

Joice Helena Mantovani

**EFEITO DO ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES
CONDIÇÕES SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE
IPÊ-AMARELO (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex DC.)
Standl. Bignoniaceae)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à disciplina BIO7016,
como requisito para obtenção do
grau de Bacharelado em Ciências
Biológicas pela Universidade Federal
de Santa Catarina
Orientador: Prof.Dr^a.Ana Maria Viana.

Florianópolis
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Mantovani, Joice Helena

EFEITO DO ARMAZENAMENTO EM DIFERENTES CONDIÇÕES
SOBRE A GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE IPÊ-AMARELO

(*Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex DC.) Standl. Bignoniaceae) / Joice
Helena Mantovani ; orientadora, Ana Maria Viana -Florianópolis, SC, 2013.
80 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. *Tabebuia chrysotricha*. 3.
Compostos de reserva. 4. Sementes. 5. Conservação. I. , Ana
Maria Viana. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Este trabalho é dedicado a minha
família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo apoio e incentivo nos momentos difíceis.

A minha Orientadora Prof. Dra. Ana Viana pela orientação e dedicação.

Aos colegas do laboratório de Morfogênese e Bioquímica vegetal, em especial ao Prof. Dr. Marcelo Maraschin, a Fernanda Ramlov e a Thaise Gerber pela ajuda com os experimentos.

Ao grupo PET-Biologia e a tutora Dra. Tânia Tarabini Castellani não só pela bolsa, mas principalmente pela amizade, experiências e oportunidades de aprendizagem.

Aos amigos e colegas que estiveram comigo durante os anos de graduação na UFSC.

“Se não houver frutos, valeu a beleza das flores;
se não houver flores, valeu a sombra das folhas; se
não houver folhas, valeu a intenção da semente”

(Henrique Filho – Henfil, 1944-1988)

RESUMO

O Ipê-amarelo, *Tabebuia chrysostricha* (Mart. Ex.DC)Standl., possui grande potencial econômico e ecológico, podendo ser utilizado na recuperação de áreas degradadas e na arborização urbana. Entretanto, sabe-se que as sementes maduras de *T.chrysostricha* apresentam curta longevidade, dificultando o estabelecimento de técnicas de cultivo. Desta forma, vem-se procurando desenvolver técnicas eficazes para a conservação a longo prazo de suas sementes, sendo de grande importância o conhecimento dos processos fisiológicos e das condições ideais para a conservação de sementes de espécies nativas. Assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes condições e tempos de armazenamento de sementes de *T.chrysostricha* sobre a germinação e compostos de reserva. Para tal, as sementes foram armazenadas a 0°C (congelador), -20°C (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente) durante 2, 4 e 6 meses. Após o armazenamento, foi realizado teste de germinação em papel. Foram analisados o teor de água, a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação (IVG) e o tempo médio de germinação (TMG). Aos 6 meses de armazenamento, foram feitas dosagens de açúcares solúveis totais e amido das sementes e a determinação da massa fresca, massa seca e do comprimento das plântulas normais. Constatou-se não haver perda de viabilidade tampouco diferenças significativa entre as condições de armazenamento aos 6 meses, entretanto, foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos no que diz respeito ao teor de açúcares solúveis totais (AST) e amido. Para a avaliação do efeito da criopreservação seguida de armazenamento em temperatura ambiente e posterior reimersão em nitrogênio líquido, foi realizado um segundo experimento no qual as sementes de *T.chrysostricha* foram imersas em nitrogênio líquido por 1h e mantidas em temperatura ambiente por 0,1,2,3 e 4 semanas e reimersas em nitrogênio líquido, visando determinar a tolerância à segunda imersão. Constatou-se que as sementes podem ser criopreservadas novamente, mas o tempo em que são mantidas em temperatura ambiente interfere na porcentagem de germinação, IVG e TMG das sementes

Palavras-chave: *Tabebuia chrysostricha*. Compostos de reserva. Sementes. Conservação.

ABSTRACT

The arboreal tree *Tabebuia chrysostricha* (Mart. Ex.DC) Standl, known as Ipê-amarelo has a huge economic and ecological potential and can be used for the afforestation of degraded areas and for the tree planting of urban areas. However, it is known that the seeds belonging to the species of the genus *Tabebuia* have a short viability period which makes difficult the establishment of cultivation techniques. Researchers have been trying to develop effective techniques for long term conservation of *Tabebuia*'s seeds. For this reason, it's important to know the physiological process and the ideal storage conditions for native seed's preservation. Thus, this work had intended to measure the effect of storage time and temperatures on the seed's viability and on the seed's storage compounds. The seeds were submitted to storage temperatures of 0°C (fridge), -20°C (freezer), 5°C (refrigerator), -196°C (liquid nitrogen) and 25°C (room temperature) during 2, 4 e 6 months and the effects on germination and seed water content were analyzed. On 6 months storage, the seed's sugar and starch contents, the plant wet biomass, plant dry biomass and plant length were measured. The results showed no loss of germination percentage neither differences between storage temperatures on 6 months. However, it was found differences in seed's sugar and starch content according to the storage temperatures. In order to measure the effect of the cryopreservation followed by the storage at 25 °C and a second cryopreservation, a second experiment were made. The seeds were cryopreserved during 1h after that they were storage at 25 °C during 0,1,2,3 and 4 weeks and then cryopreserved for a second time in order to evaluate the effect of the second cryopreservation. The results showed that the seeds can be cryopreserved for a second time, but the period of time they were stored at 25 °C influenced seed viability..

Keywords: *Tabebuia chrysostricha*. storage compounds. seeds. Preservation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos e aos 2 meses de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido).. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....41
- Figura 2.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos e aos 4 meses de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido).. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....42
- Figura 3.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos e aos 6 meses de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....43
- Figura 4.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 1 semana, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....50
- Figura 5.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 2 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....51
- Figura 6.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 3 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....52
- Figura 7.** Germinação de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 4

semanas, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....53

Figura 8. Germinação de sementes de *T.chrysotricha* após a criopreservação por 1h seguida ou não do armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 1,2,3 e 4 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....54

Figura 9. Índices de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *T.chrysotricha* após a criopreservação por 1h seguida ou não do armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 1,2,3 e 4 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....57

Figura 10. Tempo Médio de Germinação de sementes de *T.chrysotricha* após a criopreservação por 1h seguida ou não do armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 1,2,3 e 4 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.....60

Figura 11. Teor de açúcares solúveis totais (ASTs), a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL⁻¹ ($r^2= 0,99$; $y = 0,340x$), em sementes de *T.chrysotricha* submetidas ao armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) durante 3 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Barras verticais indicam o intervalo de confiança de 0.95%. MS= massa seca.....61

Figura 12. Teor de amido, a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL⁻¹ ($r^2= 0,99$; $y = 0,35x$), em sementes de *T.chrysotricha* submetidas ao armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) durante 3 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Barras verticais indicam o intervalo de confiança de 0.95%. MS= massa seca.....61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Teores de água de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C), congelador (0°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C) durante 2, 4 e 6 meses.....	40
Tabela 2. Porcentagens máximas de germinação de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C), congelador (0°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C) durante 2, 4 e 6 meses.....	44
Tabela 3. Fatores e interações entre fatores para o tempo médio de germinação (IVG) de sementes de <i>T.chrysotricha</i> armazenadas em diversas condições por 0, 2,4 e 6 meses segundo a Análise de variância bifatorial.....	45
Tabela 4. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C), congelador (0°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C) durante 2, 4 e 6 meses.....	46
Tabela 5. Fatores e interações entre fatores para o tempo médio de germinação (TMG)de sementes de <i>T.chrysotricha</i> armazenadas em diversas condições por 0, 2,4 e 6 meses segundo a Análise de variância bifatorial.....	47
Tabela 6. Tempos médios de germinação (TMG) de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C), congelador (0°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C) durante 2, 4 e 6 meses.....	48
Tabela 7. Valores de massas seca e fresca (mg), porcentagem de massa seca, número de folhas, comprimento da parte aerea e da raiz (cm) de plântulas cujas sementes foram submetidas a 6 meses de armazenamento.....	49
Tabela 8. Fatores e interações entre fatores para a porcentagem de germinação de sementes de <i>T.chrysotricha</i> submetidas à criopreservação segundo a Análise de variância bifatorial.....	53
Tabela 9. Porcentagem de germinação de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas em temperatura ambiente por períodos de 1 a 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação.	55

Tabela 10. Fatores e interações entre fatores para o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>T.chrysotricha</i> submetidas à criopreservação segundo a Análise de variância bifatorial.....	55
Tabela 11. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas em temperatura ambiente por períodos de 1 a 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação.....	56
Tabela 12. Fatores e interações entre fatores para o tempo médio de germinação (TMG) de sementes de <i>T.chrysotricha</i> submetidas à criopreservação segundo a Análise de variância.....	58
Tabela 13. Tempo médio de germinação (TMG) de de sementes de <i>T. chrysotricha</i> no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas em temperatura ambiente por períodos de 1 a 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação.....	59
Tabela 14. Teor de açúcares solúveis totais (ASTs), a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL-1 ($r^2= 0,99$; $y = 0,340x$), de sementes de <i>T.chrysotricha</i> submetidas ao armazenamento durante 6 meses.....	62
Tabela 15. Teor de amido, a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL-1 ($r^2= 0,99$; $y = 0,35x$), em sementes de <i>T.chrysotricha</i> submetidas ao armazenamento durante 6 meses.....	63

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	25
1.1	Aspectos gerais da espécie <i>Tabebuia chrysotricha</i>	26
1.2	Desenvolvimento de sementes.....	27
1.3	Fatores que influenciam na germinação.....	28
1.4	Conservação de sementes de <i>Tabebuia chrysotricha</i>	29
2	OBJETIVO.....	33
2.1	Objetivos Específicos	33
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1	Germinação de sementes submetidas ao armazenamento.....	35
3.2	Extração e dosagem de açúcares solúveis totais e amido.....	37
3.3	Análise estatística.....	38
4	RESULTADOS	39
4.1	Germinação de sementes de <i>Tabebuia chrysotricha</i>	39
4.2	Dosagem de açúcares solúveis totais e amido em sementes de <i>Tabebuia chrysotricha</i>	60
5	DISCUSSÃO.....	65
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73
7	REFERÊNCIAS.....	75

INTRODUÇÃO

A necessidade de recuperação de áreas degradadas e a demanda pela conservação das florestas tem intensificado o interesse na propagação de espécies nativas, levando a um aumento na demanda pela produção de sementes e mudas das mesmas.

Entre essas espécies está o Ipê-amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex. DC.) Standl.) cujo potencial econômico, ecológico e ornamental, faz com que se busque técnicas para sua conservação, sendo o armazenamento de sementes uma das técnicas promissoras de conservação *ex situ* (Engles et al., 2002).

Além de possuir baixa longevidade (Kageyama e Marquez, 1981), as sementes de *T.chrysotricha* apresentam variações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento (Martins et al., 2009), sendo necessários estudos que visem fornecer informações a respeito do comportamento de suas sementes quando submetidas ao armazenamento, possibilitando a utilização de condições adequadas para a manutenção da viabilidade. Isso porque a intensidade e a velocidade com que as sementes perdem sua viabilidade, seja durante a colheita, processamento ou armazenamento, dependem de fatores tanto genéticos como ambientais (Nassif et al., 1998).

As técnicas de armazenamento de sementes visam reduzir seu grau de deterioração, preservando a qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes (Floriano, 2004). O processo de deterioração das sementes, decorrente de alterações bioquímicas que levam à redução do vigor e da capacidade germinativa ao longo do tempo, não pode ser evitado. Todavia, com a utilização de técnicas adequadas de armazenamento, é possível reduzir a velocidade com que esse processo ocorre.

Essas técnicas consistem em submeter as sementes a diversas condições de temperatura e umidade, entre elas estão; as condições de temperatura e umidade baixas, câmara fria e seca, resfriamento em refrigerador, congelamento em freezer ou criopreservação (Engles et al., 2002).

Nesse sentido, é de grande importância o conhecimento dos processos fisiológicos e das condições ideais para a conservação de sementes de espécies nativas com potencial para a recuperação de áreas degradadas, uma vez que as condições requeridas para a germinação são distintas para cada espécie.

1.1 ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE *Tabebuia Chrysotricha* (Mart. ex DC.)Standl.

A espécie *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.)Standl. é popularmente conhecida como ipê-amarelo-cascudo, ipê-amarelo-do-cerrado, ipê-amarelo-paulista e pau-d'arco-amarelo, entre outros. A espécie pertence ao gênero *Tabebuia*; um dos 120 gêneros pertencentes a família Bignoniaceae Juss. Essa família tem distribuição tropical e subtropical, sendo especialmente diversa na América do sul. São plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas e também trepadeiras (Judd et al., 2002).

Segundo Fisher (2004), o Brasil é o maior centro de diversidade dessa família, composta por sete tribos, cerca de 100 gêneros e 860 espécies. O gênero *Tabebuia* é um dos 9 gêneros da tribo Tecomeae encontrados no Brasil, sendo essa a segunda maior tribo de Bignoniaceae (Judd et al., 2002).

