

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

**MANOEL SILVA AMARO**

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM PLATAS  
DE COPAÍBA SOB ESTRESSES HÍDRICO E SALINO**

**FORTALEZA**

**2012**

**MANOEL SILVA AMARO**

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM PLANTAS  
DE COPAÍBA SOB ESTRESSES HÍDRICO E SALINO**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Enéas Filho

**FORTALEZA - CE  
2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- A522g      Amaro, Manoel Silva.  
                Germinação de sementes e mobilização de reservas em plantas de copaíba sob estresses hídrico e salino. / Manoel Silva Amaro. – 2012.  
                133 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento Fitotecnia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, Fortaleza, 2012.  
                Área de Concentração: Fitotecnia.  
                Orientação: Prof. Dr. Joaquim Enéas Filho.
1. Copaíba. 2. Potencial de soluto. 3. Enzima. 4. Fabaceae. I. Título.

**MANOEL SILVA AMARO**

**GERMINAÇÃO DE SEMENTES E MOBILIZAÇÃO DE RESERVAS EM PLANTAS  
DE COPAÍBA SOB ESTRESSES HÍDRICO E SALINO**

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Joaquim Enéas Filho (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof<sup>ª</sup> Dra. Riselane de Lucena Alcântara Bruno  
Universidade Federal da Paraíba - UFPB

---

Prof. Dr. Alexandre Bosco de Oliveira  
Universidade Federal da Paraíba- UFPB

---

Prof. Dr. Enéas Gomes Filho  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Prof. Dr. Sebastião Medeiros Filho  
Universidade Federal do Ceará - UFC

À vovó **Cristina**,  
Aos meus pais, **Joaquim** e  
**Laurismar**,  
Aos meus filhos, **Claudia** e  
**Zaqueu...**

*Com amor*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS PAI TODO PODEROSO, por me deixar viver com saúde e alegria.

Ao Senhor JESUS CRISTO por me ensinar a cultivar a paz.

A meu Pai SETA BRANCA, por estar sempre comigo.

À TIA NEIVA pelos ensinamentos doutrinários.

À minha Princesa JUREMA por me acompanhar em todos os momentos.

À Universidade Federal do Ceará, especialmente aos Departamentos de Fitotecnia e de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade.

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos.

Ao professor Joaquim Enéas Filho, pelos ensinamentos, apoio, dedicação, presteza e paciência para comigo, durante o curso.

Ao professor Enéas Gomes Filho, pela disponibilização do Laboratório de Fisiologia Vegetal e pela participação na banca examinadora e suas valiosas argumentações e sugestões sobre este trabalho.

À professora Riselane de Lucena Alcântara Bruno, pela disponibilidade de participar da banca e suas valiosas argumentações e sugestões sobre este trabalho.

Ao professor Alexandre Bosco de Oliveira, pela disponibilidade de participar da banca e suas valiosas argumentações e sugestões sobre este trabalho.

Ao professor Sebastião Medeiros Filho, pelo apoio durante o curso, ao disponibilizar o Laboratório de Análises de Sementes (LAS) para a condução de parte deste trabalho e pela disponibilidade de participar da banca examinadora com suas preciosas argumentações e sugestões sobre este trabalho.

Ao Professor Valmir Feitosa pela contribuição nas análises estatísticas.

À pesquisadora Elizita Maria Teófilo, pelo apoio no Laboratório de Análises de Sementes e pela amizade.

Ao professor Márcio Cleber Correa, pelo apoio, amizade e consideração.

Ao corpo docente do Departamento de Fitotecnia, pelo aprendizado e experiência que me foram passados durante o curso.

À professora Dra. Roselita Maria de Sousa Mendes, pelos ensinamentos e oportunidades nos alicerces da minha vida acadêmica.

Ao professor Marivando Luiz Barros, pela amizade e apoio durante minha graduação.

À Professora Cícera Rocha (Cicinha) pela hospedagem, amizade e ao seu esposo Alcides, pelo apoio e amizade.

À Professora Antônia Eliene Duarte e ao seu esposo Dário, pela hospedagem, apoio e amizade.

À Simone Silvestre, pelo apoio, amizade, e ajuda financeira durante os momentos difíceis.

Ao Meu filho ZAQUEU Medeiros Amaro, pelo AMOR e carinho em todas as horas e por me fazer mais feliz.

À minha namorada Tarciana Moreira, pelo companheirismo, amor e carinho que a mim dedica.

Em especial a Elton Marques pela sua dedicação, paciência, tolerância, amizade e pelos preciosos ensinamentos que me passou durante a condução dos trabalhos laboratoriais e pela oportunidade de ter conhecido um grande ser humano.

À professora Maria do Socorro Anastácio, pelo apoio, colaboração e amizade.

Ao secretário de Educação do Crato Valentim Dantas, pelo apoio, compreensão e colaboração.

À professora Joana Braga, Chefe de Gabinete da Secretaria de Educação do Crato, pelo apoio junto as minhas atividades docentes naquele município.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia e dos Laboratórios de Fisiologia Vegetal I e II, do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBBM) Brisa Cabral, Cassia Paschoal, Cassia Raiane, Elane Guerra, Evando Coelho, Fabrício Lima, Gyedre Araújo, Juliana Filetto, Jonas Cunha, João Neto, João Paulo, Márcio Ootani, Tiago Cunha, Tomil Ricardo, Victor Freitas, Vlayrton Maciel, Wendney Lima e a todas as pessoas que de uma maneira ou de outra contribuíram para a realização dessa maravilhosa conquista.

“Os verdadeiros sábios são os simples e humildes”  
(*Naldinho Silva*)

## RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa avaliar diferentes técnicas de superação de dormência, o comportamento germinativo sob condições salinas e de déficit hídrico, o desenvolvimento de plântulas submetidas a diferentes potenciais de solutos com NaCl e relacionar as condições estressantes com a mobilização de reservas cotiledonares em plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.). Os tratamentos de superação de dormência constituíram-se de imersões em água/24, 48 e 72 h; água quente, 50, 75 °C e fervente/10, 15 e 20 min, em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98,08)/15, 30 e 60 min e controle. Para as condições estressantes, as sementes foram imersas em 100 mL de solução de NaCl ou de PEG 6.000 com potenciais de solutos: [0,0 -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa]. Avaliaram-se a embebição (durante 168 h), percentagem de germinação (%G) índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Para a mobilização das reservas, os tratamentos foram os mesmos potenciais de solutos com NaCl. A semeadura foi em papel germitest e a germinação em câmara do tipo BOD a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas, com cinco repetições de 25 sementes por tratamento. Os estudos dos efeitos do NaCl nas plântulas de copaíba fez-se em três estádios de desenvolvimento: ED 1 (raiz com 5±2 cm); ED 2 (emissão dos protófilos) e ED 3 (protófilos expandidos), Quinze plântulas por repetição foram separadas em cotilédones e eixos embrionários. Quantificaram-se a massa seca dos cotilédones e dos eixos embrionários, os teores de lipídios, proteínas, amido, açúcares solúveis, aminoácidos e íons Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>. Avaliaram-se as atividades das enzimas: lipase, liase do isocitrato, sintase do malato, α e β-amilases e fosforilase do amido nos cotilédones de plântulas cultivadas em água destilada e em soluções de NaCl com potenciais de solutos de 0,0, -0,4 e -0,8 MPa. A imersão das sementes de copaíba em ácido sulfúrico concentrado/60min é eficiente para embebição e superação da dormência. O PEG 6.000 e o NaCl atrasam a embebição. Nas condições estressantes, o NaCl -1,0 MPa não influencia no %G, mas, aumenta oIVG e reduz o TMG a partir do potencial de soluto de -0,6, MPa. O PEG reduz o %G a partir de -0,8 MPa com maior efeito no IVG e TMG, do que NaCl. Sementes de copaíba possuem 42% de lipídios, principal reserva. O potencial de soluto de -0,8 MPa inibe a mobilização de reservas e aumenta os teores de íons Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nos cotilédones e eixos embrionários de sementes de copaíba. A inibição da mobilização das reservas causada pelo sal aumenta os teores de açúcares solúveis nos cotilédones e inibe o crescimento das plântulas. As sementes de copaíba apresentam forte resistência à entrada de água, a qual pode ser anulada com imersão em ácido sulfúrico concentrado por 60 min. Para o %G, as sementes testadas são tolerantes ao NaCl em -1,0 MPa e intolerantes ao PEG em

potenciais de solutos equivalentes. A germinação é menos sensível ao NaCl do que a fase de plântula. O NaCl em potenciais de solutos abaixo de -0,4 MPa reduzem o crescimento e desenvolvimento inicial de plântulas de copaíba. As atividades das enzimas do metabolismo dos lipídios e do amido são inibidas com o aumento da salinidade.

**Palavras-chave:** Copaíba. Estresse hídrico. Potencial de soluto. Enzima. Fabaceae.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate different techniques for breaking dormancy, the germination under saline conditions and drought, the development of seedlings subjected to different potentials of solutes and NaCl stress conditions relate to the cotyledonary reserve mobilization in seedlings *Copaifera langsdorffii*. The treatments of over come consisted of immersion in water/24, 48 and 72 h, hot water, 50, 75 C and boiling water/10', 15' and 20' and H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98,08%)/15, 30' and 60' min and control. For stress conditions, the seeds were immersed in 100 ml of NaCl or PEG 6000 with a potential of the solute, [0,0 (control), -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 and -1,0 MPa]. The water absorption, was evaluated (168 h) germination percentage (G%), germination speed index (GSI) and mean germination time (MGT). For the mobilization of the reserves were used as the same solute potential with NaCl above. Sowing was on paper germitest and germination in a germination chamber of the BOD at 25 °C and photoperiod of 12 h, consisting of five replicates of 25 seeds per treatment. Studies of the effects of NaCl was done in three stages of developing an ED (radicle with 5 ± 2 cm) ED 2 (issuing protophilus) and ED 3 (protophilus expanded), taking as reference quiescent seeds (DE 0). 15 seedlings per replicate were separated into cotyledons and axis. Quantified the dry mass of cotyledons and axis, the levels of lipids, proteins, starch, soluble sugars, amino acids and Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>. We evaluated the activities of enzymes: lipase, the isocitrate lyase, malate synthase, α and β-amylases and starch phosphorylase in the cotyledons of seedlings grown in distilled water and in NaCl solutions with solute potential of -0,4 and -0,8 MPa. The water absorption by seeds copaiba was higher and faster in the treatments with boiling water and sulfuric acid. The PEG 6000 and NaCl delayed the time of soaking, Overall, the immersion in H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> performed best in breaking dormancy. In stressful conditions, NaCl had no influence on %G, however, reduced the (IVG) and increased the TMG, the solute potential of -0,6, -0,8 and -1,0 MPa. PEG reduced the %G in solute potential of -0,8 and -1,0 MPa and had a greater effect on IVG and TMG, compared with NaCl. The seeds were quiescent lipids as the main reserve. The increase in salinity inhibited the mobilization of reserves in the cotyledons of the seeds, especially in the solute potential of -0,8 and -1,0 MPa and increasing the concentrations of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in the embryonic axis and cotyledons. Inhibition of the mobilization of reserves caused by salt provided an increase in soluble sugars in the cotyledons, this effect inhibited the growth and seedling development. The activities of enzymes in the metabolism of lipids and of starch phosphorylase were significantly inhibited with increasing salinity, with more effectively inhibited the enzymes of lipid metabolism. The

seeds have a strong resist entry of water, the immersion of the seed in concentrated sulfuric acid for 60' is effective to remove the barrier. For %G, the copaiba seeds under conditions that were tested are NaCl-tolerant and intolerant to PEG. The germination is less sensitive than the NaCl seedling stage. The NaCl in solute potential below -0,4 MPa negatively affects the growth and early development of seedlings of copaiba.

