Dictioloma vandellianum* Adr. Juss. e *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler (RUTACEAE)**. 2001. 142 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual Paulista, Rio Claro. 2001.

SINÍCIO, R.; BHERING, M.C.; VIDIGAL, D.S. Equação de longevidade para sementes de jaboticabeira (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) O. Berg). **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v. 21, n. 4, p. 323-333, 2013.

TEIXEIRA, J. M. **Análise Bayesiana do modelo de Ellis e Roberts para estimar a viabilidade de sementes de café armazenadas**. 2010. 80 f. Tese (Doutorado em Estatística e Experimentação Agropecuária) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

VINCENT, K. **Probit analysis**. Disponível em: <<http://userwww.sfsu.edu/efc/classes/biol710/probit/ProbitAnalysis.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2013.

4 CONCLUSÕES GERAIS

Sementes de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler podem ser monitoradas quanto a sua deterioração através da atividade das enzimas peroxidase e β -1,3-glucanase para os locais de coleta Diamante do Oeste e Missal; e para Missal nos períodos de 0, 120 e 240 dias de armazenamento, respectivamente.

O envelhecimento das sementes de *B. riedelianum* seguiu padrão variável tanto para os locais de coleta, quanto nas condições de armazenamento controlado e não controlado.

A longevidade das sementes de *B. riedelianum* não foi possível ser prevista, devido ao comportamento germinativo não cumulativo negativo durante o período de armazenamento.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Frutos maduros de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, colhidos em diferentes locais de coleta



APÊNDICE B - Secagem dos frutos de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, sobre estruturas de madeira com tela, em ambiente aberto e ventilado, na Fazenda Guar da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *Campus* Marechal Cândido Rondon – PR.



APÊNDICE C - Frutos de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler, armazenados em embalagem hermética de vidro transparente com tampa de rosca e capacidade de 500 mL, vedadas com fita adesiva, dos locais de coleta (da esquerda para direita): Missal, Mercedes, Diamante do Oeste.



APÊNDICE D – Plântulas normais de *Balfourodendron riedelianum* (Engler) Engler.