A espécie *T. chrysotricha* ocorre desde o Nordeste até o Sul do Brasil, na Floresta Ombrófila densa (Floresta fluvial Atlântica) e em áreas de mata de galeria no domínio do Cerrado, sendo mais freqüente nas formações secundárias localizadas sobre solos bem drenados de encosta. Também é encontrada em florestas abertas ou alteradas ou ainda em formação arbustiva, em topos de morros especialmente em solos arenosos (Gentry, 1992)

Caracteriza-se por ser uma espécie arbórea com característica de planta heliófita e decídua, podendo chegar de 4-10m e tronco de 30-40 cm de diâmetro (Lorenzi, 2002). A madeira é de grande durabilidade e, por ter pequeno porte, essa árvore tem grande potencial ornamental sendo utilizada na construção civil e na arborização pública devido ao seu porte e à resistência de sua madeira (Silva et al., 2007). Além disso, essa espécie é matéria-prima para a produção de corante para tingir seda e algodão. Podendo também ser utilizada em projetos de reflorestamento de áreas degradadas (KAGEYAMA et al., 2001).

Estudos comprovam que *T.chrysotricha* tem efeito analgésico devido à ocorrência de naftoquinonas como o lepachol (Grazziotin, 1992), substância normalmente encontrada nas espécies do gênero *Tabebuia* (Thomson, 1971).

As espécies florestais nativas, como *T.chrysotricha*, possuem grande potencial econômico e ambiental. Em decorrência disso, essas espécies vem ocupando um crescente espaço no mercado de sementes, o que torna importante o conhecimento sobre o comportamento fisiológico

das sementes florestais nativas permitindo, assim, estratégias eficazes de conservação e exploração de germoplasma (Cabral et al., 2003).

1.2 DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES

O gênero *Tabebuia* pertence as angiospermas (filo Anthophyta) e, como tal, caracterizam-se pela presença de sementes, flores, frutos e um ciclo de vida distinto, sendo extremamente diversas em suas características vegetativas e florais (Raven et al., 2007). Neste grupo, ao contrário das gimnospermas, ocorre a dupla fecundação. Ou seja, ao penetrar o ovário, um dos gametas masculinos se funde com a oosfera, formando o zigoto enquanto o outro gameta se funde com o dois nucleos polares do saco embrionário produzindo o endosperma que é triploide. Assim, o embrião se desenvolve no interior do saco embrionário e os tegumentos do óvulo se transformam no envoltório da semente.

Nesse gênero, é comum o desenvolvimento de mais de um embrião dentro de uma semente, a que se dá o nome de poliembriõnia (Souza et al., 2005 a), sendo que esses embriões supranumerários podem ter origem sexuada ou partenogênica.

Segundo Maheshwari (1971), os embriões supranumerários podem ser originados a partir de células do nucelo ou dos tegumentos, por clivagem do zigoto ou do proembrião e por diferenciação de células do suspensor. Podem ser derivados de células do saco embrionário diferentes da oosfera, e também podem decorrer do desenvolvimento de mais de um saco embrionário em um mesmo óvulo.

No caso de *Tabebuia ochracea*, os embriões supranumerários têm origem adventícia, originando-se de tecidos do óvulo, a partir de células da hipóstase e do tegumento da região micropilar do óvulo, sendo que alguns dos embriões adventícios apresentaram alterações morfoanatômicas (Costa et al., 2004). Já os embriões adventícios de *T. chrysotricha* formam-se de células da hipóstase, sendo que cada semente possui de dois a quatro embriões, embora a frequência maior seja sementes com um ou dois embriões.

Alterações durante o desenvolvimento embrionário podem afetar o processo de germinação de forma que a produção de mudas de alto vigor depende tanto das características intrínsecas da semente madura, como também de diversos fatores que podem afetar o processo de germinação.

1.3 FATORES QUE INFLUENCIAM NA GERMINAÇÃO

A germinação consiste em um processo complexo pelo qual o embrião retoma o seu desenvolvimento, envolvendo uma sequência de eventos fisiológicos controlados por fatores endógenos e exógenos à semente (Bewley e Black, 1994) que, por fim, resultam na formação das estruturas essenciais do embrião e no rompimento do tegumento pela raiz primária. Isso ocorre porque a embebição da semente estimula a síntese de enzimas ou ativa as enzimas preexistentes, levando à mobilização de reservas. Com a ativação do metabolismo dos tecidos embrionários inicia-se a divisão celular e o aumento do tamanho das células (Taiz e Zeiger, 2010)

Para que ocorra a germinação, cada espécie exige condições específicas, fazendo com que esse processo dependa de diversos fatores que podem estar relacionados tanto às especificidades genéticas de cada espécie (Bewley e Black, 2004) ou matrizes (Santos, 2007) como a fatores ambientais (Nassif et al., 2004) e de armazenamento (Cabral et al., 2003), aos quais as sementes são submetidas.

Esses fatores são decisivos para a germinação, podendo interferir na viabilidade, longevidade e germinabilidade da semente. Entre eles, deve-se considerar a disponibilidade de água, a luminosidade e temperatura, a viabilidade da semente, além de fatores químicos e bióticos.

A disponibilidade de água é o principal fator para o desenvolvimento do embrião e para o início da germinação, considerando-se que o embrião não cresce sem que ocorra a embebição da semente, isso porque a entrada de água na semente gera a pressão de turgescência necessária para a expansão celular e a retomada do metabolismo da semente. Vale ressaltar que a quantidade de água que entra no tecido varia dependendo da espécie (Bewley e Black, 1994) sendo determinada pela composição da semente, permeabilidade do tegumento e pela disponibilidade de água no microambiente.

Outro fator importante é a luminosidade, sendo que a resposta germinativa à luz depende da espécie, das condições de maturação, do tempo de armazenamento, da integridade do tegumento e da temperatura (Bewley e Black, 1994). Segundo Santos et al. (2005 b), as sementes de *T.chrysotricha* e *Tabebuia roseo-alba* são indiferentes à luz.

A temperatura influencia tanto a quebra da dormência quanto o crescimento embrionário e o seu efeito está relacionado ao processo de mudança da conformação estrutural de enzimas levando a uma alteração em sua capacidade de catálise e, portanto, alterando a velocidade das

reações químicas na célula e ao processo de regulação da expressão gênica. Este último processo pode levar à expressão de proteínas como as proteínas de choque térmico (HSP), que estão relacionadas à estabilização da estrutura tridimensional das proteínas (Raven, 2007)

Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), a temperatura afeta o processo germinativo de três maneiras distintas: sobre o total de germinação, sobre a velocidade de germinação e sobre a uniformidade de germinação, sendo que, em geral, a velocidade de germinação é mais sensível à variações de temperatura que a porcentagem de germinação. De acordo com Marques et al. (2004) sementes de *T. chysotricha* apresentam boa germinação sobre papel a 25°C e sob luz constante.

Entre os fatores intrínsecos, pode-se destacar a viabilidade da semente, ou seja, sua capacidade de reter seu potencial germinativo e a longevidade, que corresponde ao período máximo em que as sementes mantêm sua viabilidade quando armazenadas sob condições ambientais ideais.

As sementes ortodoxas, ou seja, aquelas que sofrem desidratação e adquirem tolerância ao dessecamento, apresentam maior longevidade quando armazenadas em ambiente com baixa umidade e temperatura. Já as recalcitrantes possuem um comportamento, geralmente, imprevisível quando submetidas ao armazenamento. De modo geral, essas sementes mantêm teores elevados de água e taxa metabólica durante toda a fase de maturação. Após a dispersão, ativam precocemente a maquinaria metabólica provocando uma demanda crescente por água levando o embrião à uma condição de estresse hídrico. Vale ressaltar que há comportamentos intermediários (Ellis et al., 1990).

1.4 CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Tabebuia chysotricha* (Mart. Ex DC.)Standl.

As espécies florestais apresentam, em geral, produção irregular de sementes, sendo abundante em um ano e escasa em outros. Por essa razão, depois de serem colhidas devem ser armazenadas de maneira a atrasar ao máximo o processo de deterioração.

Ao iniciarem a fase de dispersão, as sementes maduras de *T.chysotricha* apresentam baixa longevidade, dificultando o estabelecimento de técnicas de cultivo para o reflorestamento de áreas degradadas, além de limitar sua dispersão natural (Pinto et al., 1986).

Desta forma, muitos trabalhos vem procurando desenvolver técnicas eficazes na conservação a longo prazo dessas sementes. Isso

porque em sementes armazenadas em condições adequadas, a velocidade do processo de deterioração pode ser diminuída, permitindo a conservação da viabilidade das mesmas por período mais prolongado.

Entretanto, a longevidade das sementes submetidas ao armazenamento depende de vários fatores, entre eles estão o teor de água da semente, a temperatura do armazenamento e o comportamento fisiológico das sementes submetidas ao armazenamento. Uma vez que condições de elevada umidade relativa do ar podem proporcionar o reinício das atividades metabólicas do embrião, enquanto que temperaturas elevadas ocasionam aumento da atividade respiratória e esgotamento das substâncias de reservas acumuladas (Bewley e Black, 1984)

As sementes da espécie florestal *T.chrysotricha* não apresentam dormência e são consideradas ortodoxas, ou seja, toleram o dessecamento a baixos teores de umidade (3% a 7%), sem danos a sua viabilidade, o que permite o seu armazenamento em nitrogênio líquido (Tresana et al., 2008).

A capacidade de germinação das sementes ortodoxas decai durante o armazenamento em decorrência de fatores como; diminuição da quantidade de reservas da semente, acumulação de compostos tóxicos, degradação e inativação de enzimas e alterações cromossômicas (Almeida et al., 2000).

Esses fatores podem ser evitados ao se submeter as sementes ao armazenamento em nitrogênio líquido (-196°C), isso porque nessa condição de temperatura, os processos metabólicos como a respiração celular e a atividade enzimática são paralisados, impedindo o processo de deterioração da semente (Tresana et al., 2008).

Além disso, a longevidade das sementes assim como o potencial de armazenamento e vigor são influenciados pela composição química da mesma, de forma que o armazenamento sob condições inadequadas pode levar à alterações da capacidade germinativa, velocidade de germinação e vigor das mudas (Silva et al., 2010).

Acredita-se que a baixa longevidade natural das sementes de ipê está relacionada à pequena quantidade de substâncias de reserva armazenadas na semente (Kageyama e Marquez, 1981) e ao elevado teor de óleo em sua composição química. De acordo com Harrington (1972), sementes ricas em óleo perdem a viabilidade com maior facilidade que as ricas em proteínas e carboidratos, devido à maior instabilidade daquele componente.

Assim, considerando-se a importância ecológica e econômica de *T.chrysotricha*, a baixa longevidade de suas sementes e as

dificuldades em se obter mudas de alto vigor após longos períodos de armazenamento faz-se necessário estabelecer as condições ideais de armazenamento, para a manutenção da viabilidade das sementes, a biodiversidade das espécies e a disponibilidade constante de mudas para a recuperação ou enriquecimento de áreas degradadas.

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes condições de armazenamento de sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex. DC.)Standl., por diferentes períodos sobre a viabilidade das sementes e compostos de armazenamento.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar o teor de água das sementes de *T.chrysotricha* antes e após os diferentes períodos de armazenamento em temperatura ambiente, geladeira, freezer, congelador e nitrogênio líquido, durante 2, 4 e 6 meses.

Avaliar a viabilidade das sementes, através de testes de germinação, após diferentes tempos de armazenamento em 0°C (congelador), -20° (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente), durante 2, 4 e 6 meses.

Estabelecer o teor de água e a viabilidade das sementes de *T. chrysotricha* após a imersão em nitrogênio líquido, manutenção em temperatura ambiente por 0,1,2,3 e 4 semanas e recolocadas no nitrogênio líquido, visando determinar a tolerância à segunda imersão em nitrogênio líquido. Estes experimentos foram realizados para verificar se, após serem removidas do nitrogênio líquido pela primeira vez, as sementes poderiam ficar em temperatura ambiente e serem novamente criopreservadas, sem prejudicar a viabilidade, o que poderia acontecer no caso hipotético de precisarem ser transportadas para outra localidade.

Determinar o efeito do armazenamento das sementes de *T.chrysotricha* em temperatura ambiente, por 3 semanas e 6 meses sobre a germinação e os níveis de açúcares solúveis totais e amido nas sementes de *T.chrysotricha* mantidas em temperatura ambiente após 3 semanas.

Avaliar o efeito do armazenamento das sementes de *T. chrysotricha* em temperatura ambiente, geladeira, freezer, congelador e nitrogênio líquido, durante 6 meses, sobre a germinação e os níveis de açúcares solúveis totais e amido.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 GERMINAÇÃO DE SEMENTES SUBETIDAS AO ARMAZENAMENTO

3.1.1 Material vegetal

Foram utilizadas sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex. DC.)Standl., obtidas em dezembro de 2012 (dois mil e doze) da Empresa Flora Tietê Associação de Recuperação Florestal – Penápolis/SP, onde as sementes foram coletadas entre julho e agosto de 2012 (dois mil e doze). Após a coleta, as sementes foram armazenadas em tambores de papelão com paredes revestidas internamente por uma camada de papel alumínio, sendo a temperatura média do local de 7°C e a umidade relativa de 25%.