**Keywords:** Copaíba. Water stress. Potential of solute. Enzyme. Fabaceae . Caesalpinioideae.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Modelo de interconversão da sacarose em amido.....	34
Figura 2 -	Modelos de degradação de amido em cotilédones de cereais e leguminosas e em folhas. (A) Via pela qual o amido é convertido em maltose e glicose no endosperma de cereais. A membrana plasmática e o envelope do amiloplasto são degradados no início da germinação. (B) Conversão do amido em açúcar nos cotilédones de leguminosas.....	36
Figura 3 -	Conversão de lipídios em açúcares durante a germinação de sementes oleaginosas.....	39
Figura 4 -	<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.: (A) aspecto geral da planta; (B) folha; (C) flores; (D) fruto verde e (E) e sementes.....	42
Figura 5 -	Fotografias das sementes (A) e das plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) nos estádios de desenvolvimento ED 1 (B); ED 2 (C) e ED 3 (D).....	48
Figura 6 -	Evolução da embebição em sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a imersões em água a temperatura ambiente (controle) e em água a 50 °C (A) e a 75 °C (B) por 10, 15 e 20 minutos.....	60
Figura 7 -	Evolução da embebição em sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a imersões em água a temperatura ambiente (controle) e em água fervente e por 10, 15 e 20 min (A) e em ácido sulfúrico por 15, 30 e 60 min (B).....	61
Figura 8 -	Evolução da embebição em sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a imersões em água destilada (controle) e em soluções de NaCl e de PEG 6.000 de -0,6 e -1,0 MPa.....	65
Figura 9 -	Valores médios da percentagem de germinação de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a testes de superação de dormência.....	68
Figura 10 -	Valores médios do índice de velocidade de germinação de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a testes de superação de dormência.....	70
Figura 11 -	Valores médios do tempo médio de germinação de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a testes de superação de dormência.....	71
Figura 12 -	Valores médios (A) percentagem de germinação (%G), (B) índice de velocidade de germinação (IVG) e (C) tempo médio de germinação	

	(TMG) de sementes de copaíba submetidas aos estresses salino e hídrico	73
Figura 13 -	Percentuais das principais substâncias de reserva da semente de copaíba	76
Figura 14 -	Atividades total (AT) e específica (AE) das enzimas lipase (A e B); liase do isocitrato (C e D) e sintase do malato (E e F) em cotilédones de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a soluções de NaCl com potenciais de solutos de: 0,0 MPa (□), controle; -0,4 MPa (■) e -0,8 MPa (■) em três estádios de desenvolvimento (ED).....	102
Figura 15 -	Figura 14. Atividades total (AT) e específica (AE) das enzimas $\alpha$ - $\beta$ amilases (A e B) e fosforilase do amido (C e D) em cotilédones de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a soluções de NaCl com potenciais de solutos de: 0,0 MPa (□), controle; -0,4 MPa (■) e - 0,8 MPa (■) em três estádios de desenvolvimento (ED).....	104

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Resumo da análise de variância referente à embebição de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a testes de superação de dormência e aos estresses salino e hídrico.....	57
Tabela 2	- Valores médios das percentagens da absorção de água em função do tempo de embebição em sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a testes de superação de dormência.....	59
Tabela 3	- Valores médios das percentagens da absorção de água em função do tempo de embebição em sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a imersões em água destilada (controle) e em soluções de NaCl ou de PEG 6.000.....	64
Tabela 4	- Resumo da análise de variância referente aos valores médios de percentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas a testes de superação de dormência.....	67
Tabela 5	- Resumo da análise de variância referente aos valores médios de percentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) submetidas aos estresses salino hídrico.....	72
Tabela 6	- Tabela 6 - Equações da regressão para Percentual de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes de copaíba submetidas aos estresses salino e hídrico.....	73
Tabela 7	- Tabela 7 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios da massa seca e teores de lipídios e amido, em $\text{mgg}^{-1}$ de massa seca, em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RA) de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	77
Tabela 8	- Tabela 8 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios de aminoácidos, açúcares solúveis, açúcares redutores e não redutores, em $\text{mgg}^{-1}$ de massa seca em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RA) de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	78
Tabela 9	- Tabela 9 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios de íons potássio, sódio e cloreto, em $\text{mgg}^{-1}$ de massa seca, em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RA) de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de	

	desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	79
Tabela 10	- Valores médios da massa seca em miligrama por plântula de cotilédones (MSCOT), parte aérea (MSPA) e raiz (MSR) de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	80
Tabela 11	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de lipídios de cotilédones de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	83
Tabela 12	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de amido em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	85
Tabela 13	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de açúcares solúveis (AS), não redutores (ANR) e redutores (AR) em cotilédones de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	88
Tabela 14	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de açúcares solúveis (AS) redutores (AR) e não redutores (ANR) na parte aérea de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	90
Tabela 15	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de açúcares solúveis (AS), redutores (AR) e não redutores (ANR) em raízes de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	91
Tabela 16	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de proteínas totais em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	93
Tabela 17	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de aminoácidos em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	94
Tabela 18	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de íons sódio (Na <sup>+</sup> ) em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	96

Tabela 19	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de íons potássio ( $K^+$ ) em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	97
Tabela 20	- Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de íons cloreto ( $Cl^-$ ) em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	98
Tabela 21	- Resumo da análise de variância referente aos valores médios das atividades enzimáticas, total (AT) e específica (AE) das enzimas do metabolismo dos lipídios: Lipase (LP) liase do isocitrato (LIC) e sintase do malato (SM) e do metabolismo do amido: alfa e beta amilases ( $\alpha$ e $\beta$ -AM) e fosforilase do amido (FA) em cotilédones de sementes e plântulas de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino.....	101

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>22</b>
<b>2.1.1 Objetivos específicos.....</b>	<b>22</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>23</b>
<b>3.1 Fisiologia da semente.....</b>	<b>23</b>
<b>3.2 Germinação e estabelecimento da plântula.....</b>	<b>24</b>
<b>3.3 Efeitos do déficit hídrico e da salinidade na germinação e estabelecimento da plântula.....</b>	<b>28</b>
<b>3.3.1 Importância da água para as plantas.....</b>	<b>28</b>
<b>3.4 Substâncias de reserva e sua mobilização durante a germinação.....</b>	<b>32</b>
<i>3.4.1 Carboidratos.....</i>	<i>33</i>
<i>3.4.2 Lipídios.....</i>	<i>37</i>
<i>3.4.3 Proteínas.....</i>	<i>39</i>
<b>3.5. Caracterização de <i>Copaiba langsdorffi</i> Desf.....</b>	<b>41</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
<b>4.1 Material Botânico.....</b>	<b>44</b>
<b>4.2 Condições gerais dos experimentos.....</b>	<b>44</b>
<b>4.3 Semeadura.....</b>	<b>46</b>
<b>4.4 Descrição das avaliações.....</b>	<b>47</b>
<b>4.5 Mobilização de Reservas.....</b>	<b>47</b>
<b>4.5.1 Amido.....</b>	<b>49</b>
<b>4.5.2 Açúcares solúveis (reduzores e não-reduzores).....</b>	<b>59</b>
<b>4.5.3 Lipídios.....</b>	<b>50</b>
<b>4.5.4 Proteínas totais.....</b>	<b>51</b>
<b>4.5.5 Aminoácidos livres.....</b>	<b>51</b>
<b>4.5.6 Determinação dos teores de íons Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>.....</b>	<b>52</b>
<b>4.6 Atividades enzimáticas em cotilédones.....</b>	<b>53</b>
<b>4.6.1 Enzimas do metabolismo dos lipídios.....</b>	<b>53</b>
<i>4.6.1.1 Lipase.....</i>	<i>53</i>
<i>4.6.1.2 Liase do isocitrato.....</i>	<i>53</i>

4.6.1.2 Sintase do malato.....	54
4.6.2 Enzimas do metabolismo do amido.....	54
4.6.2.1 $\alpha$ - e $\beta$ -Amilases.....	55
4.6.2.2 Fosforilase do amido.....	55
<b>4.7 Concentração de proteína.....</b>	<b>56</b>
<b>4.8 Delineamento experimental e análises estatísticas.....</b>	<b>56</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>57</b>
<b>5.1 Curva de embebição.....</b>	<b>57</b>
<b>5.2 Superação de dormência.....</b>	<b>67</b>
<b>5.3 Germinação sob estresses hídrico e salino.....</b>	<b>72</b>
<b>5.4 Quantificação das principais substâncias de reservas.....</b>	<b>76</b>
<b>5.4 Massa seca.....</b>	<b>79</b>
<b>5. 6 Mobilização de reservas.....</b>	<b>83</b>
<b>5. 5 Atividades enzimáticas.....</b>	<b>100</b>
5.5.1 Enzimas do metabolismo dos lipídios.....	100
5.5.2 Enzimas do metabolismo do amido.....	103
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>106</b>
<b>7 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>107</b>

## 1. INTRODUÇÃO

As relações antrópicas com o ambiente se tornam cada vez mais agressivas à medida que o homem pratica a monocultura, adota novos recursos tecnológicos, degradando e extinguindo ecossistemas, através de práticas irracionais e insustentáveis visando lucros em curto prazo e ignorando o futuro (DIAS, 2000; DUPAS, 2008). As nossas reservas florestais, fontes de recursos naturais, são rotineiramente vítimas da antropização contínua e irracional.

A crescente fragmentação das comunidades florestais, que excede 1,2% ao ano reduz a capacidade de manutenção das funções ecossistêmicas como um todo. Há previsões de que, mantendo-se a taxa atual de desmatamento, por volta do ano 2030, a ocorrência de comunidades florestais, cerrado, mata úmida, caatinga, dentre outros extratos fitossociológicos estarão resumidos a áreas protegidas (BERNACCI *et al.*, 2006).

A velocidade atual de ocupação e de isolamento de áreas naturais dificulta a execução e o planejamento de pesquisas em longo prazo. Intensifica-se assim, a necessidade de pesquisas nas áreas de biodiversidade, fisiologia vegetal, propagação de plantas, ecologia, fisiologia e produção de sementes nos atuais remanescentes vegetais, bem como compreender a estrutura e organização dos processos ecológicos que norteiam estes ecossistemas (MARANGON, *et al.*, 2008).

Além dos fatores antrópicos, os quais são os mais agressivos, as espécies vegetais precisam se defender também das adversidades naturais encontradas no seu ambiente de ocorrência (WALCK *et al.*, 2011). A fase inicial do desenvolvimento das plantas é crítica no seu ciclo de vida, os efeitos das latitude e altitude, variações de temperatura, seca, frio, qualidade do solo são fatores determinantes na dinâmica populacional das espécies florestais (ADLER; HILLERISLAMBERS, 2008; HEDHLY *et al.*, 2009; SHEVTSOVA *et al.*, 2009; KLADY *et al.*, 2011; SAATKAMP *et al.*, 2011) Muitas espécies de plantas possuem adaptações especiais e importantes que conferem estratégias de sobrevivência em condições ambientais adversas. Fatores como condições climáticas, competição, predação e outros estimulam as espécies vegetais a desenvolverem mecanismos de defesa que garantem sua permanência na natureza (LARCHER, 2003). Neste contexto, uma adaptação ecologicamente importante, ocorrente em sementes de espécies arbóreas é o fenômeno da dormência (LARCHER, 2003; MARCOS FILHO 2005).

Segundo Labouriau (1983) são dormentes, as sementes que, depois de expostas a determinadas condições do ambiente, durante a maturação ou após a maturidade, apresentam alterações restritivas das condições exigidas para a germinação. O mesmo autor argumenta

que, os efeitos do ambiente têm caráter indutivo e só podem ser removidos por tratamentos específicos, também de caráter indutivo e em geral, diferente das condições causadoras da dormência.

Dormência em é geralmente, uma adaptação ecológica importante para a sobrevivências de várias espécies de plantas. Por outro lado, a dormência é uma característica indesejável na agricultura, bem como para os viveiristas, onde rápida germinação e crescimento são requeridos, cuja dormência acaba por gerar problemas como desuniformidade entre as mudas, além de maior tempo de exposição às condições adversas, como a ação de pássaros, insetos, doenças, propiciando maior risco de perda de sementes por deterioração (BARBOSA *et al.*, 2005).

É interessante estimular o reflorestamento do semiárido nordestino com plantas nativas perenes, visando sistemas silvipastoris direcionados à população de baixa renda, na tentativa de preservar o agrossistema e diminuir as pressões de desertificação que as regiões semiáridas sofrem. Sendo para isso, importante conhecer os fatores que afetam o desenvolvimento das plantas (AMORIM *et al.*, 2009).

O entendimento da ecologia e da fisiologia de sementes de espécies florestais tem larga abrangência, englobando os processos associados com a produção, dispersão, predação e germinação, como pré-requisitos importantes no recrutamento e regeneração em áreas devastadas (SOUSA *et al.*, 2008). Larcher, (2003) considera que a ecologia da semente fornece um elemento essencial para o conhecimento da dinâmica de populações em relação ao estabelecimento de novos indivíduos em programas de reflorestamento e reconstituição de comunidades vegetais.

Pesquisas sobre a ecologia, fisiologia, produção e propagação de plantas tem relevância no contexto da biologia da conservação, visto que muitas espécies florestais se encontram ameaçadas de extinção, outras podem desaparecer antes mesmo de serem descobertas.

Um grande problema encontrado nas regiões semiáridas é o déficit hídrico, devido à baixa pluviosidade, má distribuição das chuvas, elevada taxa de evapotranspiração e baixa capacidade de retenção de água dos solos, em geral rasos e pedregosos (FRENNE *et al.*, 2012). Outra adversidade ao desenvolvimento das plantas é a salinidade nos solos, devido a uma drenagem insuficiente, irrigação ineficiente, alta taxa de evaporação e baixa precipitação pluviométrica, associada às características do material de origem e às condições geomorfológicas e hidrológicas (JENKS; HASEGAWA, 2005).

Segundo Souza (1994), a salinidade causa queda na produtividade devido ao excesso de íons  $\text{Na}^+$  e do déficit hídrico. Os solos afetados por sais formam aproximadamente 33% da área mundial de solos de irrigação. Estudos relacionados à fisiologia dos estresses abióticos em espécies arbóreas ainda são poucos e, por consequência, as informações são incipientes.

Espécies arbóreas, como as do gênero *Copaifera* e outras, de importância socioeconômica e paisagística carecem de pesquisas que visem avaliar suas respostas às condições adversas do ambiente, tanto do ponto de vista ecológico como econômico, pois tais informações podem ser úteis para traçar o perfil das espécies quanto a sua adaptação em condição de cultivo e em áreas a serem reflorestadas.

No Brasil ocorrem 16 espécies autóctones de copaíba. Todas as variedades produzem uma resina, chamada óleo de copaíba, obtidas por incisão no tronco. Por isso, a árvore é conhecida como “pau-de-óleo”, “óleo branco” e “árvore do óleo diesel” (ROSA; GOMES, 2009).

*Copaifera langsdorffii* Desf. é conhecida popularmente como copaíba, pau-de-óleo, podói e outros. Ocorre em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul, São Paulo, Amazonas, Ceará, Piauí e Paraná. Planta decídua ou semidecídua, heliófita, seletiva, xerófita. Vive tanto na mata primária como nas formações secundárias. A madeira é utilizada na construção civil, movelaria e peças torneadas, etc. Do caule se extrai o bálsamo de copaíba, reputado pelas suas propriedades terapêuticas (LORENZI, 2002; RAO *et al.*, 2001).

Uma vez que a copaíba habita regiões semiáridas sujeitas a períodos de seca e salinidade, estudos sobre detecção de mecanismos de tolerância e/ou adaptação são altamente necessários para um melhor entendimento do comportamento fisiológico desta espécie no seu hábitat natural. Assim, a fisiologia vegetal pode contribuir, e muito, na seleção e indicação de genótipos promissores com maior capacidade produtiva para a produção de mudas através da elaboração de fichas de descritores com indicadores fisiológicos que os classifiquem como tolerantes e adaptados a estresses abióticos.

Face às argumentações mencionadas, o estudo da quebra de dormência, do comportamento germinativo sob estresses salino e hídrico e da mobilização de reservas durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de copaíba submetidas a estresse salino, justifica-se. Os conhecimentos adquiridos na pesquisa poderão ser importantes na contribuição ao propósito de alicerçar um saber mais acurado, visando uma futura reintrodução da referida espécie mediante necessidades.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

- Avaliar diferentes técnicas de superação de dormência, o processo germinativo sob condições salinas e de déficit hídrico, o desenvolvimento de plântulas submetidas a diferentes potencias de solutos com NaCl e relacionar as condições estressantes com a mobilização de reservas cotiledonares em plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.)

#### 2.1.1 Objetivos específicos

- Avaliar a evolução da absorção de água nas sementes de copaíba sob testes de quebra de dormência e em soluções de NaCl ou polietileno glicol 6.000;
- investigar a germinação de sementes de copaíba sob diferentes métodos de superação de dormência;
- estudar o processo germinativo de sementes de copaíba submetidas aos estresses hídrico e salino;
- quantificar as principais substâncias de reservas nas sementes quiescentes de copaíba;
- avaliar os efeitos da salinidade na matéria seca em cotilédones e eixos embrionários, ao longo do desenvolvimento inicial das plântulas;
- obter informações sobre os processos de mobilização de reservas cotiledonares: lipídios, amido, açúcares solúveis: redutores e não redutores, aminoácidos livres e proteínas, durante a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de copaíba em condições salinas;
- relacionar os teores de açúcares solúveis no eixo embrionário com a mobilização de reservas nos cotilédones em condições de salinidade;
- quantificar os teores de íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nos cotilédones e eixo embrionário durante o processo e
- estudar nos cotilédones as atividades das principais enzimas envolvidas na mobilização dos lipídios e do amido durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de copaíba em condições salinas.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fisiologia da semente

Botanicamente semente é um óvulo fecundado e desenvolvido (MASCOS FILHO 2005). Sementes são estruturas biológicas complexas e de grande importância para a maioria dos vegetais como meio de sobrevivência. Guardam, em seu interior, os produtos resultantes de milhares de anos enfrentando riscos durante a dispersão e as mais variadas ameaças a sobrevivência e estabelecimento das plântulas, diante de adversidades naturais, de natureza biótica e abiótica. As sementes são constituídas por tecido de reserva endospermico ou cotiledonar e eixo embrionário, cujo crescimento se encontra temporariamente suspenso, estando protegidas por um envoltório ou cobertura responsável por várias funções, incluindo papel importante na regulação da germinação (SILVA *et al.*, 2012).

Sendo uma porção de vida envolvida por um invólucro resistente e protetor, a semente suporta condições adversas de ambiente através do tempo que a forma esporofítica não suporta. Sua função disseminadora é favorecida pela adaptação do seu envoltório, o qual através da presença de espinhos, ganchos, pêlos, rugosidade, asas e outras estruturas facilitadoras de dispersão por vários agentes (LARCHER, 2003; MARCOS FILHO 2005).

Além de suas funções em relação à própria espécie, a semente foi e continua sendo de fundamental importância para o homem, servindo como principal fonte de alimento e de substâncias nutritivas, tais como carboidratos, proteínas e gorduras, ela teve papel preponderante no início e na sustentação da civilização, pois, esta somente começou quando o homem descobriu a função e importância desse órgão vegetal (CASTRO; HILLHORST, 2004).

A semente possui importantes funções em cultura de expressão econômica: é o material utilizado para a multiplicação de plantas; é a estrutura colhida para comercialização (grãos para consumo), sendo considerada o mais importante insumo agrícola. Em primeiro lugar conduz ao campo as características genéticas determinantes do desempenho da cultivar ou variedade e em segundo lugar é responsável ou contribui decisivamente para o sucesso do estabelecimento do estande desejado, fornecendo a base para a produção rentável (MARCOS FILHO, 2005).

Há cerca de dez mil anos atrás, o homem reduziu o seu modo de vida nômade e passou a constituir sociedades produtivas. Com essa mudança no comportamento da humanidade, surgiu a agricultura, devido à necessidade de alimentos. Desde então, o

intercâmbio de sementes assumiu papel importante na estruturação da vida, especialmente com a domesticação de plantas, que aparentemente foi iniciada aos 7.000 - 5.000 a.C., dirigindo-se principalmente ao milho, ao arroz, ao feijão e a abóbora (BEWLEY, 1997).

### **3.2 Germinação e estabelecimento da plântula**

O encerramento do período de repouso é sucedido pelo início do processo germinativo que constitui uma sequência de eventos fisiológicos, influenciados por vários fatores intrínsecos e extrínsecos às sementes (BEWLEY; BLACK, 1994).

Marcos Filho (2005) argumenta que o processo de germinação é conceituado de maneiras diferentes, dependendo de como a questão é abordada. Há consenso entre os que se dedicam ao estudo da fisiologia vegetal, sob o aspecto botânico, e os tecnologistas de sementes; ambos consideram que a germinação tem início com a embebição. No entanto, para os fisiologistas, o processo germinativo finda com a protrusão da raiz primária, enquanto, sob o ponto de vista tecnológico, as informações devem oferecer certa garantia aos produtores agrícolas, permitindo avaliar a probabilidade de sucesso no campo. Assim, no conceito tecnológico inclui-se o desenvolvimento da estrutura embrionária e a formação de uma planta perfeita.

Larcher (2003) ressalta que germinação é na prática, o recomeço do crescimento por parte do embrião, resultando no rompimento do envoltório da semente e seu desenvolvimento, até um ponto, além do qual a planta pode se manter por conta própria. A germinação envolve a emergência e desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião e da semente, segundo o mesmo autor, poderá suceder uma falsa germinação promovida pela expulsão da radícula de um embrião morto em decorrência do processo de embebição. Neste caso, conforme Carvalho e Nakagawa (2000) é necessário aplicar um critério complementar, como a curvatura geotrópica positiva desse órgão, para confirmar a viabilidade do embrião. O início da germinação é marcado pela embebição, isto é, a hidratação de seu conteúdo, produzindo um aumento de volume da semente e o rompimento de seus envoltórios (SMIDERLE; MOURÃO-JUNIOR; SOUSA 2005).

Morfologicamente, a germinação é a transformação do embrião em plântula, enquanto, sob o ponto de vista fisiológico, a germinação consiste na retomada do metabolismo e do crescimento, que estavam suspensos após a maturidade e o reinício da transcrição do genoma. Bioquimicamente, a germinação refere-se à diferenciação sequencial

dos caminhos oxidativos e de síntese e a retomada de uma sequência de processos bioquímicos característicos do crescimento vegetativo e do desenvolvimento (NIZAM, 2011).

O padrão de respostas da semente de uma dada espécie é determinado por um conjunto de fatores seletivos, bióticos e abióticos, agindo simultaneamente (GORAI; NEFFAT, 2007).

Sementes de plantas de áreas com baixo índice de pluviosidade, como as do semiárido, como estratégia de sobrevivência, germinam mais rápido do que as de outros ambientes, já que estão programadas fisiologicamente para germinarem no curto espaço de tempo das estações chuvosas e em os níveis de salinidade do solo são geralmente reduzidos e há disponibilidade hídrica suficiente para favorecer a germinação (GORAI; NEFFAT, 2009)

Quando as sementes não germinam embora colocadas em condições favoráveis à sua germinação, são consideradas “dormentes”, podendo ser enquadradas em uma das seguintes categorias: embrião imaturo, impermeabilidade do tegumento a água e/ou a gases, embrião dormente, tegumento mecanicamente resistente ao crescimento, bloqueio metabólico na fisiologia da semente causado pela sensibilidade à luz e temperatura, presença de inibidores químicos da germinação, e ainda, uma combinação de causas (MARCOS FILHO, 2005). Para Larcher (2003) dormência é um período em que o crescimento é suspenso ou reduzido, frequentemente quando as condições ambientais são adversas.

Conforme Frenne (2012), o clima pode condicionar ou não a dormência das sementes em certas regiões. No caso das florestas tropicais úmidas, onde as condições são mais favoráveis para a germinação das sementes, a viabilidade é perdida rapidamente e a dormência só serve para prolongar o processo de germinação. O autor explica ainda que este comportamento não é vantajoso, uma vez que um grande número de sementes, deste tipo de vegetação sofre alta taxa de predação e a longevidade não seria ecologicamente importante.

A dormência torna-se favorável para as espécies das regiões de clima árido, onde as chuvas são de distribuição irregular, e a dormência funcionaria como uma adaptação para prevenir as sementes de germinar na estação seca, cujas condições não são propícias para fornecer a umidade necessária à germinação e ao estabelecimento das plântulas. Larcher (2003) acredita que nas regiões áridas e semiáridas, algumas plântulas morrem durante o período de estiagem, e em consequência, outras sementes que permanecem dormentes no solo, germinam nos anos subsequentes, graças a mecanismos que as defendem contra essas condições adversas. Dessa forma, a dormência retarda a germinação e a distribui no tempo, sendo efetiva como mecanismo de sobrevivência.

Segundo Marcos Filho (2005) a dormência se apresenta vantajosa para a perpetuação e o estabelecimento de muitas espécies vegetais nos mais variados ambientes. Por outro lado, Barbosa *et al.* (2005) consideram que a dormência é uma característica indesejável na agricultura, bem como para os viveiristas, onde rápida germinação e crescimento são requeridos, cuja dormência acaba por gerar problemas como desuniformidade entre as mudas, além de maior tempo de exposição às condições adversas, como a ação de pássaros, insetos, doenças, além de maior risco de perda de sementes por deterioração.

A dormência imposta por impermeabilidade tegumentar é predominante entre as leguminosas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). A presença de um tegumento duro, impermeável à água e aos gases dificulta o processo de absorção de água pela semente e restringe os processos físicos e as reações metabólicas básicas da germinação (BORGES *et al.*, 2004). A escarificação mecânica e química, bem como a imersão em água em diferentes temperaturas são métodos bastante utilizados e com sucesso, na superação desse tipo de dormência, encontrado em sementes de espécies florestais. No entanto, a aplicação e a eficiência destes tratamentos dependem da intensidade da dormência, o que é variável entre as espécies (SILVA *et al.*, 2007). O local e data da coleta também são fatores que podem influenciar a intensidade da dormência. (GARCIA *et al.*, 2002; BARBOSA *et al.*, 2005; ALVES *et al.*, 2007;). Sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos apresentaram variações na germinação, em função da data e do local de coleta, o que pode estar associado ao estágio de maturação e à influência do ambiente (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

O uso do ácido sulfúrico é comum para a quebra da dormência tegumentar, no entanto, a sua eficiência está relacionada com o tempo de exposição ao ácido e à espécie (SILVA *et al.*, 2007). Azeredo *et al.*, (2010) constataram que os tratamentos de imersão em água a 70, 80, 90 °C e fervente por 1, 2, 3, 4 e 5 minutos aumentaram o percentual de germinação, porém, a imersão em ácido sulfúrico concentrado por 20, 25 e 30 minutos foi mais eficiente para a superação da dormência de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. Já para sementes de *Ochroma lagopus* Sw., a imersão no ácido sulfúrico concentrado por 1 minuto foi suficiente para proporcionar alta germinação (BARBOSA *et al.*, 2004). A escarificação mecânica constitui-se em um método simples e de baixo custo, sendo indicada como o método mais eficiente para a promoção da germinação em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (RODRIGUES *et al.*, 2009) e *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul.. (LIMA JÚNIOR, 2006). Entretanto, a escarificação excessiva pode causar danos ao tegumento e diminuir a germinação. Costa *et al.* (2010) verificaram que a imersão em água fervente por 10

e 15 minutos deteriorou as sementes de *Adenanthera pavonina* L., com conseqüente morte do embrião, impossibilitando a germinação.