3.1.2 Determinação do teor de água das sementes

O teor de água das sementes foi determinado no momento da montagem dos experimentos de germinação, logo que chegaram ao laboratório e após os períodos de armazenamento. As sementes foram pesadas em balança de precisão, para ser avaliada a massa fresca e em seguida foram colocadas em estufa para secar, por um período de 16 horas a 103°C. Em seguida, foram pesadas novamente para a determinação da massa seca (Reed et al., 2001).O teor de água foi expresso em porcentagem (%) da massa fresca (Bewley & Black, 1994).

3.1.3 Condições de armazenamento das sementes

As sementes foram armazenadas, por períodos de 2, 4 e 6 meses, em diferentes temperaturas: 0°C (congelador), -20°C (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente). Para o armazenamento a -196°C as sementes foram separadas em pequenos envelopes de papel alumínio, contendo 5 repetições de 25 sementes cada, e em seguida, imersas diretamente em nitrogênio líquido. Para as demais condições as sementes foram armazenadas em sacos zip. N°1 (0.5cm x 8.5cm x 0.08cm) e acondicionados em placas de Petri vedadas com filme de PVC. Para cada tratamento foram armazenadas 5 repetições de 25 sementes cada em esquema fatorial 3x5.

3.1.4 Armazenamento após a criopreservação

As sementes, após terem sido submetidas à imersão em nitrogênio líquido por 60 minutos e descongeladas em temperatura ambiente, os envelopes foram colocados em placas de Petri vedadas

com filme de PVC que ficaram armazenadas a 25°C (temperatura ambiente) por períodos de 1, 2, 3 e 4 semanas. Após cada período de armazenamento foram novamente imersas em nitrogênio líquido por 60 minutos, descongeladas em temperatura ambiente e colocadas para germinar. Foi utilizado esquema fatorial 5x2.

3.1.5 Germinação das sementes

As sementes foram removidas das condições de armazenamento e colocadas para germinar em embalagens Sanpack com dimensões de 18 cm x 12 cm x 5 cm, sobre três folhas de papel toalha embebidas com 40 ml de água destilada. As sementes mantidas em nitrogênio líquido foram removidas desta condição e expostas à temperatura ambiente, por 30 minutos (descongelamento lento), antes de serem colocadas para germinar nas condições acima. Os experimentos foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura (25±2°C), sob Lâmpadas Fluorescentes e umidade relativa de 70%. As porcentagens de germinação das sementes foram avaliadas diariamente até a estabilização da germinação. Foram utilizadas 5 repetições de 25 sementes cada por tratamento.

3.1.6 Determinação do Índice de velocidade de germinação (IVG)

Para cada repetição, foi calculado o Índice de velocidade de germinação (IVG) empregando a fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = \sum (ni/ti) \quad (1)$$

Sendo, ni = número de plântulas normais computadas no tempo “i”; ti = número de dias da semente até o tempo “i”.

O índice de velocidade de germinação, para cada tratamento considerado, foi a média aritmética das 5 repetições de 25 sementes.

3.1.7 Determinação do Tempo médio de germinação (TMG)

Para cada repetição, foi calculado o Tempo médio de germinação (TMG) empregando a fórmula de Labouriau (1983):

$$TMG = (\sum niti)/\sum ni \quad (2)$$

Sendo, ni = número de plântulas normais computadas no tempo “i”; ti = número de dias da semente até o tempo “i”.

O tempo médio de germinação de germinação (TMG), para cada tratamento considerado, foi a média aritmética das 5 repetições de 25 sementes.

3.1.8 Análise de crescimento das plântulas obtidas a partir das sementes armazenadas por 6 meses em diferentes condições

As plântulas obtidas a partir da germinação das sementes submetidas à 6 meses de armazenamento nas condições de 0°C (congelador), -20°C (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente) foram avaliadas após 20 dias do plantio. Os parâmetros avaliados foram; comprimento da parte aérea e da raiz principal, número de folhas, massa seca e massa fresca. Para isso, foram utilizadas 10 plântulas normais, escolhidas ao acaso, de cada tratamento.

O comprimento da parte aérea da plântula foi obtido com o auxílio de uma régua graduada em milímetros, medindo da região do colo até o ápice. Para a obtenção do comprimento da raiz primária, utilizou-se uma régua graduada em milímetros, medindo-se da extremidade da raiz até a inserção do colo. Após a medição do comprimento das plântulas, essas foram pesadas em balança de precisão, colocadas em sacos de papel, posteriormente, foram levadas à estufa a 80 °C, por 48 horas. Após esse período, foram pesadas novamente, para a obtenção dos valores de massa seca. A partir dos valores de massa seca e massa fresca, foi obtido o teor de água em porcentagem (%) da massa fresca (Bewley & Black, 1994).

3.2 EXTRAÇÃO E DOSAGEM DE AÇÚCARES SOLÚVEIS TOTAIS E AMIDO

Os experimentos de extração e dosagem de açúcares solúveis totais e amido foram conduzidos em sementes armazenadas em temperatura ambiente, por 3 semanas e em sementes armazenadas por 6 meses em temperatura ambiente, geladeira, freezer, congelador e nitrogênio líquido. Amostras de 5 repetições de cada tratamento, aproximadamente 300 mg de sementes foram submetidas à extração conforme os procedimentos descritos por Santos et al. (2010), com modificações. As sementes foram maceradas em nitrogênio líquido e em seguida colocadas em 2,4 ml de água destilada. O macerado foi colocado em tubos falcon e submetido, por 30 minutos ao sonicador, sendo, em seguida, mantido em banho maria a 40°C, durante 30 minutos, após o que foi centrifugado a 3 rpm por 30 minutos.

3.2.1 Dosagem de açúcares solúveis totais (AST)

A metodologia descrita por Yemm e Willis (1954) foi utilizada para determinar o teor de açúcares solúveis totais (AST). Para tal, 50 µL de extrato foram diluídos em 50 µL de água destilada. Em seguida, foram retiradas alíquotas de 0,02 mL, sendo adicionadas a 0,98 mL de água destilada e 2 mL do reagente antrona (20 mg de antrona, 0,5 mL de água destilada e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado), em tubos de ensaio, sendo agitados em vórtex e aquecidos em banho-maria a 100° C, por 5 minutos. Feito isso, procedeu-se à leitura das amostras a 630 nm, em leitor de microplacas. A quantificação dos AST foi feita a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL-1 ($r^2= 0,99$; $y = 0,340x$). Os resultados foram expressos em mg de glucose por g de massa seca.

3.2.2 Dosagem de amido

A metodologia descrita por Yemm e Willis (1954), foi utilizada para determinar o teor de amido. Ao resíduo da centrifugação do extrato bruto, estabelecido conforme o item 3.2, foi adicionado 1 mL de ácido perclórico 30 % (v/v), permanecendo em repouso por 1 hora, seguido de centrifugação a 3 rpm por 20 min. Em seguida, 50µL do extrato foram diluídos em 50µL de ácido perclórico 30 % (v/v). Feito isso, foi coletado 0,02 mL deste resíduo, sendo acrescido 0,98 mL de água destilada e 2 mL do reagente antrona. Esta solução foi agitada em vórtex e aquecida em banho-maria a 100 °C, por 5 minutos. Por fim, procedeu-se à leitura das amostras a 630 nm, em leitor de microplacas. A quantificação do teor de amido foi feita a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL-1 ($r^2= 0,99$; $y = 0,35x$). Os resultados foram expressos em mg de glucose por g de massa seca.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram montados seguindo-se o delineamento estatístico completamente casualizado. Os resultados foram analisados ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o teste t, quando a comparação se restringiu a apenas dois tratamentos, ou a Análise de Variância (ANOVA), com separação das médias pelo Teste de Tukey, ao nível de 5%, para comparação de mais de dois tratamentos. Os dados de germinação foram transformados em arcoseno \sqrt{b} antes de serem submetidos aos testes estatísticos (Gómez e Gómez, 1984). Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa de software Statística, versão 7.0 e para as curvas de germinação foi utilizado o programa Microsoft Office Excel 2010.

4 RESULTADOS

4.1. GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex. DC)Standl.

4.1.1 Efeito do tempo e dos tipos de armazenamento sobre o teor de água e germinação das sementes de *T. chrysotricha*

4.1.1.1 Efeito do tempo e dos tipos de armazenamento sobre o teor de água das sementes de *T. chrysotricha*.

Os resultados da Tabela 1 indicam que o teor de água das sementes no início do experimento, antes de serem submetidas aos diferentes tipos de armazenamento, foi significativamente superior (7.88%) em relação aos armazenamentos, por 2 meses a 25°C (temperatura ambiente; 4.14%) e -196°C (nitrogênio líquido; 4.53%) e em relação aos armazenamentos, por 4 meses, a 25°C (temperatura ambiente; 4.34%) e 5°C (geladeira; 4.07%). Não foram observadas diferenças estatísticas entre os demais tratamentos. Assim, para cada período de armazenamento, a temperatura de armazenamento não influenciou no teor de água e o período de armazenamento (2, 4 e 6 meses) não afetou o teor de água.

Tabela 1. Teores de água de sementes de *T. chrysotricha* no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C), congelador (0°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C) durante 2, 4 e 6 meses

Período de armazenamento (meses)	Tratamento	Teor água (% MF) ^z
0	Controle	7.88 a
2	25°C	4.14 b
	5°C	4.72 ab
	0°C	5.44 ab
	-20°C	5.32 ab
	-196°C	4.53 b
4	25°C	4.34 b
	5°C	4.07 b
	0°C	5.40 ab
	-20°C	6.98 ab
	-196°C	5.59 ab
6	25°C	5.78 ab
	5°C	4.70 ab
	0°C	5.74 ab
	-20°C	6.55 ab
	-196°C	5.23 ab

^z Médias de 5 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. MF= massa fresca.

4.1.1.2 Efeito do tempo e dos tipos de armazenamento sobre a germinação das sementes de *T. chrysotricha*.

Os resultados da Figura 1 indicam que após 2 meses de armazenamento em 0°C (congelador), -20°C (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente) os valores máximos de germinação das sementes de *T. chrysotricha* foram 98.4%, 96.8%, 97.6%, 97,6% e 94.4%, respectivamente. Não foi constatada diferença estatística significativa entre as diversas condições de armazenamento, após o período de 2 meses. Em todos os tratamentos as

taxas máximas de germinação estabilizaram-se por volta do nono e décimo dia de avaliação.

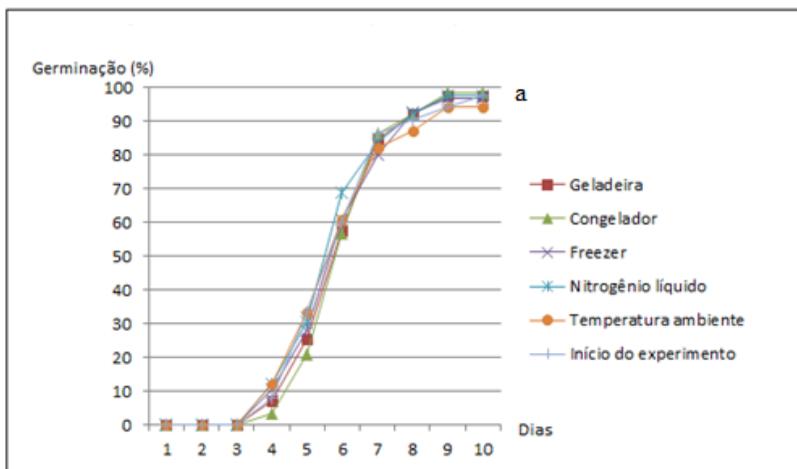


Figura 1. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotricha* no início dos experimentos e após 2 meses de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da Figura 2 indicam que após 4 meses de armazenamento em 0°C (congelador), -20°C (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente) os valores máximos de germinação das sementes de *T.chrysotricha* foram 94.4%, 98.4%, 94.4%, 97.6% e 96%, respectivamente.

Não foram constatadas diferenças estatísticas significativas entre as porcentagens máximas de germinação entre as diversas condições de armazenamento, após o período de 4 meses. No tratamento com nitrogênio líquido a porcentagem máxima de germinação pareceu estabilizar-se por volta do nono dia de avaliação, seguindo o mesmo padrão das sementes do controle realizado no início dos experimentos, em que as sementes não foram armazenadas.