A formação da plântula resulta do desenvolvimento do embrião logo após a germinação, o termo plântula é aplicado ao organismo vegetal enquanto este for nutricionalmente dependente das substâncias contidas nos tecidos de reserva da semente (MELO *et al.*, 2004). O término dessa fase do desenvolvimento geralmente coincide com o momento em que a plântula alcança a taxa de crescimento máximo, passando a depender da atividade fotossintética, quando passa a ser considerada como uma planta propriamente dita (LARCHER, 2003).

O período compreendido entre o início da germinação e o estabelecimento da plântula é considerado uma fase de crucial importância do ponto de vista fisiológico e reprodutivo das plantas. Tal processo, pode ser influenciado por vários fatores, como: quantidade e qualidade das reservas energéticas; morfologia funcional dos cotilédones; fatores abióticos (temperatura, disponibilidade de oxigênio e luz, excesso ou déficit hídrico, salinidade); e, finalmente, interações com outras espécies (MELO *et al.*, 2004; TAIZ; GEIZER, 2009).

O estabelecimento das plântulas constitui um dos processos ecológicos mais importantes para a propagação de uma espécie. Tal fase é responsável por garantir maior ou menor probabilidade no sucesso adaptativo e reprodutivo, sendo, portanto, importante e necessário conhecer o comportamento das espécies quanto à rapidez no crescimento, como por exemplo, por meio da mensuração dos incrementos em altura, diâmetro e número de folhas em um intervalo temporal (SAATKAMP *et al.*, 2011).

O estabelecimento de uma espécie está ligado à capacidade de suas sementes germinarem rápida e uniformemente, a fim de vencer as adversidades do hábitat e a concorrência com outras espécies presentes no local, ou pela capacidade de se manterem viáveis por períodos mais longos até que condições ambientais sejam propícias ao desenvolvimento das plântulas (FRENNE *et al.*, 2012). Para tanto, cada espécie desenvolve adaptações, como a mobilização de determinadas reservas que serão úteis para a formação de estruturas físicas, como parede celular, ou para a respiração, sintetizando intermediários metabólicos com finalidades diversas (BORGES; RENA, 1993).

### **3.3 Efeitos do déficit hídrico e da salinidade na germinação e estabelecimento da plântula**

Plantas frequentemente se deparam com condições desfavoráveis durante o crescimento e desenvolvimento. Fatores climáticos, como temperaturas extremas (calor, frio, congelamento) seca, (precipitação deficiente, ventos de secagem) e contaminação dos solos por alta concentração de sal, são importantes estressores abióticos ambientais que limitam o crescimento, o desenvolvimento e rendimento das plantas (JENKS; HASEGAWA, 2005). Por outro lado, estes fatores geoclimáticos aliados a fatores interativos genético-ambiental contribuem para fatores agrônômicos e desempenham um importante papel na determinação da distribuição geográfica das espécies vegetais. Estas adversidades, diferentes, porém, não necessariamente letais são geralmente conhecidos como estresses. O stress ambiental pode perturbar as estruturas celulares e prejudicar as principais funções fisiológicas (LARCHER, 2003). Seca e salinidade, associados a características edáficas impõem um estresse osmótico que pode levar à perda de turgescência, baixas temperaturas podem comprometer os sistemas de membranas e de transportes de solutos e fotoassimilados. Os sistemas de membranas podem se desorganizar, proteínas podem sofrer perda de actividade ou serem desnaturadas, e muitas vezes, níveis de excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidos, levando a danos oxidativos (DOBRA *et al.*, 2010). Como consequência, ocorre inibição da fotossíntese, disfunção metabólica, e danos das estruturas celulares contribuindo para o desequilíbrio fisiológico que compromete severamente a fertilidade e induz senescência prematura. Diferentes espécies de plantas são altamente variáveis em relação à seus ambientes ideais, um ambiente áspero pode oferecer condições prejudiciais para uma dada espécie vegetal e não ser estressante para outra (LARCHER, 2003).

#### ***3.3.1 Importância da água para as plantas***

A água é a substância mais abundante na biosfera e a mais importante sob o ponto de vista biológico. Acredita-se que os organismos vivos tenham sua origem em ambiente aquático e tornaram-se dependentes da água durante sua evolução, sendo impossível viver sem a mesma (TAIZ; ZEIGER, 2009).

De todas as substâncias absorvidas pelas plantas, a água é obviamente a de maior necessidade e em maior quantidade (REICHARDT, 1993). Larcher (2000) ressalta que a disponibilidade hídrica dos solos é fator limitante para o crescimento, desenvolvimento e

produção vegetal. O autor enfatiza ainda que a primeira e mais sensível resposta ao déficit hídrico é a diminuição da turgescência, com consequente redução do processo de crescimento. Segundo o mesmo autor, o metabolismo proteico e dos aminoácidos é rapidamente limitado.

O movimento e a disponibilidade de água para as sementes são de grande importância para a germinação, crescimento inicial do sistema radicular e emergência das plântulas, a embebição depende do gradiente de potencial hídrico existente entre a semente e o meio. Sementes ortodoxas quiescentes possuem potencial mátrico muito baixo, consequentemente, o potencial hídrico é muito negativo, por volta de -200 MPa, podendo ser ainda mais negativo dependendo da espécie. A baixa disponibilidade de água no meio diminui o gradiente de potencial hídrico entre este e a semente, consistindo uma limitação sobre a embebição (BEWLEY; BLACK, 1994).

Potenciais hídricos muito negativos imposto por salinidade ou seca, especialmente no início da embebição, influenciam a absorção de água pelas sementes, podendo inviabilizar a sequência de eventos do processo germinativo (LIMA; TORRES, 2009). O estresse hídrico geralmente contribui para a diminuição da velocidade e percentagem de germinação das sementes, sendo que para cada espécie existe um valor de potencial hídrico no solo, abaixo do qual a germinação não ocorre. Estresses hídrico e salino estão correlacionados com o excesso de sais solúveis, reduzindo o potencial hídrico do solo e impedindo absorção pelas sementes e plantas (NISHIZAWA *et al.*, 2008);.

Estudos a respeito das relações hídricas são importantes para o conhecimento da biologia das sementes. A habilidade de tolerar a dessecação que as sementes ortodoxas apresentam, podendo sobreviver durante longos períodos sob condições adversas, tem sido o mecanismo adaptativo que permite a distribuição de plantas em climas parcialmente hostis. Sob baixos níveis de umidade no meio germinativo, é comum o desenvolvimento de mecanismos protetores contra a dessecação e para evitar a cessação dos processos metabólicos (BEWLEY; BLACK, 1994).

Além do déficit hídrico, a salinidade da água e do solo apresenta-se como outro fator problemático para o crescimento das plantas no semiárido (KONG *et al.* (2012). Petridis, *et al.* (2012) definem salinidade como o excesso de sais (íons) inorgânicos nos solos ou no meio de cultivo das plantas, e representa um dos principais problemas na agricultura em todo o mundo. O problema se agrava em regiões semiáridas devido às condições favoráveis à salinização. Segundo Jenks (2005) o processo natural de salinização dos solos envolve a acumulação de íons, principalmente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{HCO}_3^-$  nas camadas superficiais do solo.

A área de insuficiência hídrica do Nordeste brasileiro abrange uma superfície de 150 milhões de hectares. Nessa região, a maioria dos perímetros de irrigação apresenta solos com alto teor de sal, que provoca desde a diminuição nos rendimentos das culturas até o abandono das áreas exploradas ficando as mesmas sujeitas à desertificação (BARROS *et al.*, 2009).

A alta concentração de sais é um fator estressante para as plantas, pois, reduz o potencial osmótico e proporciona a ação dos íons sobre o protoplasma. A água é osmoticamente retida na solução salina, de forma que o aumento da concentração de sais a torna cada vez menos disponível para as plantas (RIBEIRO *et al.*, 2008). Assim, com o aumento da salinidade ocorre diminuição do potencial osmótico do solo, dificultando a absorção de água pelas raízes (AMORIM *et al.*, 2002).

As sementes também sofrem influência significativa da condição de salinidade dos solos. O alto teor de sais, especialmente de cloreto de sódio (NaCl), pode inibir a germinação devido à diminuição do potencial osmótico, ocasionando prejuízos às demais fases do processo (LIMA; TORRES, 2009).

Nas regiões áridas e semiáridas, o excesso de sais no solo tem limitado a produção agrícola. A salinidade, tanto dos solos como das águas, é uma das principais causas da queda de rendimento das culturas. Entretanto, os efeitos dependem, ainda, de outros fatores, como espécie, cultivar, estágio fenológico, tipos de sais, intensidade e duração do estresse salino, manejo cultural e da irrigação e condições edafoclimáticas (TESTER; DAVÉNPORT, 2003).

Gheyi (2000) discorre que o excesso salino promove diminuição na pressão osmótica e toxicidade para o desenvolvimento da fauna e da flora, diminuindo as taxas de mineralização e humificação da matéria orgânica, tornando os solos menos férteis. Nesse contexto, a redução do crescimento das plantas devido à salinidade, pode estar relacionada a déficit hídrico provocado por efeitos osmóticos ou de efeitos específicos de íons que podem acarretar toxidez ou distúrbios nutricionais.

A tolerância à salinidade é um processo que depende da capacidade das plantas de amenizar os efeitos causados pelo excesso de sal através de mecanismos específicos de adaptação (MUNNS, 2002; LACERDA, 2005). Taiz e Zeiger (2009) consideram que enquanto plantas glicófitas são afetadas de forma adversa pela presença de níveis relativamente baixos de sal, as halófitas podem sobreviver com altos níveis ou mesmo prosperar sob tais condições. Os mecanismos pelos quais as plantas toleram a salinidade são complexos, envolvendo síntese molecular, indução enzimática e transporte de membrana.

A avaliação do comportamento de espécies arbóreas em solos degradados, visando à escolha de plantas mais tolerantes aos sais, representa uma alternativa viável, já que são espécies de uso múltiplo, que além de fornecerem uma excelente cobertura vegetal, apresentam sistemas radiculares profundos, que pode reduzir a evaporação da água, aumentar a permeabilidade e a porosidade do solo. Várias são as formas de se elevar à produção de biomassa em solos com características desfavoráveis, como a utilização de insumos agrícolas (fertilizantes, corretivos ou fontes alternativas), a adoção de técnicas de manejo adequada e a utilização de espécies tolerantes às condições salinas (HOLANDA *et al.*, 2007).

Floriano (2004) sustenta que o cultivo de espécies arbóreas associadas ao uso de corretivos é uma alternativa promissora para a reintegração de solos salinizados por meio da exploração agrícola. Os efeitos benéficos da implantação dessas espécies nesses solos explicam-se pelo fato do sistema radicular atingir camadas profundas do solo, aumentando a sua permeabilidade, diminuindo assim, a evaporação e possibilitando melhorias nas propriedades físico químicas dos solos.

Os efeitos da salinidade sobre as plantas estão atrelados a diversos fatores, caracterizados pelas influências impostas pelo ambiente e condições fisiológicas das plantas, de crescimento e desenvolvimento de diferentes espécies e das condições estressantes e de manejo de saberes (ALIAN *et al.*, 2000). Várias espécies podem até mesmo ser favorecidas quando expostas a altas concentrações de NaCl (TESTER; DAVENPORT, 2003). Determinadas plantas são beneficiadas pela salinidade durante a germinação, o que lhes confere maior capacidade de adaptação ao estresse salino (VIANA *et al.*, 2004).

A aplicação da salinidade em plantas, dependendo da espécie cultivar ou variedade podem induzir a resultados positivos na produção agrícola, consistindo num método eficiente na avaliação de genótipos sensíveis ou tolerantes ao estresse salino. Khodadad (2011) estudando a fisiologia do estresse em seis genótipos (KM5, KM8, KM12, KM19, KM47 e Kose) de açafão (*Carthamus tinctorius* L.), usando água destilada (0,0 MPa) e quatro concentrações de NaCl (-0,3, -0,5, -1 e - 1,5 MPa) verificou que os genótipos KM5, KM8 e KM47 são sensíveis a salinidades nos potenciais de soluto de -1,0 e -1,5 MPa, devido a redução nas atividades enzimáticas que culminou com uma menor germinação, baixo vigor e redução no tamanho das plântulas. Por outro lado, o genótipo Kose foi considerado tolerante ao estresse salino por exibir comportamento satisfatório em potenciais de soluto equivalentes, apresentado bom desempenho nas variáveis avaliadas. Kaya *et al.* (2006) reportaram que a percentagem de germinação de sementes de *Helianthus annuus* L. não foi influenciada pelo NaCl em níveis de NaCl de 23,5 dSm<sup>-1</sup>. (-1,06 MPa).

Em contra partida, sementes de algumas espécies submetidas a altas concentrações de sal podem apresentar um tipo incomum de dormência e não germinarem, Lin *et al.* (2012) verificaram que algumas sementes de trigo, submetidas a concentrações de NaCl de 300, 400, e 500 mM não germinaram. Contudo, quando essas sementes foram semeadas e irrigadas com água destilada germinaram bem. Sobre tal fenômeno, Debez *et al.* (2004) explicam que, isso pode ser uma estratégia adaptativa da germinação da semente em ambiente salino. Os autores ressaltam ainda, que a condição extrema de salinidade induziu a semente entrar em um tipo de dormência secundária e que o sal, apenas retardou a germinação sem comprometimento da viabilidade.