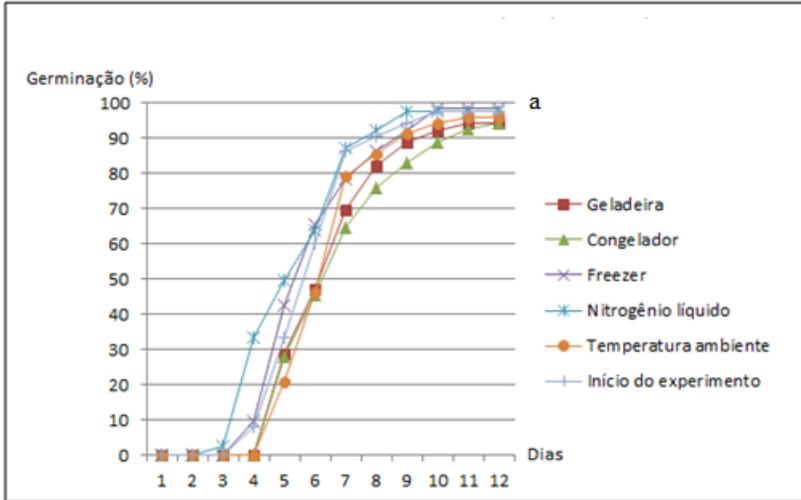


Figura 2. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotrichano* início dos experimentos e após 4 meses de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Os resultados da Figura 3 indicam que após 6 meses de armazenamento a 0°C (congelador), -20°C (freezer), 5°C (geladeira), -196°C (nitrogênio líquido) e 25°C (temperatura ambiente) os valores máximos de germinação das sementes de *T. chrysotricha* foram 98.4%, 98.4%, 97.6%, 98.4%, 94.4% respectivamente. Não foram detectadas diferenças estatísticas significativas entre as diversas condições de armazenamento, após o período de 6 meses. Em todos os tratamentos as porcentagens máximas de germinação estabilizaram-se por volta do décimo dia da avaliação.

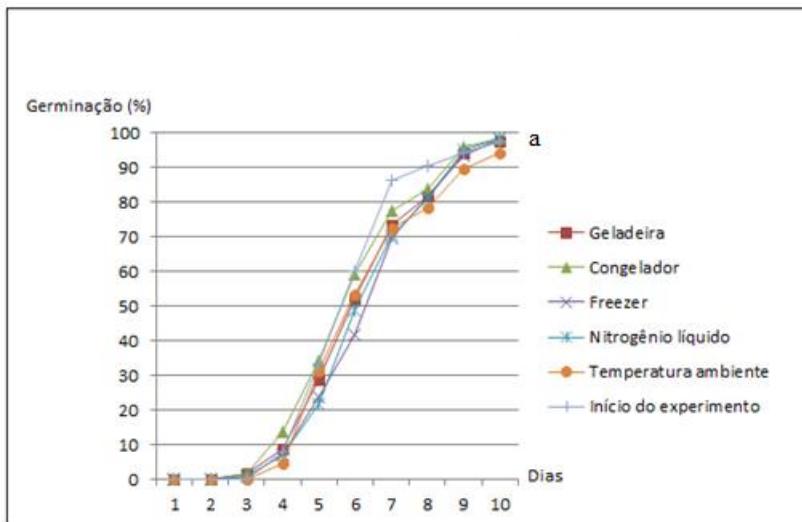


Figura 3. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotricha* no início dos experimentos e após 6 meses de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A análise de variância bifatorial indicou não haver, nos períodos analisados, efeito de interação entre os fatores tempo de armazenamento e tipo de armazenamento sobre a porcentagem máxima de germinação.

Na Tabela 2 observa-se que não houve diferença estatística entre as taxas de germinação máximas dos diferentes tratamentos.

Tabela 2. Porcentagens máximas de germinação de sementes de *T. chrysotricha* no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido) durante 2, 4 e 6 meses.

Período de armazenamento (meses)	Tratamento	Germinação máxima(%)^z
0	Controle	97.60 a
2	25°C	94.40 a
	5°C	97.60 a
	0°C	96.00 a
	-20°C	96.80 a
	-196°C	97.60 a
4	25°C	95.20 a
	5°C	94.40 a
	0°C	94.40 a
	-20°C	98.40 a
	-196°C	97.60 a
6	25°C	94.40 a
	5°C	97.60 a
	0°C	98.40 a
	-20°C	98.40 a
	-196°C	98.40 a

^z Médias de 5 repetições de 25 sementes cada seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.1.1.3 Efeito do tempo e dos tipos de armazenamento sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de *T. chrysotricha*.

A análise de variância bifatorial indicou haver interação entre os fatores tempo de armazenamento e tipos de armazenamento sobre o IVG das sementes, conforme indica a Tabela 3.

Tabela 3. Fatores e interações entre fatores para o tempo médio de germinação (IVG) de sementes de *T.chrysostricha* armazenadas em diversas condições por 0, 2,4 e 6 meses segundo a Análise de variância (ANOVA) bifatorial.

Efeito	Graus de liberdade	F	p
Tempo	3	3.40	0.02*
Tratameto	4	6.36	0.00*
Tempo*tratamento	12	6.12	0.00*

* Significativo a 5% de probabilidade

Observa-se, na Tabela 4 que, aos 2 meses de armazenamento, não houve diferença estatística entre os IVGs dos diferentes tipos de armazenamento, tampouco esses diferiram do controle (4.14).

Após 4 meses de armazenamento, entretanto, o valor de IVG do tratamento de armazenamento em -196°C (nitrogênio líquido; 4.68) foi significativamente superior aos obtidos nos tratamentos de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira) e 0°C (congelador), mas não diferiu significativamente do valor obtido para o armazenamento a -20°C (freezer; 4.17).

Verifica-se ainda que o IVG das sementes submetidas a -196°C (nitrogênio líquido), aos 4 meses, mostrou-se estatisticamente superior ao IVG do controle, no início do experimento, e que o valor de IVG do tratamento a -20°C (freezer) foi significativamente maior que o das sementes armazenadas a 0°C (congelador). Aos 4 meses de armazenamento o IVG das sementes mantidas a -196°C (nitrogênio líquido; 4.68) foi superior ao controle (4.14), no início do experimento e o IVG das sementes mantidas a 0°C (congelador; 3.55) foi inferior ao controle.

Aos 6 meses não houve diferença estatística entre os IVGs obtidos nas diferentes condições de armazenamento e os valores não diferiram significativamente do valor de 4.14 obtido para o controle, no início do experimento.

Observa-se que não houve diferença significativa entre os valores de IVG das sementes mantidas a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira) e -20°C (freezer), nos diferentes tempos de armazenamento. Já nas condições de 0°C (congelador) o IVG das sementes aumentou de 3.55, no quarto mês de armazenamento, para 4.21, no sexto mês, enquanto que a -196°C (nitrogênio líquido) notou-se uma diminuição do IVG de 4.68 para 3.90.

Tabela 4. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *T. chrysotricha* no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira), 0°C (congelador), -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido) durante 2, 4 e 6 meses.

Período de armazenamento (meses)	Tratamento	IVG^z
0	Controle	4.14 bc
	25°C	4.05 bcd
	5°C	3.92 bcd
2	0°C	3.83 bcd
	-20°C	4.07 bcd
	-196°C	4.19 abc
4	25°C	3.67 bcd
	5°C	3.66 cd
	0°C	3.55 d
4	-20°C	4.17 abc
	-196°C	4.68 a
	25°C	3.85 bcd
6	5°C	4.01 bcd
	0°C	4.21 ab
	-20°C	3.87 bcd
6	-196°C	3.90 bcd

^z Médias de 5 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.1.1.4 Efeito do tempo e dos tipos de armazenamento sobre o tempo médio de germinação (TMG) das sementes de *T. chrysotricha*.

A análise de variância bifatorial indicou haver efeito da interação entre os fatores tempo de armazenamento e tipos de armazenamento sobre os valores de TMG das sementes, conforme indica a Tabela 5.

Tabela 5. Fatores e interações entre fatores para o tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *T.chrysotricha* armazenadas em diversas condições por 0, 2,4 e 6 meses segundo a Análise de variância (ANOVA) bifatorial.

Efeito	Graus de liberdade	F	p
Tempo	3	3.03	0.03*
Tratameto	4	4.08	0.00*
Tempo*tratamento	12	2.50	0.01*

* Significativo a 5% de probabilidade

Verifica-se na Tabela 6 que aos 2 meses de armazenamento, não houve diferença estatística entre os valores de TMG obtidos para as sementes armazenadas nas diversas condições e os valores variaram de 6.17 a 6.54 dias. Tais valores também não diferiram do controle.

Aos 4 meses de armazenamento verifica-se que o valor de TMG para as sementes armazenadas em 0°C (congelador; 7.34) foi superior ao controle (6.18) e aos tratamentos de -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido), mas não diferiu dos demais tipos de armazenamento. O valor de TMG das sementes armazenadas a -196°C (nitrogênio líquido; 5.63) foi inferior aos obtidos para as sementes armazenadas a 25°C (geladeira; 6.92) e a 0°C (congelador; 7.34).

Aos 6 meses de armazenamento não houve diferença estatística entre as diferentes condições e entre essas condições e o controle, no início do experimento.

Quando se analisa, para cada condição de armazenamento, os valores de TMG no decorrer do tempo observa-se que em nenhuma das condições foram detectadas variações significativas.

Os TMGs não diferiram estatisticamente do controle.

Tabela 6. Tempos médios de germinação (TMG) de sementes de *T. chrysotricha* no início do experimento (controle) e submetidas ao armazenamento em temperatura ambiente (25°C), geladeira (5°C), congelador (0°C), freezer (-20°C) e nitrogênio líquido (-196°C) durante 2, 4 e 6 meses.

Período de armazenamento (meses)	Tratamento	TMG^z
0	Controle	6.18 bc
2	25°C	6.23 bc
	5°C	6.37 abc
	0°C	6.54 abc
	-20°C	6.28 abc
	-196°C	6.17 bc
4	25°C	6.65 abc
	5°C	6.92 ab
	0°C	7.34 a
	-20°C	6.24 bc
	-196°C	5.63 c
6	25°C	6.50 abc
	5°C	6.51 abc
	0°C	6.27 abc
	-20°C	6.76 ab
	-196°C	6.13 bc

^z Médias de 5 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.1.1.5 Análise de crescimento das plântulas obtidas a partir de sementes submetidas a diferentes tipos de armazenamento por 6 meses.

Os resultados da Tabela 7 indicam que não houve diferença estatística quanto ao comprimento da parte aérea das plântulas produzidas a partir da germinação das sementes armazenadas, por 6 meses, nas diferentes condições. Entretanto, os comprimentos das raízes primárias das plântulas oriundas das sementes mantidas nas condições

de 5°C (geladeira) foram menores do que as das raízes das plântulas produzidas a partir das sementes mantidas a 25°C (temperatura ambiente; 8.53 cm) e a -196°C (nitrogênio líquido; 8.49 cm) mas não diferiram dos valores obtidos para as sementes mantidas a 0°C (congelador) e -20°C (freezer), conforme indica a Tabela 7.

Aos 6 meses de armazenamento das sementes não se observou redução estatisticamente significativa do teor de água das plântulas desenvolvidas. Quanto ao número de folhas, as plântulas originadas a partir da germinação das sementes armazenadas a 25°C (temperatura ambiente) e -20°C (freezer) apresentaram números de folhas superiores ao das plântulas oriundas das sementes armazenadas a -196°C (nitrogênio líquido).

Tabela 7. Valores de massas seca e fresca (mg), porcentagem de massa seca, número de folhas, comprimento da parte aérea e da raiz (cm) de plântulas cujas sementes foram submetidas a 6 meses de armazenamento.

Tratamento	MF (mg) ^z	MS (mg) ^z	Teor		Comprimento	
			água (%MF) ^z	Número de folhas ^z	parte aérea (cm) ^z	Comprimento da raiz (cm) ^z
25°C	201.5	48.5	75.93 a	5.80 a	3.43 a	8.53 a
5°C	195.4	25.4	87.00 a	5.40 ab	3.40 a	5.22 b
0°C	141.5	31.2	77.90 a	5.50 ab	3.15 a	7.35 ab
-20°C	189.6	38.1	79.90 a	5.70 a	3.08 a	6.76 ab
-196°C ^o	215.2	46.2	78.53 a	4.40 b	2.95 a	8.49 a

^z Médias de 10 repetições seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. MS= massa seca. MF= massa fresca.

4.1.2 Efeito da segunda criopreservação, após o armazenamento por diferentes períodos a 25°C (temperatura ambiente), sobre a viabilidade de sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex. DC) Standl.

Nos experimentos descritos a seguir as sementes foram imersas em nitrogênio líquido por 60 minutos e em seguida mantidas por 1, 2, 3 e 4 semanas em temperatura ambiente, após o que foram imersas novamente em nitrogênio líquido, por 60 minutos e em seguida colocadas para germinar.

Na Figura 4 são apresentados os resultados da segunda criopreservação, após 1 semana de armazenamento a 25°C (temperatura

ambiente). Verifica-se que a porcentagem máxima de germinação desse tratamento foi de 97.6% e não diferiu estatisticamente dos valores obtidos para o tratamento em que as sementes foram criopreservadas e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 1 semana (98.4%) e nem dos valores obtidos para o controle (97.6%), realizado no início do experimento e do tratamento de criopreservação por 60 minutos. Verifica-se também que, ao redor do quarto dia do início do experimento, as porcentagens de germinação das sementes criopreservadas e mantidas por 1 semana a 25°C (temperatura ambiente) e daquelas que foram criopreservadas pela segunda vez foi de 30-40%, enquanto que as sementes do controle e aquelas criopreservadas por 1 hora, as taxas de germinação foram de 10-20%.

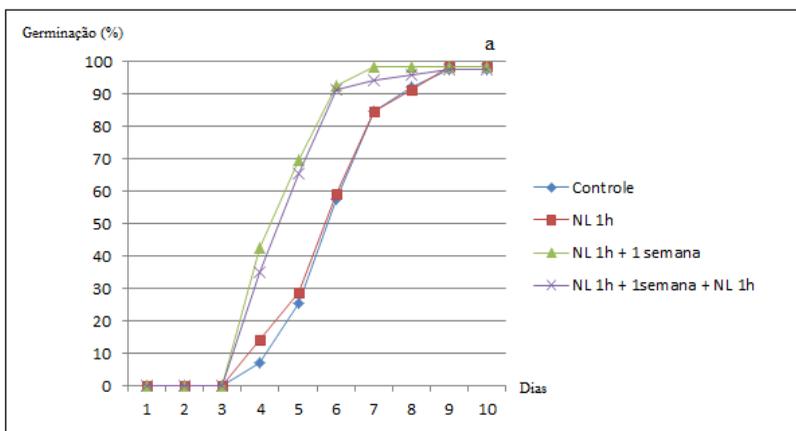


Figura 4. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 1 semana, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da Figura 5 indicam que não houve diferença significativa entre a porcentagem máxima de germinação obtida para o tratamento da segunda criopreservação, após o armazenamento das sementes por 2 semanas a 25°C (temperatura ambiente; 96%) e a obtida no tratamento em que as sementes foram submetidas à primeira criopreservação, seguida de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente; 96.8%) pelo mesmo período. Tais valores também não diferiram estatisticamente do controle (97.6%), no início do

experimento, e do tratamento em que as sementes foram criopreservadas por 1 h (98.4%).

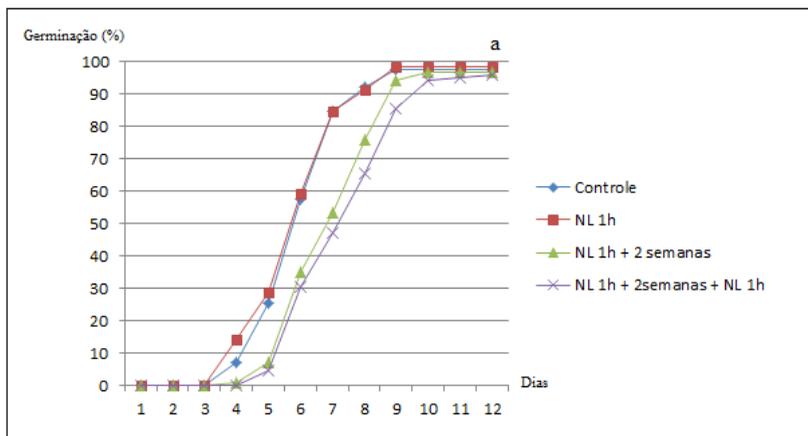


Figura 5. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 2 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Verifica-se, na Figura 6, que a porcentagem máxima de germinação observada para o tratamento em que as sementes foram expostas à segunda criopreservação, após 3 semanas de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) foi de 89.6%, não diferiu significativamente do valor obtido para o tratamento em que as sementes ficaram armazenadas a 25°C (temperatura ambiente) por 3 semanas, após a primeira criopreservação (94.4%).

Observa-se também que a primeira criopreservação seguida do armazenamento por 3 semanas a 25°C (temperatura ambiente), seguida ou não da segunda criopreservação reduziu as taxas máximas de germinação das sementes em relação ao controle (97.6%) e em relação ao tratamento em que as sementes foram criopreservadas por 1h (98.4%).

A análise estatística não indicou diferença significativa entre o tratamento de armazenamento por 3 semanas, após a primeira criopreservação e o tratamento de criopreservação por 1h, mas indicou diferença entre este tratamento e o tratamento em que foi realizada a segunda criopreservação.

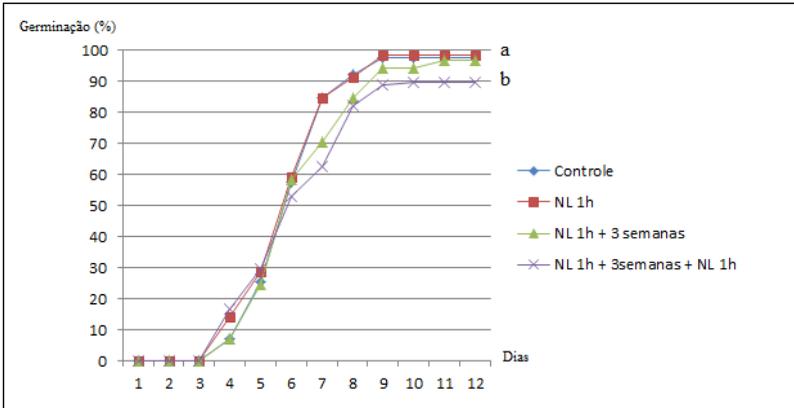


Figura 6. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 3 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados da Figura 7 indicam que a porcentagem máxima de germinação obtida para o tratamento em que as sementes foram criopreservadas pela segunda vez, após 4 semanas de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) foi de 85.6%. Este valor não diferiu significativamente do obtido para o tratamento em que as sementes ficaram armazenadas por 4 semanas a 25°C (temperatura ambiente), após a primeira criopreservação (90.4%) mas estes valores diferiram estatisticamente do controle (97.6%), no início do experimento e do tratamento de criopreservação por 1 h (98.4%).

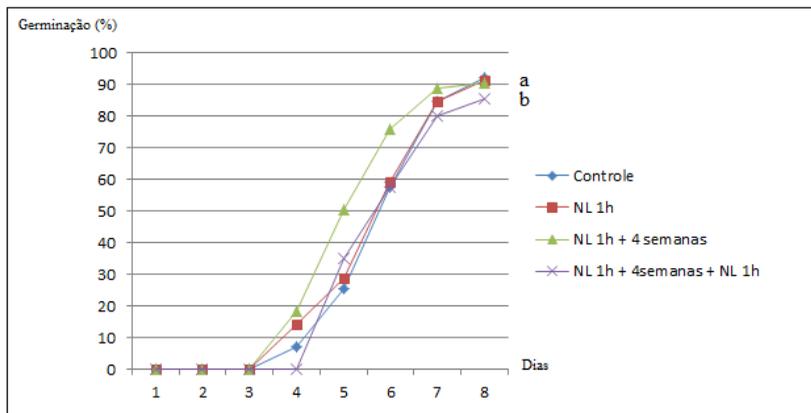


Figura 7. Germinação de sementes de *Tabebuia chrysotricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A análise de variância bifatorial indicou não haver interação entre os fatores tempo de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) e número de criopreseruações. As análises indicaram haver efeito apenas do fator tempo sobre a porcentagem de germinação das sementes, sendo o valor de F igual a 7.858 e p igual a 0.000090, conforme expresso na Tabela 8.

Tabela 8. Fatores e interações entre fatores para a porcentagem de germinação de sementes de *T.chrysotricha* submetidas à criopreservação segundo a Análise de variância bifatorial.

Efeito	Graus de liberdade	F	p
Tempo	4	7.858	0.000090*
Tratamento	1	1.377	0.247499
Tempo*tratamento	4	0.601	0.664311

* Significativo a 5% de probabilidade

Na Figura 8, em que se compara as médias das porcentagens máximas de germinação para o armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 0, 1, 2, 3 e 4 semanas verifica-se que o armazenamento, por 4 semanas reduziu significativamente a germinação em relação aos demais tempos de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente).

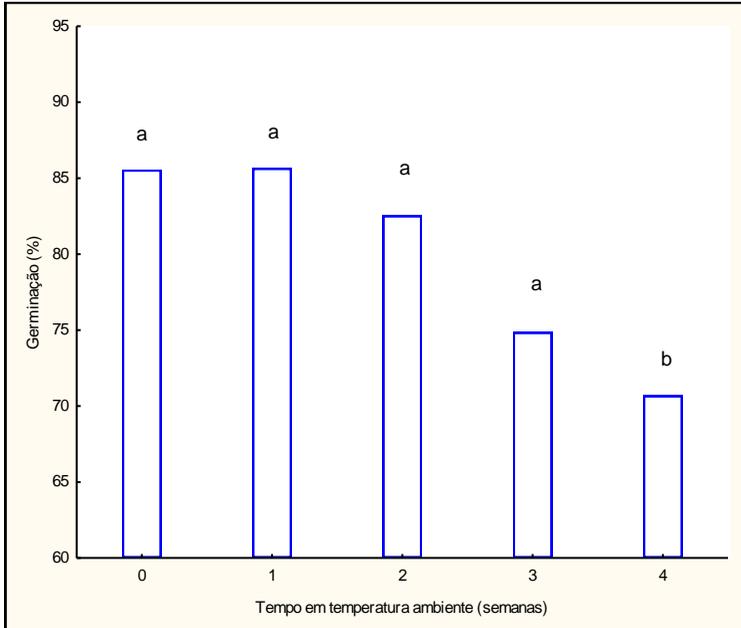


Figura 8. Germinação de sementes de *T. chrysotricha* após o do armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 1,2,3 e 4 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 9 são comparados os resultados de porcentagens máximas de germinação de todos os tratamentos indicando que o armazenamento das sementes a 25°C (temperatura ambiente) por 4 semanas reduziu significativamente a germinação das sementes criopreservadas pela segunda vez, mas essas não diferiram da porcentagem de germinação das sementes armazenadas a 25°C (temperatura ambiente) que foram submetida à apenas uma criopreservação.

Tabela 9. Porcentagem de germinação de sementes de *T. chrysotricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas em temperatura ambiente por períodos de 1 a 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação.

Tratamentos	Germinação (%)^z
Controle	97.6 a
NL 1h	98.4 a
NL 1h + 1 semana	98.4 a
NL 1h + 1 semanas + NL 1h	97.6 a
NL 1h + 2 semanas	96.8 a
NL 1h + 2 semanas + NL 1h	96.0 ab
NL 1h + 3 semanas	94.4 ab
NL 1h + 3 semanas + NL 1h	89.6 ab
NL 1h + 4 semanas	90.4 ab
NL 1h + 4 semanas + NL 1h	85.6 b

^z Médias de 5 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. NL= nitrogênio líquido.

A análise de variância bifatorial dos índices de velocidade de germinação indicou não haver interação significativa entre os fatores tempo e número de criopreservações. Houve apenas o efeito do fator tempo sobre o índice de velocidade de germinação das sementes, sendo o valor de F igual a 33.696 e p igual a 0.000000 (Tabela 10).

Tabela 10. Fatores e interações entre fatores para o índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *T.chrysotricha* submetidas à criopreservação segundo a Análise de variância bifatorial.

Efeito	Graus de liberdade	F	p
Tempo	4	33.696	0.000000*
Tratamento	1	3.494	0.068924
Tempo*tratamento	4	1.666	0.176912

* Significativo a 5% de probabilidade

Assim, não houve diferença estatística entre IVG das sementes submetidas a apenas uma imersão em nitrogênio líquido e àquelas submetidas à segunda imersão, para um mesmo período de armazenamento, conforme indica a Tabela 11

Tabela 11. Índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de *T. chrysotricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas em temperatura ambiente por períodos de 1 a 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação.

Tratamentos	IVG
Controle	4.03 ab
NL 1h	4.16 ab
NL 1h + 1 semana	5.18 a
NL 1h + 1 semanas + NL 1h	4.99 a
NL 1h + 2 semanas	3.36 b
NL 1h + 2 semanas + NL 1h	3.15 b
NL 1h + 3 semanas	3.82 b
NL 1h + 3 semanas + NL 1h	3.79 b
NL 1h + 4 semanas	4.32 ab
NL 1h + 4 semanas + NL 1h	3.67 b

^z Médias de 5 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Entretanto, a análise de variância indicou que o fator tempo interferiu nos valores de IVG das sementes de forma que houve uma redução do IVG para valores ao redor de 3, quando as sementes foram armazenadas por períodos de 2 a 4 semanas após a primeira e após a segunda criopreservação, com exceção do tratamento de armazenamento por 4 semanas após a primeira criopreservação. Apesar de não ter havido diferença estatística entre os valores de IVG para um mesmo período de armazenamento, houve uma tendência dos valores obtidos para os tratamentos em que ocorreu a segunda criopreservação após 2, 3 e 4 semanas serem os menores observados. Também verifica-se que os

IVGs dos tratamentos em que as sementes foram criopreservadas por 1h e os das sementes que foram expostas à primeira criopreservação, seguido do armazenamento por períodos de 1 a 4 semanas a 25°C (temperatura ambiente), apesar de haver um aumento nos valores nos armazenamentos de 2 a 4 semanas os valores de IVG foram, no máximo, ao redor de 4.

Na Figura 9, observa-se uma oscilação na média dos IVGs das sementes armazenadas por 1 e 2 semanas, sendo que os IVGs dos demais tempos de armazenamento não diferiram estatisticamente entre si.