### **3.4 Substâncias de reserva e sua mobilização durante a germinação**

Durante e após o processo germinativo, desencadeia-se um intenso processo de mobilização das reservas que foram armazenadas pela planta mãe durante o desenvolvimento da semente. Essas substâncias são importantes fontes energéticas para os processos metabólicos e como fonte de esqueletos de carbono, para a construção dos tecidos vegetais (BEWLEY; BLACK, 1994; BUCKERIDGE *et al.*, 2004).

A composição química das sementes apresenta a mesma variação qualitativa de componentes encontrada em outras partes da planta; inclui substâncias classificadas como componentes estruturais, materiais armazenados e produtos secundários. O conhecimento da composição química da semente é de fundamental importância para o estabelecimento de diretrizes, visando a sua utilização como fonte de alimento para o homem e outros animais ou como matéria-prima de ampla aplicação industrial (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Desde longa data as sementes vem sendo estudadas quanto à composição química de suas reservas, o interesse não se dá apenas por seu teor nutritivo, mas também pela utilização na confecção de produtos industrializados e outros fins. Além disso, o estudo da composição química é do interesse prático da tecnologia de sementes, pois, tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento de sementes são influenciados pelo teor dos seus componentes (BUCKERIDGE *et al.*, 2004).

Há uma grande variação na composição química das sementes, em geral, as reservas são armazenadas no endosperma e/ou no embrião sendo carboidratos, proteínas e lipídios as principais substâncias armazenadas. A quantidade, composição química, propriedades e outros atributos estão relacionados ao ambiente de ocorrência, à espécie,

cultivar ou variedades (BEWLEY; BLACK, 1994; BUCKERIDGE *et al.*, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

### 3.4.1 Carboidratos

Carboidratos são polihidroxi aldeídos ou polihidroxi cetonas ou substâncias que liberam estes compostos por hidrólise. São os principais componentes de reservas das sementes da maioria das espécies cultivadas. Sua principal função é o fornecimento de energia para a retomada do crescimento do embrião durante a germinação (NELSON; COX, 2006). O amido e os polissacarídeos de reserva de parede celular são os principais carboidratos de reserva em sementes (BEWLEY; BLACK, 1994).

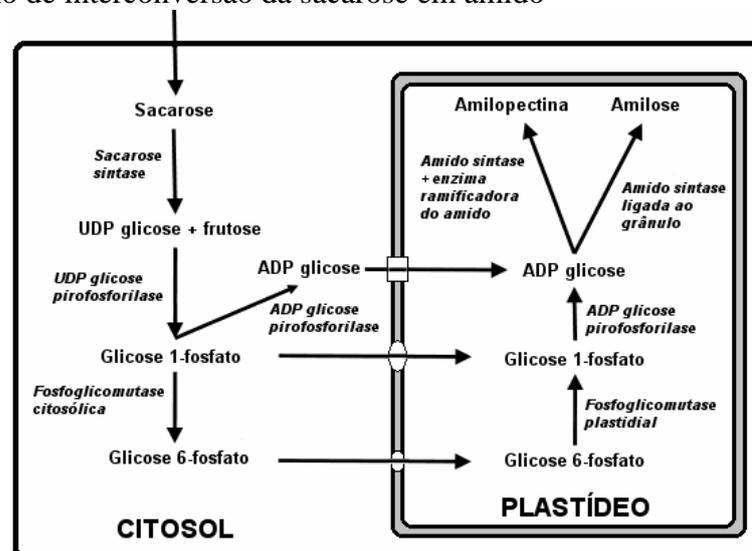
Os carboidratos de reserva armazenado em sementes de leguminosas têm sido aplicados como indicadores taxonômicos. Muitas Fabaceae Papilionoideae armazenam grandes quantidades de amido em suas sementes; em outras, sua ocorrência é pequena ou ausente. Em Caesalpinioideae e Mimosoideae o amido como reserva em sementes é uma exceção (HEGNAUER; GPAYER BARKMEIJER, 1993).

O amido é um carboidrato homopolissacarídeo, metabolicamente inativo, armazenado em maiores quantidades nas sementes, principalmente no endosperma de gramíneas e no embrião de várias eudicotiledôneas (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007). O amido é constituído de cadeias longas de amilose e amilopectina, a primeira é formada de cadeias de D-glicose, não ramificadas, compostas de 200 a 1000 unidades de glicose, unidas por ligações glicosídicas de configuração  $\alpha$ -1,4. A segunda é uma molécula muito maior, com cadeias ramificadas, unidas à cadeia principal por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,6. A maioria dos grãos de amido é composta por cerca de 20-25% de amilose e de 50-75% de amilopectina (MARCOS FILHO, 2005).

Segundo Taiz e Zeiger (2009), várias são as vias metabólicas e enzimas nos tecidos vegetais capazes de metabolizar o amido. Durante sua síntese, ocorre a participação de diversas isoformas da amido sintase, havendo ainda, a participação de enzimas ramificadoras e desramificadoras em etapas subsequentes (Figura 1). O conjunto destas enzimas é uma função da origem botânica de cada amido, assim, a mesma planta pode sintetizar diferentes tipos de amido, como o amido transitório, sintetizado em folhas, ou aquele encontrado em órgãos vegetativos ou ainda sintetizado em amiloplastos de órgãos e estruturas de armazenamento como sementes de oleaginosas durante a formação da semente, e, em alguns casos, durante a germinação (NELSON; COX, 2006).

As enzimas degradadoras de amido atuam sobre as ligações glicosídicas, desmembrando os grânulos de amido em estruturas menores, como a maltose e a glicose. As principais enzimas são a  $\alpha$ -amilase, a  $\beta$ -amilase e a fosforilase do amido. A  $\alpha$ -amilase é uma endoenzima que hidrolisa aleatoriamente as ligações  $\alpha$ -1,4 nas cadeias amilósicas e amilopectínicas, sendo a primeira enzima a atuar no processo de degradação do amido, pela sua capacidade de agir diretamente no grânulo, liberando moléculas de maltose e moléculas maiores contendo ligações  $\alpha$ -1,6, as dextrinas. Enquanto que a  $\beta$ -amilase é uma exoglucanase que ataca somente os terminais não redutores dos polímeros do grânulo de amido. Essa enzima pode hidrolisar completamente a amilose, porém, hidrolisa parcialmente a amilopectina, pois, ela não consegue quebrar as ligações  $\alpha$ -1,6, o resultado é também a liberação de dextrinas. Por ultimo, a amido fosforilase ataca as ligações  $\alpha$ -1,4 incorporando um fosfato entre a penúltima e a última molécula de glicose da extremidade não redutora, liberando glicose-1-fosfato, que pode ser utilizada diretamente na produção de sacarose, e também de dextrinas. Essas dextrinas liberadas são então hidrolisadas por enzimas desramificadoras, que atuam sobre as ligações  $\alpha$ -1,6, liberando frações finais redutoras que possibilitam a completa degradação do amido pelas exoenzimas (BEWLEY; BLACK, 1994; BUCKERDIGE *et al.*, 2004; NELSON; COX, 2006).

Figura 1 - Modelo de interconversão da sacarose em amido



Fonte: Emes *et al.* (2003).

A conversão do amido a açúcares solúveis (sacarose, glicose e frutose) envolve várias enzimas em mais de uma via metabólica, representando um exemplo clássico de heterogeneidade da atividade enzimática (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Acredita-se que somente com a ação conjunta da  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase enzimas desramificadoras e  $\alpha$ -glicosidase, pode-se obter *in vivo*, a completa hidrólise do amido. Entretanto, o processo de degradação do amido vem sendo estudado sob aspectos mais amplos, ao longo da germinação de sementes de cereais e leguminosas, enquanto as vias de degradação em células de tecidos vegetais vivos e a participação de cada uma destas enzimas na hidrólise do amido carecem de maior conhecimento (SARIKAYA *et al.*, 2000; NASCIMENTO *et al.*, 2006).

Diferenças marcantes são encontradas quando comparados os modelos de degradação de amido encontrado em órgãos de armazenamento de cereais como sementes de cevada e arroz e de leguminosas como o feijão e a ervilha, ou ainda aquele acumulado de forma transiente em cloroplastos de células de folhas durante o dia, o qual é conhecido como amido transitório (LLOYD; KOSSMANN; RITTE, 2005; SMITH *et al.*, 2005).

Na Figura 2, estão representados alguns modelos propostos para a degradação do amido de diferentes origens vegetais.

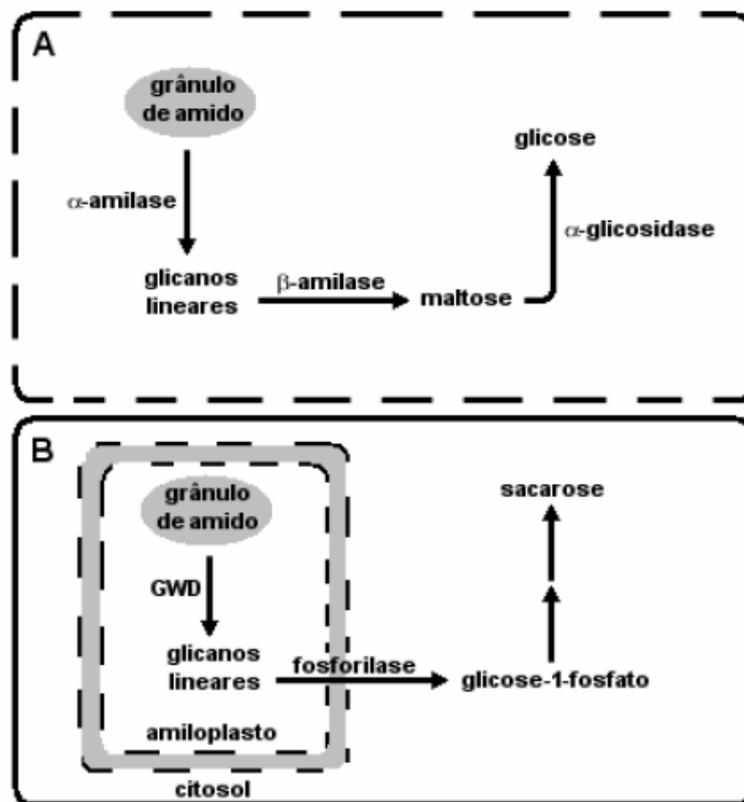
Em sementes de cereais, o estabelecimento da degradação do amido acontece durante a germinação, mediado pela intensa síntese “de novo” da  $\alpha$ -amilase, a qual é sinalizada pelas giberelinas, acompanhado pela ação da  $\beta$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase nas dextrinas liberadas. O amido armazenado em cotilédones de leguminosas ou em tubérculos parece ser degradado principalmente por vias fosforolíticas (SMITH *et al.*, 2005).

O efeito da salinidade sobre os processos metabólicos nas plantas tem sido largamente estudado na literatura. Munns, (2002) argumenta que o efeito da salinidade é consequência de dois distintos componentes do estresse salino: (1) o componente osmótico resultante da elevada concentração de solutos na solução do solo, provocando um déficit hídrico pela redução do potencial osmótico; (2) o componente iônico, decorrente dos elevados teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  e da alterada relação  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  e outros nutrientes. O modelo bifásico de redução do crescimento, proposto por Munns identifica a diminuição do potencial osmótico como o primeiro fator de redução do crescimento e, o efeito específico dos íons, como o segundo. Esses fatores interferem direto nos processos enzimáticos inibindo a degradação de reservas em órgãos vegetais como sementes em germinação. Consequentemente, a concentração de sais aumenta no citoplasma e inibe a atividade de enzimas de várias rotas metabólicas (WILLADINO, 2005; PRISCO; GOMES FILHO, 2010).

Como já mencionado, as amilases são enzimas chaves na degradação do amido em sementes em germinação. Em condições de salinidade as atividades dessas enzimas são fortemente inibidas em várias espécies vegetais.

Trabalhando com sementes de *Vigna unguiculata* semeadas em água (controle) e em solução de 125 mM de NaCl, Prisco e Enéas-Filho (1981) verificaram decréscimo nos teores de amido nos cotilédones e acúmulo nos teores de açúcares solúveis nos cotilédones e no eixo embrionário, durante a germinação.

Figura 2 - Modelos de degradação de amido em cotilédones de cereais e leguminosas e em folhas. (A) via pela qual o amido é convertido em maltose e glicose no endosperma de cereais. A membrana plasmática e o envelope do amiloplasto são degradados no início da germinação. (B) conversão do amido em açúcar nos cotilédones de leguminosas



FONTE: Smith *et al.* (2005).

Segundo os autores, isso pode ter sido causado devido a inibição da translocação dos produtos da hidrólise do amido em função da salinidade. Zayed e Zeid (1997) e Zaid (2010), trabalhando com sementes de *Phaseolus vulgaris*, semeadas em NaCl -1,0 MPa constataram forte inibição nas atividades total e específica das  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases durante a germinação em comparação as semeadas em água destilada. Marques *et al.* (2009) estudando o comportamento de sementes de cajueiro anão precoce submetidas a estresse salino observaram forte inibição nas atividades das amilases, atribuindo tais efeitos aos elevados teores de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  nos tecidos das sementes em germinação. Murata *et al.* (2012) estudando o comportamento de plântulas de *Elaeagnus oxycarpa* cultivadas em solução de 300 mM de NaCl encontraram efeitos tóxicos nos processos enzimáticos, devido ao estresse

salino. Dentre outros trabalhos na literatura relacionados a efeitos inibitórios da salinidade nas atividades amilásicas em plantas, citam-se (NIKNAM *et al.*, 2006; VOIGT, 2009; LIN 2012).

### 3.4.2 Lipídios

Os lipídios pertencem a um grupo de compostos quimicamente diferentes entre si, mas, com uma característica comum a todos, a insolubilidade em água. São ésteres de ácidos graxos e glicerol, conhecidos como triglicerídeos ou triacilgliceróis, por ser cada molécula de glicerol, combinada com três moléculas de ácidos graxos (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007).

Em sementes, os lipídios são armazenados na forma de triacilgliceróis, depositados em organelas denominadas esferossomos ou corpúsculos de óleo. São compostos mais reduzidos e, portanto, os lipídios são considerados fontes de energia mais eficientes do que os carboidratos durante a germinação e constituem forma importante de reserva (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A grande maioria dos lipídios presentes em sementes é do tipo simples, em que os ácidos graxos são identificados pelo número de átomos de carbono e de ligações duplas. Os saturados contêm apenas ligações simples, com número par de átomos de carbono. O ácido palmítico é o principal ácido graxo saturado das sementes oleaginosas. Contudo, os mais comuns são os insaturados, com uma ou mais ligações duplas nas cadeias hidrocarbonadas. Os principais ácidos graxos insaturados encontrados em sementes são o oleico (18:1) e o linoleico (18:2), representando cerca de 60% da massa de todos os lipídios em sementes oleaginosas (BUCKRIDGE *et al.*, 2004; NELSON; COX, 2006).

Além dos lipídios de reserva, são importantes os fosfolipídios polares, constituintes essenciais dos sistemas de membranas celulares. A organização das membranas afeta diretamente a normalidade dos processos fisiológicos em sementes, como a germinação, a dormência, o vigor, a tolerância à dissecação e o condicionamento fisiológico. São os principais alvos do processo de deterioração pós-maturidade, de modo que a manutenção de sua integridade beneficia o desempenho das sementes (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989).

A mobilização dos lipídios envolve a ação de lipases, enzimas que clivam a ligação éster dos triglicerídios ou de seus derivados (diacilgliceróis e monoacilgliceróis), liberando uma molécula de glicerol e até três moléculas de ácidos graxos (STONE; GIFFORD, 1999). O glicerol é utilizado na síntese de glicose e os ácidos graxos livres são

degradados a acetil-CoA, que poderá ser utilizado no ciclo do glicoxalato para produzir sacarose depois de outros processos enzimáticos na gliconeogênese (TAIZ; ZEIGER, 2009). A maior parte do glicerol resultante da ação das lipases sobre os triglicerídios é convertida a glicerol-fosfato, no citoplasma, o mesmo é oxidado a diidroxiacetona-fosfato, na mitocôndria. Esse composto é um dos intermediários da gliconeogênese e, ao retornar ao citosol, contribui para a formação de hexoses, empregadas na síntese de sacarose, que por sua vez é translocada para o eixo embrionário em crescimento (BUCKERIDGE *et al.*, 2004).

As lipases que possuem atividade ótima em pH 4,0 e diminuem após a germinação são consideradas como não associadas a mobilização dos triglicerídios; já as lipases com atividade ótima em pH 7,0 aumentam a atividade durante a mobilização dos triglicerídios, após a germinação. A atividade dessas lipases encontrasse no citoplasma ou nos glioxissomos, e não nos corpos lipídicos (BEWLEY; BLACK, 1994). O processo pelo qual essas enzimas tem acesso ao seu substrato ainda não foi elucidado a contento. Sabe-se no entanto, que a mobilização dos lipídios está associada às oleosinas, proteínas de baixo peso molecular presentes nas membranas dos corpos lipídicos (TAIZ; ZEIGER 2009).

O destino dos subprodutos da hidrólise de triglicerídios é variável. O glicerol pode ser reutilizado para a síntese de triglicerídios, utilizado na respiração, ou convertido à sacarose e transportado ao eixo embrionário em crescimento. Enquanto que os ácidos graxos livres podem sofrer  $\beta$ -oxidação e o seu produto, acetil-CoA, poderá ser utilizado na respiração celular ou na síntese de glicose (BEWLEY; BLACK, 1994).

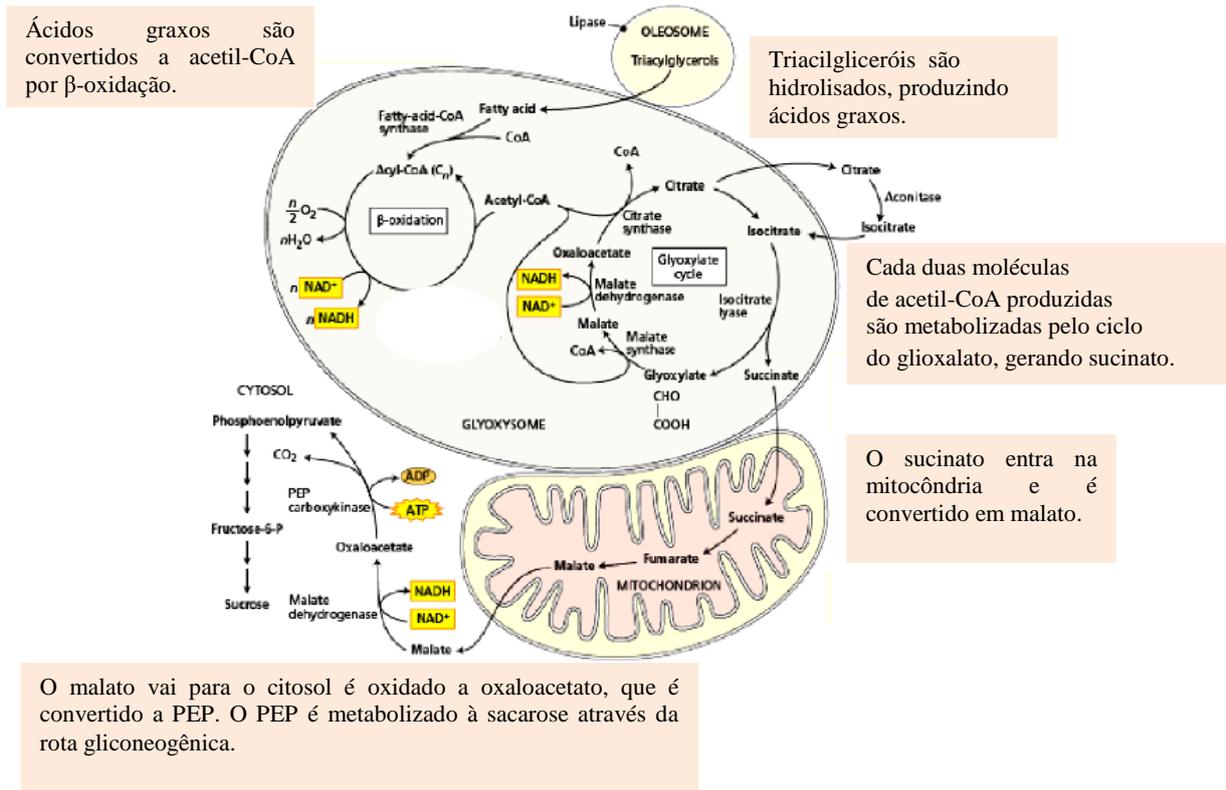
Conforme Taiz e Zeiger (2009), durante a germinação, as sementes oleaginosas metabolizam os triacilgliceróis, convertendo-os em uma forma mais móvel de carbono, geralmente sacarose. Esse processo envolve uma série de etapas, localizadas em diferentes compartimentos celulares (Figura 3).

As atividades das enzimas envolvidas no metabolismo dos lipídios são sensíveis às altas concentrações de NaCl no interior das células. Kumar: Sana e Hossain, (2004), analisando o comportamento fisiológico de sementes e plântulas de *Brassica napus*, cultivadas sob várias concentrações de NaCl (0, 50, 150 e 200 mM) constataram que a mobilização dos produtos derivados da degradação lipídica foi severamente inibida nas concentrações acima de 110 mM, devido aos efeitos inibitórios nas atividades das enzimas envolvidas no metabolismo dos lipídios.

Os autores explicaram que a inibição da lipase nos cotilédones foi causada por um efeito direto dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  ou por um efeito indireto do sal, modificando a expressão dos genes decodificadores da enzima, afetando a sua síntese *de novo*. A germinação de diferentes

genótipos de cártamo (*Carthamus tinctorius* L.) não foi afetada significativamente pelo aumento das contrações de NaCl de 0, 5, 10 e 15 dSm<sup>-1</sup>. Porém, reduziu a massa seca das plântulas com consequente diminuição no tamanho das mesmas, causadas por distúrbios nos processos de degradação dos lipídios (GHAZIZADE; GOLKAR; SALEHINEJAD, 2012).

Figura 3 - Conversão de lipídios em açúcares durante a germinação de sementes oleaginosas



Fonte: Adaptado de Taiz e Zeiger (2009).

Similares resultados sobre a inibição nas atividades lipásicas foram encontrados em sementes de *Phaseolus vulgaris* (ZAYED; ZEID, 1997; ZAIED, 2010), *Brassica napus* (KUMAR; SANA; HOSSAIN, 2004) *Carthamus tinctorius* (GHAZIZADE; GOLKAR; SALEHINEJAD, 2012), *Elaeagnus oxycarpa* (MURATA *et al.*, 2012),

### 3.4.3 Proteínas

As proteínas são macromoléculas de estruturas complexas, formadas por polímeros de aminoácidos. Todas as reações fisiológicas em células vivas giram em torno das

propriedades químicas e físicas das proteínas, daí, a grande importância desses compostos para a vida vegetal e animal.

As proteínas vegetais podem ter função estrutural, nutritiva ou enzimática, participando da estrutura de tecidos, liberando aminoácidos usados como substratos para respiração e monitoramento de reações químicas. Outras proteínas participam do mecanismo de transporte, de defesa ou como reguladoras de processos fisiológicos (MARCOS FILHO, 2005).

As proteínas de reserva de muitas sementes são encontradas em organelas delimitadas por uma membrana simples, as quais são chamadas de corpos proteicos, esses corpos são vesículas derivadas do retículo endoplasmático rugoso, em algumas gramíneas, ou vacúolos de acúmulo de proteínas, como na maioria das espécies, nos quais as proteínas são depositadas durante a maturação da semente em um estado osmoticamente inativo. Nas sementes de eudicotiledôneas, os cotilédones são os principais locais onde ocorre o acúmulo de proteínas (BUCKERIDGE *et al.*, 2004; MAYER; POLJAKOFF MAYBER, 1989).

A hidrólise das proteínas em seus aminoácidos constituintes é feita por meio de uma classe de enzimas chamadas proteases, que podem ser definidas conforme a maneira pela qual atuam sobre os seus substratos: a) as endopeptidases clivam as ligações peptídicas internas originando cadeias polipeptídicas menores; b) as aminopeptidases hidrolisam sequencialmente a partir do último aminoácido na extremidade amino terminal da cadeia, um a um e c) as carboxipeptidases, que realizam função semelhante a das aminopeptidases, porém, a partir da extremidade do terminal carboxila da proteína (BEWLEY; BLACK, 1994).

Os aminoácidos resultantes da hidrólise das proteínas são convertidos em glutamina e asparagina pela ação da asparagina sintetase, essas amidas são transportadas para o eixo embrionário em crescimento (KRASENSKY; JONAK, 2012).

A síntese e degradação das proteínas são influenciadas pela salinidade de maneira semelhante ao que já foi descritos para carboidratos, amido e lipídios. Contudo, as proteínas e enzimas desempenham papel chave na grande maioria das reações, em todos os processos das vias metabólicas de síntese e degradação, portanto, os sintomas da salinidade afetam, em primeira ordem, as atividades proteicas que desencadeiam uma série de desequilíbrios fisiológicos e bioquímicos (TESTER, 2008; JANSKA *et al.*; 2010).

As respostas aos estresses ambientais ocorrem em todos os níveis de organização celulares, incluindo sistemas de membranas, modificação da arquitetura da parede celular e alterações no ciclo celular. Em contra partida, as plantas alteram o metabolismo de vários modos, inclusive a produção de solutos compatíveis, tais como: prolina, rafinose e glicina

betaína, capazes de estabilizar as proteínas e estruturas celulares e/ou para manter a turgescência celular por ajuste osmótico e reestabilizar o equilíbrio metabólico (MUNNS; TESTER, 2008; JANSKA *et al.*, 2010). A nível molecular a expressão gênica é modificada pela tensão ocasionada pelo estresse (CHINNUSAMY ZHU; ZHU, 2007; SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007).