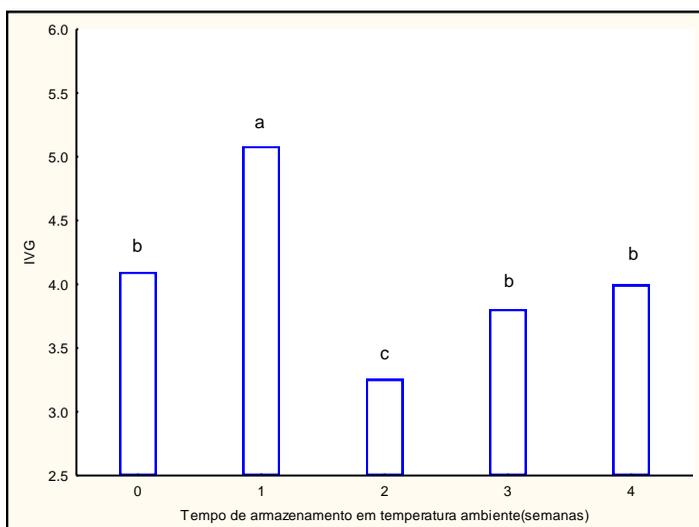


Figura 9. Média dos Índices de Velocidade de Germinação (IVG) de sementes de *T. chrysotricha* após o armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 1,2,3 e 4 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A análise de variância bifatorial dos dados de Tempo Médio de Germinação (TMG) indicou haver efeito do fator tempo, do número de criopreservações e haver interação significativa entre esses dois fatores, como expresso na Tabela 12.

Tabela 12. Fatores e interações entre fatores para o tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *T.chrysotricha* submetidas à criopreservação segundo a Análise de variância bifatorial

Efeito	Graus de liberdade	F	p
Tempo	4	6.937	0.000244*
Tratamento	1	6.371	0.015672*
Tempo*tratamento	4	5.940	0.000754*

*Significativo a 5% de probabilidade

Os resultados da Tabela 13 indicam que apenas em 2 semanas de armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) houve diferença entre os tratamentos em que as sementes foram submetidas a apenas uma criopreservação e aquelas que foram submetidas à segunda criopreservação. Nesse caso houve um aumento do valor de TMG das sementes submetidas à segunda criopreservação.

Os resultados indicam que os valores de TMG das sementes submetidas a apenas uma criopreservação tenderam a ser menores do que os valores de TMG daquelas que foram submetidas à criopreservação, exceto para o armazenamento por 3 semanas.

Tabela 13. Tempo médio de germinação (TMG) de de sementes de *T. chrysostricha* no início dos experimentos (controle), criopreservadas por 1h e de sementes criopreservadas por 1h e mantidas a 25°C (temperatura ambiente) por períodos de 1 a 4 semanas, seguida ou não da segunda criopreservação.

Tratamentos	TMG
Controle	6.37 ab
NL 1h	6.31 ab
NL 1h + 1 semana	4.92 b
NL 1h + 1 semanas + NL 1h	5.11 b
NL 1h + 2 semanas	5.43 b
NL 1h + 2 semanas + NL 1h	8.22 a
NL 1h + 3 semanas	6.61 ab
NL 1h + 3 semanas + NL 1h	6.08 ab
NL 1h + 4 semanas	5.42 b
NL 1h + 4 semanas + NL 1h	6.01 ab

^z Médias de 5 repetições seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Na Figura 10 observa-se os valores médios de TMG das sementes que foram submetidas ao armazenamento por 1, 2, 3 e 4 semanas a 25°C (temperatura ambiente) após a criopreservação por 1h.

Os resultados indicam uma diminuição nos valores médios de TMG no período de 1 semana que não diferiu do valor encontrado na 4ª semana, sendo que os valores médios de TMG das sementes armazenadas 25°C (temperatura ambiente) durante 2, 3 e 4 semanas não diferiram do valor encontrado naquelas que não foram armazenadas.

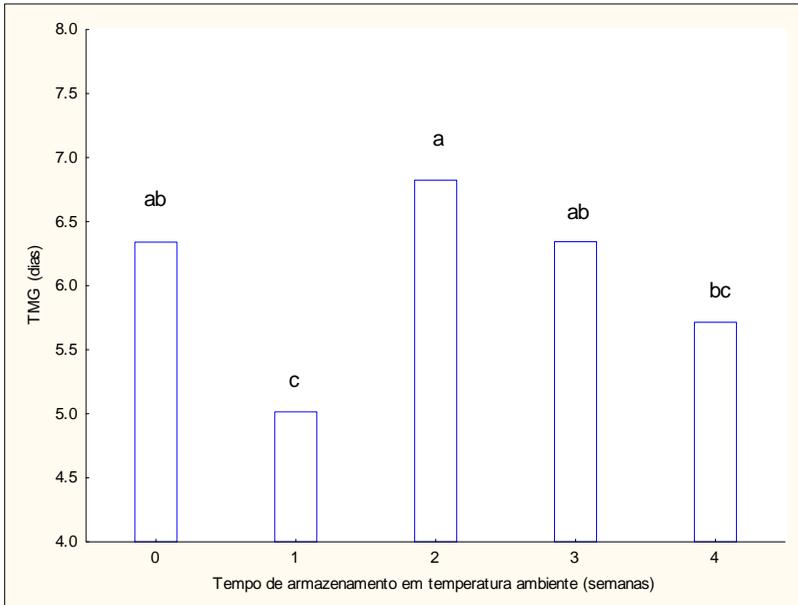


Figura 10. Tempo Médio de Germinação de sementes de *T.chrysotricha* após a criopreservação por 1h seguida ou não do armazenamento a 25°C (temperatura ambiente) por 1, 2, 3 e 4 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

4.2. DOSAGEM DE AÇÚCARES SOLÚVEIS TOTAIS E AMIDO EM SEMENTES DE *Tabebuia chrysotricha* (Mart.ex.DC.)Standl.

4.2.1. Dosagem de açúcares solúveis totais e amido em sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart.ex.DC.)Standl. armazenadas a 25°C (temperatura ambiente)

As Figuras 11 e 12 indicam não haver alteração no teor de ASTs e amido, respectivamente, nas sementes de *T.chrysotricha* mantidas em temperatura ambiente por 3 semanas e aquelas armazenadas em geladeira (controle).

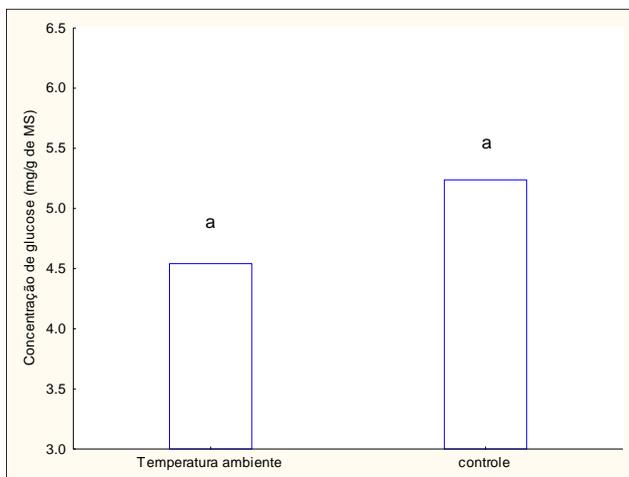


Figura 11. Teor de açúcares solúveis totais (ASTs), a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL^{-1} ($r^2= 0,99$; $y = 0,340x$), em sementes de *Tabebuia chrysotricha* submetidas ao armazenamento a 25°C durante 3 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. MS= massa seca

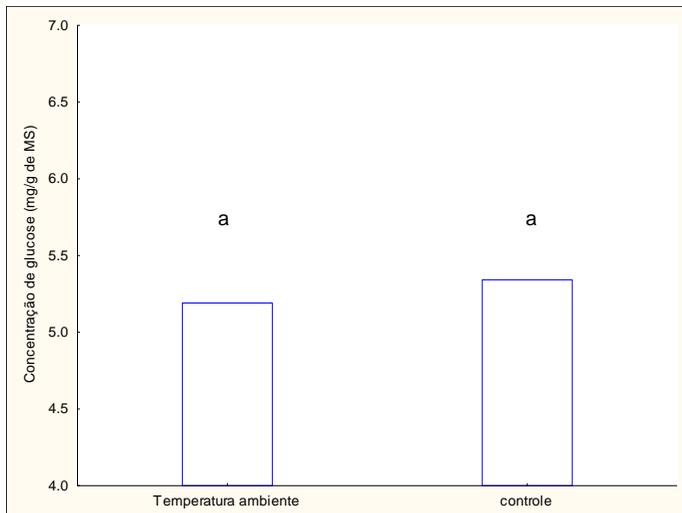


Figura 12. Teor de amido, a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL^{-1} ($r^2= 0,99$; $y = 0,35x$), em sementes de *Tabebuia chrysotricha* submetidas ao armazenamento a 25°C durante 3 semanas. Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. MS= massa seca

4.2.2. Dosagem de açúcares solúveis totais (ASTs) e amido em sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart.ex.DC.)Standl. submetidas a diversas condições de armazenamento durante 6 meses.

A análise de variância unifatorial indicou haver diferença estatística entre os teores de ASTs das sementes mantidas nas diversas condições de armazenamento, aos 6 meses, sendo o valor de p igual a 0.000061 e F igual a 11.243. Os resultados expressos na Tabela 14 indicam que os maiores valores de ASTs foram detectados em sementes mantidas a 0°C (congelador) e 25°C (temperatura ambiente). O teor de ASTs das sementes mantidas a 5°C (geladeira) não diferiu estatisticamente do observado para as sementes mantidas a 25°C (temperatura ambiente) e nem daquelas mantidas a -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido). Os resultados também mostraram não haver diferença entre os valores obtidos para as sementes armazenadas a 25°C (temperatura ambiente), 5°C (geladeira) e -20°C (freezer). Entretanto, as sementes submetidas ao armazenamento a -20°C (freezer) e -196°C (nitrogênio líquido) apresentaram os menores teores de ASTs, quando comparadas àquelas armazenadas a 0°C (congelador) e 25°C (temperatura ambiente).

Tabela 14. Teor de açúcares solúveis totais (ASTs), a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL⁻¹ (r²= 0,99; y = 0,340x), de sementes de *Tabebuia chrysotricha* submetidas ao armazenamento durante 6 meses.

Tratamento	Concentração de glucose (mg/g MS)^z	Desvio padrão^z
25°C	4.54ab	0.65
5°C	3.90bc	0.30
0°C	5.22a	1.09
-20°C	3.89bc	0.27
-196°C	2.75 c	0.29

^z Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ao nível de 5% pelo teste de Tukey

A análise de variância unifatorial indicou, haver diferença estatística entre os teores de amido das diversas condições de armazenamento após 6 meses, sendo o valor de p igual a 0.000004 e F igual a 16.599. Os resultados expressos na Tabela 15 indicam que os maiores teores de amido foram obtidos nos tratamentos em que as sementes foram armazenadas a 25°C (temperatura ambiente) e 5°C (geladeira), não havendo diferença estatística entre esses tratamentos.

Os menores teores de amido foram detectados nas sementes armazenadas a -20 freezer e nitrogênio líquido, não havendo diferença entre essas condições.

Tabela 15. Teor de amido, a partir da curva padrão de glucose (0.5 a 2.5 mg. mL⁻¹ ($r^2= 0,99$; $y = 0,35x$), em sementes de *Tabebuia chrysotricha* submetidas ao armazenamento durante 6 meses.

Tratamento	Concentração de glucose (mg/g MS)^z	Desvio padrão
25°C	4.91a	0.21
5°C	4.84a	0.42
0°C	4.24 b	0.44
-20°C	3.97 bc	0.12
-196°C	3.62 c	0.17

^z Letras iguais não indicam diferenças estatísticas entre os tratamentos ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

5 DISCUSSÃO

A longevidade e o vigor das sementes submetidas ao armazenamento depende de vários fatores, entre eles estão o comportamento fisiológico e o teor de água da semente, a umidade relativa do ar e a temperatura do ambiente de armazenamento (Bewley e Black, 1984) de forma que as sementes podem apresentar alterações fisiológicas e bioquímicas, decorrentes das condições a que são submetidas durante o armazenamento.

Acredita-se que, para sementes ortodoxas, quanto maior a temperatura e a umidade no armazenamento, maior será a atividade fisiológica da semente e mais rápida a sua deterioração. Essa deterioração leva à perda de viabilidade e tem início após a maturidade fisiológica, entretanto, pequenos danos são reversíveis e possíveis de serem reparados pelas sementes (Schmidt, 2000).

No presente trabalho, as sementes de *T.chrysotricha* mantiveram sua viabilidade durante todo o período de armazenamento, não apresentando redução significativa da porcentagem de germinação quando armazenadas por até 6 meses. Resultado similar foi observado para *Tabebuia serratifolia* cuja porcentagem de germinação decresceu após 6 meses de armazenamento em temperatura ambiente, atingindo 0% após 12 meses. Porém, quando armazenadas em câmara fria ($8^{\circ}\text{C} \pm 4^{\circ}\text{C}$ e 46% de umidade relativa) a porcentagem de germinação manteve-se constante e próximo a 100%. (Silva et al., 2011).

Assim, acredita-se, para *T. chrysotricha*, que o tempo de 6 meses de armazenamento utilizado neste trabalho não tenha sido suficiente para induzir a queda e/ou diferenças na porcentagem de germinação entre as condições de armazenamento. Os resultados indicaram que por 6 meses de armazenamento as sementes poderiam ser mantidas em qualquer uma das condições testadas. Além disso, deve-se considerar que sementes de *T.chrysotricha* apresentam diferenças na capacidade germinativa e vigor das sementes dependendo de sua matriz de origem (Santos et al., 2007).