Gonela *et al.* (2004) investigando o comportamento de proteases em semente de variedades de *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) durante a germinação inferiu que a salinidade induz a alterações não negativas na atividade das peroxidases, as autoras consideram que este comportamento possa está relacionado à sensibilidade ao estresse salino, ressalta-se no entanto, que, conforme Dash e Panda, (2001) espécies sensíveis à salinidade diminuem a atividade desta enzima, prejudicando o ajustamento osmótico.

### **3.5. Caracterização de *Copaifera langsdorffii* Desf.**

A *Copaifera langsdorffii* Desf. pertence à divisão Magnoliophyta, Classe: Magnoliopsida Ordem Fabales, Família Fabaceae, Subfamília Caesalpinoideae e Gênero *Copaifera* (APG III, 2009; FORZZA *et al.*, 2010). É conhecida popularmente como copaíba, óleo-de-copaíba, copaíba vermelha, bálsamo, oleiro, copaíba-da-várzea, copaibera-de-minas, copaúba, cupiúva, óleo-vermelho, pau-de-óleo, podói. A copaíba tem ampla distribuição geográfica no território brasileiro (da Amazônia a Santa Catarina, no Nordeste e Centro-Oeste). É espécie ocorrente em várias formações vegetais, tais como: mata úmida, cerrado cerrado, carrasco e caatinga. No Ceará a copaíba cresce sobre a Chapada do Araripe, extremo sul do estado (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2002).

A copaíba é arbórea, perene, tem crescimento lento, alcança de 25 a 40 metros de altura (Figura 4A), podendo viver até 400 anos (LORENZI, 2002). O tronco é áspero, de coloração escura, com medidas entre 0,4 e 4 metros de diâmetro. As folhas são alternas, compostas paripinadas, com 3 a 5 jugos, folíolos opostos ou alternos, glabros (Figura 4B), as folhas quando jovens apresentam coloração avermelhada (Figura 5C). Inflorescências peniculadas, terminais, com uma média de 125 flores. As flores são hermafroditas apétalas, branco-esverdeadas com aproximadamente 5 mm de diâmetro, cálice formado por quatro sépalas livres, possuem odor intenso, nectárias, senecem no segundo dia após a antese (Figura 4C).

Os frutos são do tipo folículo, a maioria é monospérmica (Figura 4E), semente preta envolvida por um arilo de cor laranja (Figura 4E). A copaíba pertence ao grupo das

decíduas ou semidecíduas, heliófitas, seletivas e xerófitas. Vive tanto na mata primária como nas formações secundárias. (RAO *et al.*, 2001; LORENZI, 2002; FREITAS; OLIVEIRA, 2002).

Figura 4 - *Copaifera langsdorffii* Desf.: (A) aspecto geral da planta; (B) folha; (C) flores; (D) frutos verdes e (E) sementes



Fonte: Fotografias do Autor.

*Copaifera langsdorffii* é uma das espécies com estudos ligados à ciência, a etnobotânica, aos saberes tradicionais entrelaçados pelo conhecimento cultural e social, instrumentos fundamentais para uma leitura mais complexa da relação sociedade/natureza. Os usos tradicionais da copaíba datam de tempos anteriores ao período colonial, refletindo o

aporte do conhecimento produzido por etnias indígenas, africanas e comunidades rurais (SALVADOR, 1975).

O óleo extraído da copaíba é largamente utilizado no tratamento de úlceras, sinusites, inflamações da pele, rins e garganta de humanos e de outros animais, também é usado no controle de doenças sexualmente transmissíveis; na indústria de perfumes; Como bactericida e anti-inflamatório; na manufatura de sabonetes, cremes e espumas de banho, xampus, cremes condicionadores, loções hidratantes e capilares, para amaciar o cabelo; na iluminação é usado como combustível de lamparinas, na calafetação do casco de pequenas embarcações ribeirinhas e até mesmo marítimas pelos nossos “conquistadores”, portugueses e espanhóis (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2002).

Além do óleo-resina, a copaíba produz resina viscosa de alta durabilidade utilizada em indústrias de vernizes, pinturas e lacas. A madeira é utilizada na construção civil, movelaria e para produção de energia (BRAGA, 1960; LORENZI, 2002).

No Brasil, a espécie *C. langsdorfii* Desf. é particularmente importante por estar distribuída por todo o território (da Amazônia a Santa Catarina, no Nordeste e Centro-Oeste) e por possuir quatro diferentes variedades: *C. langsdorfii* var. *grandifolia*, *grandiflora*, *laxa* e *glabra* (VEIGA; PINTO, 2002).

Algumas pesquisas a cerca da fisiologia de sementes de *Copaifera langsdorffii* têm sido desenvolvidas (BEZERRA *et al.*, 2002; NOLETO *et al.*, 2010). Entretanto, aspectos bioquímicos e fisiológicos da composição das reservas e sua mobilização nas sementes durante a germinação e crescimento inicial das plântulas de copaíbas são ainda pouco conhecidos.

Conforme o exposto, neste trabalho foram estudadas as relações entre embebição, técnicas de superação de dormência, condições de déficit hídrico e de salinidade e a germinação; bem como a mobilização de reservas cotiledonares e as atividades das principais enzimas envolvidas no processo, em sementes e plântulas de copaíba submetidas a estresse salino.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análise de Sementes (LAS), do Departamento de Fitotecnia e no Laboratório de Fisiologia Vegetal (LABFIVE), do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal do Ceará.

### 4.1 Material Botânico

As sementes de copaíba foram coletadas na parte aérea de uma única planta (safra 2009), pertencente à constituição florística da Chapada do Araripe, sítio Barreiro Grande, município do Crato-CE, situado em latitude sul 7° 14' 03" e longitude oeste 39° 24' 34" (LATITUDE DAS CIDADES BRASILEIRAS, 2012). As sementes foram conduzidas ao Laboratório de Análises de Sementes onde foram beneficiadas, acondicionadas em garrafas plásticas hermeticamente fechadas e armazenadas em câmara fria com temperatura de 10 °C ± 1,0 °C e umidade relativa do ar de 60% ± 3%.

Antes de serem utilizadas na pesquisa as sementes foram tratadas com hipoclorito de sódio a 5% por 20 minutos para desinfecção.

### 4.2 Condições gerais dos experimentos

A presente pesquisa foi conduzida em quatro experimentos consecutivos:

**Experimento I: embebição.** Neste experimento foi determinado o teor de água e a evolução da curva de embebição com intuito de relacionar a absorção de água com o tipo de dormência e o comportamento germinativo das sementes de copaíba.

Determinou-se o teor de água inicial das sementes de copaíba pelo método direto, de acordo com As Regras para Análises de Sementes (BRASIL, 2009). Foram amostradas ao acaso duas subamostras de 10 g de sementes, acondicionadas em cápsulas de alumínio, mantidas em estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas e pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001 g .

As curvas de embebição foram determinadas em dois procedimentos: a) as sementes foram imersas em 100 mL de água destilada (em copo de Becker) após serem submetidas aos seguintes tratamentos: imersão em água a 50, 75 °C e fervente por 10, 15 e 20 minutos para cada temperatura; imersão em ácido sulfúrico concentrado por 15, 30 e 60 minutos e controle (sem tratamento); b) as sementes foram imersas em ácido sulfúrico

concentrado por 60 minutos, lavadas em água corrente por 10 minutos, em seguida postas para embeber em 100 mL de solução de cloreto de sódio ou de polietileno glicol 6.000 (PEG 6.000) com diferentes potenciais de solutos [(0,0 (controle), -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa)], utilizaram-se duas subamostras de 10 g de sementes por tratamento. O tempo de embebição foi de 168 horas e as pesagens ocorreram após 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 e 168 horas de embebição.

O ganho de água para determinar as curvas de embebição foi obtido com base no teor de água inicial das sementes. Os resultados foram expressos em percentagem, calculados pela fórmula:

Umidade =  $[(P_u - P_s) / (P_u - T)] \times 100$  em que:

$P_u$  = massa da semente úmida mais o peso da cápsula

$P_s$  = massa da semente após a secagem mais o peso da cápsula

$T$  = massa da cápsula

**Experimento II: superação de dormência.** Neste experimento avaliaram-se técnicas de superação de dormência nas sementes de copaíba com os seguintes tratamentos:

a) Tratamentos com água

-imersão em água destilada a temperatura ambiente por 24, 48 e 72 horas;

-imersão em água a 50, 75 °C e fervente por 10, 15 e 20 minutos para cada temperatura;

b) Tratamentos com ácido

-imersão em ácido sulfúrico concentrado (98,08%) por 15, 30 e 60 minutos; e

c) controle

Sem tratamento.

**Experimento III: germinação sob estresses hídrico e salino.** Neste experimento avaliou-se o comportamento germinativo das sementes de copaíba submetidas a condições de déficit hídrico e de salinidade e.

Para simular a condição de salinidade e de déficit hídrico, os tratamentos consistiram de água destilada (controle) e cinco soluções de cloreto de sódio (NaCl) e cinco soluções de polietileno glicol 6.000 (PEG 6.000), respectivamente, com diferentes potenciais de solutos ( $\Psi_s$ ): -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa.

As quantidades de NaCl para os potenciais de solutos desejados foram obtidas tomando-se como base os cálculos da equação de Van't Hoff, citada por Salisbury e Ross (1992).

$$\Psi_s = -iCRT$$

Onde:

$\Psi_s$  = potencial osmótico em bar;

$i$  = coeficiente isotônico;

$C$  = concentração da solução, pressão em moles de solução por Kg de água;

$R$  = constante universal dos gases ( $0,0831 \text{ Kg bar K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ );

$T$  = temperatura em Kelvin ( $^{\circ}\text{K}$ ).

As quantidades de PEG 6.000 foram obtidas de acordo com a Tabela citada por Vilela *et al.* (1991).

**Experimento IV: mobilização de reservas.** Realizou-se neste experimento os estudos a mobilização das principais substâncias de reserva durante a germinação das sementes e desenvolvimento inicial de plântulas de copaíba submetidas a condições salinas. Antes da semeadura as sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado (98,08%) por 60 minutos, para eliminar a dormência tegumentar. Os tratamentos consistiram de água destilada (controle) e cinco soluções de cloreto de sódio (NaCl) com diferentes potenciais de solutos ( $\Psi_s$ ): -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa. As quantidades de NaCl para os potenciais osmóticos desejados foram obtidas seguindo o mesmo procedimento descrito para o experimento III.

#### 4.3 Semeadura

A semeadura foi feita entre três folhas de papel germitest (30 cm x 20 cm), previamente autoclavadas e umedecidas com água destilada (experimento II) com as soluções de NaCl ou de PEG 6.000 para os estresses salino e hídrico respectivamente (experimento III) e com as soluções de NaCl (experimento IV) na proporção de 2,5 vezes a massa seca do papel. Foram utilizadas cinco repetições de 25 sementes para cada tratamento. Os rolos de papel contendo as sementes foram colocados em cubas plásticas, estas foram fechadas e acondicionadas em câmara de germinação do tipo B.O.D., reguladas para a temperatura constante de  $25^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo de 12 h.

#### 4.4 Descrição das avaliações

Para a germinação foram avaliadas as seguintes variáveis:

**Percentagem de germinação (%G)** - calculada conforme Brasil, (2009), pela seguinte fórmula:

$$\%G = a/n*100$$

Onde:

a = número de sementes germinadas;  
n = número de sementes semeadas/repetição

**Índice de velocidade de germinação (IVG)**, obtido de acordo com a fórmula de Maguire (1962):

$$IVG = \sum ni/i$$

Onde:

ni = número de sementes germinadas no dia;  
i = número de dias após a semeadura.

**Tempo médio de germinação (TMG)**. determinado conforme Labouriau (1983), com os resultados expressos em dias após a semeadura, calculados pela fórmula.

$$Tm = \sum n_i \times t_i/n_i \text{ em que:}$$

Tm = tempo médio de germinação (dias);

n<sub>i</sub> = número de sementes germinadas no intervalo entre cada contagem;

t<sub>i</sub> = tempo médio decorrido entre o início da germinação e i-ésima contagem.

As contagem das sementes germinadas ocorreram diariamente com início aos seis dias após a semeadura (dia em que germinou a primeira semente) e término aos 20 dias após a semeadura, quando se notou visualmente a impossibilidade de haver germinação das sementes remanescentes. Foram consideradas germinadas as sementes com raiz primária de 0,5±0,2 cm de comprimento (JUNTILA, 1976; DURAN; TORTOSA,1985).

#### 4.5 Mobilização de reservas

Após vários testes preliminares com as sementes de copaíba, avaliando-se o comportamento germinativo e o desenvolvimento das plântulas em função do tempo e das condições aplicadas foram eleitos quatro estádios de desenvolvimento (Figura 5).

ED 0: sementes dormentes;

ED 1: raiz com  $5 \pm 2$  centímetros de comprimento aproximadamente ( $10 \pm 2$  DAS);

ED 2: emissão dos protófilos ( $18 \pm 2$  DAS);

ED 3: plântulas com protófilos totalmente expandidos ( $25 \pm 2$  DAS).