Já Maeda e Matthes (1984) submeteram sementes de *T.chrysotricha*, com teor de água próximo ao utilizado no presente trabalho (8.5% de MF), ao armazenamento em (10°C , 20°C e 30°C) em embalagens herméticas de vidro, e a condições ambientes, embaladas em sacos de papel e constataram que a deterioração das sementes armazenadas a 10°C só teve início após 25 meses, enquanto que naquelas armazenadas a 20°C , após 13 meses, sendo possível notar uma diminuição rápida da porcentagem de germinação das sementes. Em

condição ambiente, a diminuição da porcentagem de germinação das sementes ocorreu depois de 4 meses, sendo que a pior condição de armazenamento foi a 30°C, em vidros herméticos.

Observação semelhante foi feita por Guollo (2012) ao avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *T.chrysotricha* com 10% de teor de água armazenadas à vácuo, em filme plástico, em condições naturais de laboratório, geladeira e freezer durante 0, 2, 4 e 6 meses não foram observadas diferenças entre as condições de armazenamento, exceto por um aumento na porcentagem de germinação do armazenamento em freezer após 4 meses. No presente trabalho também foi observado aumento na porcentagem de germinação das sementes submetidas ao armazenamento em freezer, após 4 meses, quando comparado ao controle, entretanto, esse aumento não foi estatisticamente significativo.

Resultados similares foram encontrados para *Tabebuia impetiginosa* armazenadas em geladeira e câmara refrigerada por 10 meses, no qual não se observou redução da porcentagem de germinação durante o armazenamento em geladeira e no armazenamento em câmara refrigerada observou-se redução, apenas, após 6 meses de armazenamento (Filho et al., 2006).

Ao analisar a porcentagem de germinação de sementes armazenadas com teor de água inferior aos utilizados no presente trabalho (5.9% de MF), Marques et al. (2004) relataram que a germinação das sementes de *T.chrysotricha* armazenadas em condições naturais de laboratório, sofreram decréscimo do poder germinativo após 3 meses.

No presente trabalho, não houve variação significativa do teor de água entre as condições de armazenamento e entre essas e o controle após 6 meses, entretanto houve oscilação do teor de água das sementes armazenadas em temperatura ambiente, geladeira e nitrogênio líquido. Acredita-se que essas reduções observadas nas avaliações intermediárias durante o período de armazenamento possam ter sido causadas por fatores alheios aos tratamentos, uma vez que não se repetiram nas avaliações posteriores. No caso do armazenamento em temperatura ambiente e geladeira é possível que essa oscilação seja decorrente de oscilações na umidade relativa do ar, indicando a necessidade de maiores estudos que avaliem esse parâmetro.

Sabe-se que os níveis críticos de umidade para a manutenção da viabilidade de sementes de *Tabebuia* são de 4 a 5% de umidade, conforme observado por Cunha et al. (1992), de forma que não houve perda de viabilidade de sementes submetidas à secagem até esses níveis. Isso porque baixos teores de água reduzem a taxa metabólica das

sementes resultando em maior vigor e viabilidade, sendo um dos mais importantes fatores na manutenção da germinação e vigor das sementes durante o armazenamento, justificando a elevada germinabilidade das sementes *T.chrysotricha* nas diferentes condições de armazenamento.

Embora não tenha havido alterações na porcentagem de germinação, o presente trabalho indicou alterações no índice de velocidade de germinação (IVG). O IVG, proposto por Maguire et al.(1962), é comumente utilizado para determinar a velocidade de germinação de forma que quanto maior o IVG, maior é a velocidade de germinação das sementes (Oliveira, 2009), sendo que a redução na velocidade de germinação pode ser atribuída à diminuição no vigor das sementes.

No presente trabalho, aos 6 meses de armazenamento não foram constatadas diferenças significativas entre as diferentes condições de armazenamento, apesar de terem ocorrido oscilações aos 4 meses, que elevaram a média de IVG das sementes submetidas ao armazenamento em nitrogênio líquido. Entretanto, ao se analisar apenas o fator tempo, observou-se que a média de IVG das sementes armazenadas durante 4 e 6 meses foi menor que o IVG no início dos experimentos, corroborando outros trabalhos que observaram diminuição do IVG durante o tempo de armazenamento (Silva et al., 2007).

Em estudos sobre armazenamento de sementes do gênero *Tabebuia* já foram observadas oscilações do vigor das sementes durante o tempo de armazenamento (Figliolia et al., Oliveira, 2004) o que pode ser explicado por diversos fatores como alterações fisiológicas e bioquímicas, indicando a necessidade de estudos mais aprofundados. Observação similar foi feita em estudos de sementes de outras espécies ortodoxas, como *Ochroma pyramidale*, em que constatou-se diminuição do IVG embora tenham ocorrido oscilações ao longo do armazenamento por 14 meses (Pinto et al., 2004). Segundo Scalon et al. (2006), aumentos e reduções das taxas de germinação no período inicial de armazenagem podem ser atribuídos à algum mecanismo de adaptação à nova condição. Oscilações também foram observadas nos valores do TMG.

O TMG indica o tempo médio necessário para ocorrer o máximo da germinação e corresponde à média ponderada do tempo necessário para a germinação, ou seja, quanto menor este tempo, maior será a velocidade de germinação. Da mesma forma que o IVG, não houve diferença de TMG entre as diversas condições de armazenamento aos 6 meses. Com exceção de uma diminuição de TMG no

armazenamento em geladeira aos 4 meses e posterior aumento, não houve diminuição de TMG nos demais tratamentos ao longo do tempo.

De um modo geral, aos 6 meses, as condições de armazenamento das sementes pareceram não causar grande diferença no crescimento das plântulas, quando se considera os parâmetros número de folhas, comprimento do caule e comprimento da raiz principal. Embora o armazenamento em nitrogênio líquido apresente o menor número de folhas e o armazenamento em geladeira apresente o menor comprimento de raiz primária. Em todos os tratamentos os teores de água das plântulas foram semelhantes indicando que o tipo de armazenamento das sementes não influenciou sobre esse parâmetro. Embora saiba-se que as plântulas com maior massa seca são consideradas aquelas com maior vigor isso porque, segundo Nakagawa (1994), durante a germinação as sementes vigorosas proporcionam maior transferência de massa seca de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário, originando plântulas com maior peso, em razão do maior acúmulo de matéria.

Sabe-se que as substâncias de reservas das sementes influenciam a sua germinação (Ribeiro et al., 2012) uma vez que a germinação está intimamente relacionada à maturidade fisiológica da semente. Assim, o tamanho e o peso da semente refletem o estágio de diferenciação do embrião e a quantidade de compostos de reserva, influenciando a capacidade germinativa (Ribeiro et al., 2012). Tendo isso em vista e sabendo-se que as sementes de *T.chrysostricha* apresentam ampla variabilidade nas suas características biométricas (Santos et al., 2007), acredita-se que os baixos teores de amido e açúcares totais obtidos nas dosagens após 6 meses de armazenamento em nitrogênio líquido, quando comparado às outras condições de armazenamento possam ser explicados pela diferença na maturidade fisiológica entre as sementes.

Isso porque o armazenamento em baixas temperaturas visa manter a semente em criptobiose, ou seja, em um estado de parada do crescimento do embrião, pela redução do metabolismo ativo (Laboriau, 1983), no caso do armazenamento em nitrogênio líquido, há uma parada total do metabolismo ao contrário das demais condições de armazenamento nas quais este é apenas reduzido. Entretanto, Kumar e Bhatla (2006) mostraram que há diversos genes que são induzidos por estresse hídrico e por temperaturas baixas.

Ao trabalhar com sementes maduras não dispersas e recém dispersas de pau-brasil, com teor de água de 12%, Hellmann et al. (2008) observou que ao serem armazenadas nas temperaturas de 7 °C e -

18 °C as sementes recém dispersas mantiveram estável o teor de carboidratos totais nos cotilédones, bem como a capacidade germinativa enquanto as sementes maduras não dispersas apresentaram diminuição dos açúcares solúveis tanto no eixo embrionário como nos cotilédones durante o armazenamento indicando que o metabolismo dos principais carboidratos de reserva dessas sementes é afetado pela temperatura embora não influencie na capacidade germinativa das sementes. Esse mesmo trabalho indica a diminuição do teor de amido do eixo embrionário após 90 dias de armazenamento em -18 °C e um aumento expressivo nas proporções de glicose e frutose nos cotilédones das sementes armazenadas a -18 °C.

Segundo Hellmann et al (2008), as variações observadas nos carboidratos de reserva poderiam ser dependentes de outros fatores como o grau de maturidade das sementes e o mecanismo molecular preciso de conversão do amido a açúcares e a relação com a tolerância ao congelamento por meio dessas alterações metabólicas ainda não estão completamente esclarecidos.

Já Bonome et al. (2006) notou a ocorrência de peroxidação de lipídios nas sementes de seringueira nos primeiros meses de armazenamento em câmara fria a 10°C, indicando a ação de espécies reativas de oxigênio mesmo em baixas temperaturas. Essas espécies reativas de oxigênio são formadas em sistemas biológicos submetidos a temperaturas muito negativas (Parnanova et al., 2004).

Alguns compostos produzidos pela célula como prolina e sacarose funcionam como protetores osmóticos uma vez que capturam essas espécies reativas de oxigênio. O que auxilia na tolerância ao congelamento uma vez que esse danifica mecanicamente os tecidos de forma direta e, também, indiretamente pela desidratação causada pela formação de cristais de gelo extracelulares (Hellmann et al. 2006)

Bonome et al. (2006), ao trabalhar com sementes de seringueira, observou diferenças quanto ao teor de amido no eixo embrionário e no endosperma, sendo que no embrião ocorreu biossíntese de lipídios durante o armazenamento, provavelmente, para a finalização de sua maturação. Já no endosperma; foi observado degradação de lipídios no decorrer do armazenamento em câmara fria a 10°C .

Assim, acredita-se que em certas condições de armazenamento os maiores teores de ASTs e amido das sementes obtidos no presente trabalho pode ter sido devido ao fato de ter sido possível produzir e armazenar compostos de reserva durante o período de armazenamento caso elas não tivessem atingido sua maturidade fisiológica até então. Devido a isso, sugere-se maiores estudos no que diz respeito à influência

do armazenamento e da temperatura sobre a maturidade fisiológica de sementes de *T.chrysotricha*.

De forma similar, o armazenamento em freezer aos 6 meses apresentou menor teor de açúcares solúveis totais (ASTS) quando comparado ao armazenamento em congelador e menor teor de amido quando comparado às condições de armazenamento em temperatura ambiente e geladeira, indicando que as sementes em temperaturas mais amenas não tiveram redução total do seu metabolismo permitindo assim o acúmulo de reservas.

Vale ressaltar que aumentos nas quantidades de açúcar podem estar relacionadas à deterioração da semente uma vez que pode indicar um processo de degradação do amido.

Assim, embora o armazenamento pelo período de 6 meses não tenha sido suficiente para apresentar diferenças entre as diversas condições no que diz respeito a porcentagem de germinação, IVG e TMG, há diferenças significativas de vigor das plântulas, teor de AST e amido entre as condições de armazenamento analisadas.

Um aspecto importante observado no presente estudo foi que as variações nos teores de reserva das sementes armazenadas nas diferentes condições parece não ter sido suficiente para causar grandes alterações no crescimento posterior das plântulas.

No que diz respeito à criopreservação, os dados do presente trabalho indicam que o armazenamento em nitrogênio líquido por até 6 meses não alterou a porcentagem de germinação nem o tempo médio de germinação. Corroborando os resultados obtidos por Tresena et al. (2008), segundo o qual sementes de *T.chrysotricha* com 6% de umidade podem ser criopreservadas por até 3 meses, sem apresentarem redução na porcentagem de germinação. Resultados diferentes foram obtidos para *Tabebuia umbellata* com 6% de umidade. Para essa espécie, Wetzel et al. (2003) mostrou que o armazenamento em nitrogênio líquido elevou a porcentagem de germinação.

Nos experimentos que visaram determinar a tolerância das sementes de *T.chrysotricha* à segunda imersão em nitrogênio líquido, após o armazenamento por 1 a 4 semanas em temperatura ambiente (25°C), objetivando verificar se as sementes mantidas criopreservadas em um banco de germoplasma tolerariam o armazenamento fora do nitrogênio líquido por períodos curtos e se poderiam ser criopreservadas novamente, constatou-se que as sementes puderam ser criopreservadas novamente. Porém, o tempo em que foram mantidas em temperatura ambiente interferiu na porcentagem de germinação, IVG e TMG das sementes, sendo que, o armazenamento por 3 e 4 semanas em

temperatura ambiente reduziu a porcentagem de germinação. Assim, na situação hipotética das sementes estarem armazenadas em nitrogênio líquido em um banco de germoplasma e precisarem ser transportadas para outro banco de germoplasma, não seria necessário que o transporte fosse feito em nitrogênio líquido, desde que as sementes permaneçam em temperatura ambiente por até duas semanas, período em que não teriam a viabilidade reduzida.

Resultado semelhante foi obtido por Aguiar (2010) ao verificar que as sementes de *Tabebuia roseoalba*, podem ser submetidas à temperatura ambiente ou geladeira, após a criopreservação, por apenas uma semana, sem que a viabilidade seja prejudicada, enquanto que para *Tabebuia pentaphylla* as sementes podem permanecer por até 3 semanas em temperatura ambiente ou geladeira, sem que a viabilidade seja reduzida após a segunda criopreservação.

Vale ressaltar que, para os experimentos de criopreservação, o teor de água das sementes foi de 4.72, o que condiz com o teor de água limite de 4% para a criopreservação de *T.chrysotricha*, uma vez que sementes com teores de água acima de 4% tem sua germinação e vigor diminuídos significativamente (Tresana et al., 2010).

Por fim, acredita-se que sejam necessários estudos que considerem o efeito de outros fatores sobre a viabilidade das sementes armazenadas. Isso porque, segundo Ribeiro et al. (2012), mesmo sob condições semelhantes, sementes de uma mesma espécie ou gênero podem apresentar porcentagens de germinação distintas, devido à fatores como procedência das sementes, maturidade fisiológica da árvore-mãe, maturidade fisiológica das sementes, condições climáticas durante a geração dos frutos/sementes (fenologia) e a posição do fruto na árvore ou em relação ao movimento aparente do sol ao longo do dia (posições cardeais), fatores esses que podem influenciar na maturação e desenvolvimento de frutos e sementes.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho indicou que as sementes de *T.chrysotricha* podem ser armazenadas por até 6 meses, sem perda de viabilidade independente da condição de armazenamento. Entretanto, há diferenças no teor de ASTs e amido entre as condições de armazenamento aos 6 meses, fazendo-se necessário futuros estudos sobre o efeito do tempo de armazenamento sobre a metabolismo dos compostos de reserva e a maturidade das sementes. O fato das sementes tolerarem a criopreservação indica que esta estratégia pode ser utilizada para garantir a conservação das sementes a longo prazo.

Quanto à criopreservação, constatou-se que as sementes podem ser submetidas a uma segunda imersão em nitrogênio líquido, mas o tempo em que são mantidas em temperatura ambiente antes da segunda imersão interfere na porcentagem de germinação, IVG e TMG das sementes.

7 REFERÊNCIAS

- Aguiar, T. **Conservação de sementes zigóticas e cultura *in vitro* de espécies de *Tabebuia gomes ex dc.* (bignoniaceae).** Dissertação de mestrado em Biologia Vegetal. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- Aleida, F.A.C. Pita, J.M.V, Gouveia, J.P.G. **Efecto de la criopreservación sobre la germinación de semillas de leguminosas.** Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.2, n.1, 2000.
- Bewley, J.D., Black, M. **Seeds: Physiology of development and germination.** Ed.Plenum Press, New York., 1994.
- Bonome, L.T.S. **Alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares em sementes de seringueira [*hevea brasiliensis* (willd. Ex ADR. De Juss.) Müell.-arg.] durante o Armazenamento.** Tese de doutorado em Fisiologia Vegetal. Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2006.
- Cabral, E.L., Barbosa, D.C.A., Simabukuro, E.A. **Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth & Hook. F. Ex. S. Moore.** Acta Bot. Bras.v.17, n.4, 2003.
- Costa, M. E.; Sampaio, D. S.; Paoli, A. A. S.; Leite, S. C. A. L. **Poliembriônia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ocracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae).** Revista Brasileira Botânica, São Paulo, n.2, 2004.
- Carvalho, N. M.; Nakagawa, J. **Sementes: ciência tecnologia e produção.** 4.Ed.Jaboticabal: FUNEP, 2000.
- Cunha, R.; Salomão, A. N.; Eira, M. T. S.; Mello, C. M. C.; Tanaka, D. M. **Métodos para conservação a longo prazo de sementes de *Tabebuia* spp. –Bignoniaceae.** In: Congresso Nacional sobre essências nativas, 1992. São Paulo: Instituto Florestal, 1992.
- Ellis, R.H., Hong, T. D., Roberts, E.H. **An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee.** Journal Experimental Botany, Oxford, v. 41, n. 230, 1990.

Engels J, Rao VR, Brown AHD, Jackson MT, eds. 2002. **Managing Plant Genetic Diversity**. Wallingford, UK: CABI Publ., 2002.

Figliolia, M.B. **Conservação de sementes de essências florestais**. São Paulo: Instituto Florestal (Boletim Técnico, 42), 1988.

Floriano, E.P. **Armazenamento de sementes florestais**. Revista Brasileira de Sementes, vol. 30, nº 3, 2004. Santa Rosa – RS: ANORGS. 10p. UFSM. Armazenamento de sementes. Disponível em: <<http://www.ufsm.br/sementes/>> Acesso em: 23 fev. 2012.

Gentry, A. H. **Bignoniaceae - Part II (Tribe Tecomeae)**. Flora Neotropica. 1992.

Gómez, K.A., Gómez, A. **Statistical Procedures for Agricultural Research**. Singapore; John Wiley & Sons, 1984.

Guollo, K., Possenti, J.C. Andreani, P. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tabebuia chrysotricha (mart.) Standl armazenadas em diferentes ambientes**. In SICITE XVII Seminário de iniciação científica e tecnológica da UTFPR, 2012.

Grazziotin, J.D., Schapoval, E.E.S., Chaves, C.G., Gleye, J., Henriques, A.T. **Phytochemical and analgesic investigation of *Tabebuiachrysotricha***. Journal of Ethnopharmacology, v.36, 1992.

Harrington, J.F. **Seed storage and longevity**. In: Kozlowski, T.T. Seed biology. New York: Academic Press, v.3, 1972.

Hellmann, M.E., Mello, J.I.O., Barbedo, C.J., Ribeiro, R.C.L. **Variações dos carboidratos de reserva de sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) armazenadas sob diferentes temperaturas**. Hoehnea. v. 35, nº. 2, 2008.

Hellmann, M.E., Mello, J.I.O., Barbedo, C.J., Ribeiro, R.C.L. **Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial**. Revista Brasileira de Botânica. v. 29, 2006.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F., Donoghue, M. J. **Plant systematics: A phylogenetic approach**. 2 Ed., Sinauer Associates, USA, 2002.

Kageyama, P. Y.; Marquez, F. C. M. **Comportamento de sementes de curtalongevidade armazenadas com diferentes teores de umidade inicial: gênero *Tabebuia***. Piracicaba: IEF, 1981.

Kageyama, P. Y. et al. **Restauração de Mata Ciliar: manual para recuperação de Áreas Ciliares e Microbacias**. Rio de Janeiro: SEMADS, 2001.

Kumar, A. & Bhatla, S.C. **Polypeptide markers for low temperature stress during seed germination in sunflower**. *Biologia Plantarum*. v. 50, 2006.

Labouriau, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, 1983.

Lorenzi, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**, 4. Ed., Nova Odessa, SP ; Instituto Plantarum, vol 1., 2002.

Maeda, J. A.; Matthes, L. A. F. **Conservação de sementes de ipê**. *Bragantia*, Campinas, v.43, n.º.1, 1984.

Maguire, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedlings emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n.º. 1, 1962.

Marques, M. A., Rodrigues, T. J. D., Valeri, S.V., Malheiros, E.B. **Comportamento germinativo de sementes de ipê-amarelo, *Tabebuia chrysostricha* (Mart.) Standl. secadas em câmara seca, armazenadas em diferentes ambientes e submetidas a sete níveis de potencial osmótico**. *Científica*, Jaboticabal, v.32, n.º.2, 2004.

Maheshwari, P. **An introduction to the embryology of Angiosperm**. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing Company, 1971.

Martins, L.; Lago, A. A.; Sales, W. R. M. **Conservação de sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia chrysostricha* (Mart.ex A. DC.) Standl.) em**

função do teor de água das sementes e da temperatura do armazenamento. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 31, n°. 2, 2009.

Nassif, S. M. L.V., Israel, G. F., Gelson, D. **Fatores Externos (ambientais) que Influenciam na Germinação de Sementes.** Piracicaba: IPEF/LCF/ESALQ/USP, Informativo Sementes IPEF, 1998.

Nakagawa, J. **Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas.** In:Vieira, R.D.;Carvalho, N.M. Teste de vigor em sementes. Jaboticabal, FUNEP, 1994.

Oliveira, A.C.S., Martins, G.N., Silva, R.F., Vieira, H.D. **Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas.**Inter Science Place. ano 2, n°.4 , 2009.

Oliveira, L. M. **Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martinus ex A. P. de Candolle Stansley) envelhecidas natural e artificialmente.**(Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais, 2004.

Parvanova, D., Ivanov, S., Konstantinova, T., Karanov, E., Atanassov, A., Tsvetkov, T., Alexieva & Djilianov, D. **Transgenic tobacco plants accumulating osmolytes show reduced oxidative damage under freezing stress.** Plant Physiology and Biochemistry .v.42, 2004.

Pinto, A.M., Inoue, M.T., Nogueira, A.C. **Conservação e vigor de sementes de pau-de-balsa (*Ochroma pyramidale*).** Acta Amazonica, v. 34, n°.2, 2004.

Pinto, M.M.; Sader, R.; Barbosa, J.M. **Influência do tempo de secagem e do armazenamento sobre a viabilidade das sementes de ipê-rosa.** Revista Brasileira de Sementes, v. 8, n°. 1, 1986.

Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. **Biologia vegetal.** Ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro, 2007

Reed, B.M., Schwank, S., Shala, R. **Pear Seed retain Viability after Liquid Nitrogen Immersion.** Hortscience, v.36, n°.6, 2001.

Ribeiro, C.A.D., Costa, M.P., Senna, D.S., Caliman, J.P. **Fatores que afetam a germinação das sementes e a biomassa de plântulas de *Tabebuia heptaphylla***. FLORESTA, Curitiba, PR, v. 42, nº. 1, 2012.

Santos, D. L.; Sugahara, V. Y.; Takaki, M. **Efeitos da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich, *Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex Dc) Standl. e *Tabebuia roseo-alba* (Ridl) Sand-(Bignoniaceae)**. Revista Ciência Florestal, Santa Maria, v.15, nº.1, 2005.

Santos, F.S., Paula, R.C. **Biometria, germinação e qualidade fisiológica de sementes de *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC.) Standl. Provenientes de diferentes matrizes**. Dissertação de mestrado em Agronomia. Faculdade de Ciências agrárias e veterinárias-Unesp. São Paulo, 2007

Scalon, S. P. Q. **Armazenamento e tratamentos pré-germinativos em sementes de jacarandá (*Jacaranda cuspidifolia* Mart.)**. Revista Árvore, Viçosa, v. 30, nº. 2, 2006.

Schmidt, L. **Guide to handling of tropical and subtropical forest seed**. Denmark: Danida Forest Seed Centre, 2000.

Silva, D.G., Carvalho, M.L.M., Nery, M.C., Oliveira, L.M., Caldeiras, C.M. **Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento de sementes de *Tabebuia serratifolia***. Cerne, Lavras. v. 17, nº. 1, 2011.

Silva, L.M., Moccellini, R. Weissheimer, D.I., Zboralski, A.R., Fonseca, L., Rodighiero, D.A. **Inventário e sugestões para arborização em via pública de Pato Branco/PR**. Revista da sociedade brasileira de arborização urbana. v.2, nº. 1, 2007.

Silva, D.G., Carvalho, M.L.M., Nery, M.C., Oliveira, L.M., Caldeira, C.M. **Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento de sementes de *Tabebuia serratifolia***. Cerne, Lavras, v. 17, nº. 1, 2010.

Souza, L.A., Iwazaki, M.C., Moscheta, S. **Morphology of the pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex**

DC.)Standl.(Bignoneaceae).Brazilian archives of biology and technology: an intenational journal. v. 48, nº3, 2005a.

Souza, V. C.; Bruno, R. L. A.; Andrade, L. A. **Vigor de sementes armazenadas deipê-amarelo *Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nich.** Revista Árvore, Viçosa. v.29, nº.6,2005 b.

Taiz, L., Zeiger, E. **Plant Physiology.** Ed.Sinauer Associates, 2010.

Thomsom, R.H. **Naturally occurring quinones.**2nd Ed. Academic Press, London and New York,1971.

Tresena, N. L., Mata, M.E.R.C., Duarte, M.E.M., Moraes, A.M. **Physiologic quality of yellow Ipê seed (*Tabebuia chrysotricha*(Mart. ex. DC.)Standl.) submitted to cryoconservation.** CIGR-International Conference of Agricultural Engineering, 2008.

Tresena, N.L., Mata, M.E.R.M.C., Duarte, M.E.M., Moraes, A.M. **Determinação do teor de água limite para crioconservação de sementes de ipê amarelo (*Tabebuia chrysotricha* (Mart. Ex. DC.) Standl.).** Cerne, Lavras. v. 16, nº. 2, 2010.

Wetzel, M.M.V.S., Reis, R.B., Ramos, K.M. **Metodologia para criopreservação de sementes de espécies florestais nativas.** Circular Técnica.Brasilia, 2003.

Yemm, E.W.; Willis, A.J.**The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone.** Biochemical Journal, London. v.57, nº.3, 1954.