Para o ED 0, cinco repetições de 10 sementes, sofreram à remoção manual do tegumento, em seguida foram congeladas ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), depois liofilizadas e pesadas para determinação da massa seca, prosseguindo-se com maceração. O pó liofilizado foi armazenado em vidros de 8,0 mL hermeticamente fechados, em condições refrigeradas ( $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) para posterior utilização.

Para os demais estádios de desenvolvimento, as sementes foram germinadas, conforme a metodologia anteriormente descrita. Em cada ED, para cada repetição, separaram-se 15 plântulas em cotilédones e eixos embrionários, os eixos embrionários foram separados em parte aérea e raiz, depois, fez-se o mesmo procedimento aplicado ao ED 0.

O estudo da mobilização das principais reservas foi baseado nos teores cotiledonares e do eixo embrionário de lipídios, amido, proteínas, açúcares solúveis (reduzores e não reduzores) e aminoácidos livres em cada estágio de desenvolvimento.

Figura 5 - Fotografias das sementes (A) e das plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.), nos estádios de desenvolvimento: (B) ED 1; (C) ED 2 e (D) ED 3



Fonte: Foto do autor. Obs: fotografias em escalas diferentes.

#### 4.5.1 Amido

Realizou-se a extração e determinação do amido dos cotilédones conforme Hodge e Hofreiter (1962). No precipitado remanescente da extração de açúcares solúveis adicionaram-se 4,0 mL de ácido perclórico a 30% (v/v), mantendo-se os tubos sob agitação constante, por 20 min, com o auxílio de uma mesa agitadora com movimentos orbitais a 45 rpm, prosseguindo-se com adição de 5,0 mL de água desionizada em cada tubo, fez-se centrifugação a 3.000 x g, por 15 minutos em temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C). Coletou-se o sobrenadante e o precipitado foi submetido a mais duas extrações. Após a extração, os sobrenadantes foram homogeneizados, aferindo-se seu volume para 50 mL com ácido perclórico a 6,9% (v/v), em balão volumétrico. Quantificou-se o amido adicionando-se em tubos de ensaio, 1,0 mL do extrato convenientemente diluído e 5,0 mL de uma solução de antrona a 0,14% (p/v), preparada em ácido sulfúrico a 14 M. Os tubos foram mantidos em banho-maria a 95 °C por 10 minutos, parando-se a reação com banho de gelo. As amostras triplicadas foram submetidas à quantificação dos açúcares solúveis por meio de leituras de absorbância a 620 nm, utilizando-se como branco, água desionizada e antrona a 0,14% em substituição ao extrato. A curva padrão de carboidratos foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de D(+) glicose anidra. Os teores de amido obtidos representam a média de duas extrações independentes para cada repetição, sendo expressos em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca.

#### 4.5.2 Açúcares solúveis (redutores e não-redutores)

O extrato foi obtido colocando-se em tubos de ensaio, 50 mg do pó liofilizado, com adição de cinco mL de etanol a 80%, sendo em seguida o material submetido a 75 °C, em banho-maria por 60 minutos, com agitações a cada 15 minutos, prosseguindo-se com centrifugação a 3.000 x g, por 15 minutos à temperatura ambiente e o sobrenadante foi coletado, repetindo-se o processo mais duas vezes, partindo-se do precipitado remanescente.

Os sobrenadantes coletados foram reunidos e o volume completado para 25 mL com etanol a 80% (v/v), em balão volumétrico e armazenados em condições refrigeradas de -25 °C, para posterior utilização, enquanto o precipitado final foi reservado para a extração do amido.

A determinação dos carboidratos solúveis foi realizado conforme Dubois *et al.* (1956). Em 0,5 mL do extrato a contento diluído adicionou-se 0,5 mL de fenol a 5% (v/v) e 2,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. A mistura foi agitada e repousada por 10 min, a critério de

resfriamento. As amostras foram submetidas à quantificação dos açúcares solúveis através de leituras de absorvância em 490 nm, utilizando-se como branco, água desionizada em substituição ao extrato mais fenol a 5% e 2,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Cada extrato foi dosado em triplicata. A curva padrão para a avaliação dos açúcares solúveis foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de D(+) glicose anidra.

Os açúcares redutores foram determinados de acordo com Miller (1959). Em tubos de ensaio contendo 1,5 mL do extrato a contento diluído, foram adicionados 1,5 mL da solução reagente DNS, formada por ácido 3,5-dinitrossalicílico a 1,0% (p/v), hidróxido de sódio a 1,0% (p/v), fenol a 0,2% (v/v) e sulfito de sódio a 0,05% (p/v). O material foi agitado e mantido em banho-maria a 85 °C por 15 minutos. O material foi removido do banho-maria com imediata adição de 0,5 mL de uma solução de tartarato de sódio e potássio a 40%, seguido de agitação. Em temperatura ambiente, submeteram-se as amostras triplicadas à quantificação dos açúcares redutores, através de leituras de absorvância a 575 nm, utilizando-se como branco, água desionizada no lugar do extrato e os demais componentes do meio de reação. A curva padrão de açúcares redutores foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de D(+) glicose anidra.

Os açúcares não-redutores foram determinados pela diferença entre os açúcares solúveis e os açúcares redutores. Os teores de açúcares solúveis, redutores e não-redutores obtidos representam a média de duas extrações independentes para cada repetição, sendo expressos em mgg<sup>-1</sup> de massa seca.

#### **4.5.3 Lipídios**

Os teores lipídicos totais cotiledonares de cada ED foram determinados por gravimetria, em duas extrações independentes. Em tubos de ensaio previamente com massa aferida, adicionou-se 50 mg do material liofilizado e 5,0 mL da mistura extratora, formada por clorofórmio (99,80%) e metanol (99,80%), na proporção de 2:1, respectivamente. Os tubos foram fechados e mantidos sob agitação constante, sobre mesa agitadora com movimentos orbitais a 45 rpm por 60 minutos seguida de centrifugação a 3.000 x g, por 30 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante com os lipídios dissolvidos foi descartado. Repetiu-se a extração mais duas vezes, partindo-se do precipitado remanescente, sob as condições já descritas, com o tempo de agitação de 30 min. O precipitado delipidado foi mantido em estufa a 60 °C por 72 h para a completa volatilização da mistura extratora, com pesagens a cada 24 h até atingir massa constante. Cada amostra foi analisada em triplicata. Os valores

correspondentes aos teores de lipídios totais nos cotilédones foram obtidos através da diferença entre as massas inicial e final do pó e expressos em  $\text{mgg}^{-1}$  de massa seca.

#### ***4.5.4 Proteínas totais***

A determinação dos teores de proteínas totais em cada ED foi realizada de acordo com Baethgen e Alley (1989). O extrato foi obtido colocando-se para cada tratamento cinco amostras de 30 mg de material liofilizado em tubos digestores contendo 1,11 g da mistura catalisadora de sulfato de potássio a 98-102% mais sulfato de cobre e selênio em pó a 99,5%, na proporção de 1:0,1:1:0,01 (p/p), juntamente com 2,0 mL de ácido sulfúrico a 98,08%, os tubos foram colocados em um bloco digestor com temperatura elevada gradualmente até 350 °C, para a mineralização das amostras. Após a completa digestão do material o material foi ressuspenso em água desionizada e o volume final aferido para 25 mL, em balão volumétrico. O teor proteico total foi determinado adicionando-se em tubos de ensaio, 1,0 mL da amostra diluída a contento com uma solução preparada pela dissolução de 22 g da mistura catalisadora utilizada na digestão em 1,0 L de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 1,1 M (solução diluente). Em seguida, foram adicionados 5,5 mL de uma solução formada por fosfato de sódio dibásico a 0,1 M, tartarato de sódio e potássio a 5% (p/v) e hidróxido de sódio a 5,4% (p/v) ; 4,0 mL de solução contendo salicilato de sódio a 15% (p/v) mais nitroprussiato de sódio a 0,03% (p/v); mais 2,0 mL de hipoclorito de sódio a 0,31% (v/v), utilizando como branco a solução diluente em substituição ao extrato, prosseguindo-se com agitação e banho-maria a 37 °C durante 15 min. O nitrogênio total foi estimado através de leituras de absorvância a 650 nm, baseando-se na curva padrão ajustada a partir de soluções com concentrações crescentes de sulfato de amônio. Dosagem foi triplicada. Os teores de proteínas totais foram obtidos multiplicando-se o teor de nitrogênio total por 6,25, levando-se em conta que nas proteínas o teor de nitrogênio é em média, 16% e os resultados representam a média de duas extrações independentes para cada repetição, sendo expressos em  $\text{mgg}^{-1}$  de massa seca.

#### ***4.5.5 Aminoácidos livres***

Utilizando-se o extrato preparado para carboidratos solúveis determinaram-se os teores de aminoácidos livres segundo Yemm e Cocking (1955). Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL do extrato, a contento diluído; 0,25 mL de tampão citrato a 0,2 M, (pH 5,0); 0,5 mL de cianeto de potássio a 0,2 mM, em metilcelosolve a 100% (v/v); e 0,1 mL de

de uma mistura de ninhidrina a 5% (p/v) mais metilcelosolve a 100% (v/v). O material foi agitado e mantido em banho-maria a 95 °C, por 20 minutos, interrompendo-se a reação com banho de gelo, prosseguindo-se com adição de 0,65 mL de etanol a 60% (v/v). Os teores de aminoácidos livres foram estimados através de leituras de absorbância a 570 nm, tomando-se como branco, água desionizada no lugar do extrato com os demais constituintes do meio de reação. A curva padrão foi ajustada a partir de soluções com concentrações crescentes de glicina. Cada extrato foi dosado em triplicata. Os teores de aminoácidos livres obtidos representam a média de duas extrações independentes para cada repetição, sendo expressos em  $\text{mgg}^{-1}$  de massa seca.

#### ***4.5.6 Determinação dos teores de íons $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ e $\text{Cl}^-$***

Para as determinações dos teores dos íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , preparou-se o extrato em tubos de ensaio contendo 50 mg do material liofilizado com 10 mL de água desionizada, e mantido em banho-maria a 45 °C, por 60 minutos agitando-se a cada 15 minutos, seguiu-se o processo com centrifugação a  $3.000 \times g$ , por 15 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante foi filtrado em papel e armazenado a -20 °C durante o período de utilização analítica. Determinaram-se os teores de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  com o auxílio de um fotômetro de chama (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1989).

Os teores de  $\text{Cl}^-$  foram determinados segundo Gaines, Parker e Gascho (1984). Em tubos de ensaio, foi adicionado 1,0 mL do extrato bruto a conteúdo diluído e 0,167 mL da mistura de reação, formada por tiocianato de mercúrio a 13,2 mM preparado em metanol a 100% e nitrato férrico a 20,2% (p/v), em água desionizada, na proporção de 4:1. Após 15 minutos de agitação, os teores de  $\text{Cl}^-$  foram estimados através de leituras de absorbância em 460 nm, utilizando-se como branco, água desionizada em substituição ao extrato. As dosagens do extrato foram em triplicata. A curva de calibração foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de NaCl. Os teores dos íons referidos foram expressos em  $\text{mgg}^{-1}$  de massa seca.

## 4.6 Atividades enzimáticas em cotilédones

### 4.6.1 Enzimas do metabolismo dos lipídios

**Extração** - Para a aquisição do extrato utilizado para a determinação da atividade das enzimas do metabolismo de lipídios, homogeneizou-se 100 mg do material liofilizado de cotilédones em almofariz e pistilo a 4 °C, durante 4 minutos, com 2,0 mL de tampão de extração contendo Tris-HCl a 100 mM (pH 7,5), cloreto de potássio a 10 mM, cloreto de magnésio a 1,0 mM, EDTA a 1,0 mM, glicerol a 20% (v/v), ditioneitol (DTT) a 2,0 mM e fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) a 1,0 mM, em seguida, as amostras foram centrifugadas a 16.000 x g, por 20 minutos, a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e utilizado nos ensaios enzimáticos.

#### 4.6.1.1 Lipase

Determinou-se a atividade lipásica conforme Winkler e Stuckmann (1979), com modificações sugeridas por Gupta, Rathi e Gupta (2002). Utilizou-se como meio de reação 0,1 mL do extrato bruto e 2,4 mL de uma mistura recém-preparada das seguintes soluções, na proporção de 1:9:0,2, respectivamente: a) solução tampão Tris-HCl a 55 mM, pH 8,0, contendo goma arábica a 0,23% (p/v) e desoxicolato de sódio a 0,11% (p/v); b) palmitato de *p*-nitrofenila (*p*NPP) a 0,3% (p/v), preparada em isopropanol a 100% (v/v); e c) TRITON X-100 a 100% (v/v). A reação teve início pela adição do extrato bruto e as amostras foram incubadas a 37 °C, em banho-maria, durante 15 minutos, interrompendo-se a mesma com banho de gelo, a concentração do *p*-nitrofenol liberado a partir da hidrólise enzimática do *p*NPP foi determinada pela absorbância em 410 nm, tomando-se como branco, água desionizada e os demais constituintes do meio de reação. Cada extrato enzimático foi dosado em duplicata. A atividade lipásica total foi expressa em  $\mu\text{mol de } p\text{-nitrofenol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de massa seca e a atividade específica em  $\mu\text{mol de } p\text{-nitrofenol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  de proteína, usando-se para os cálculos, o coeficiente de extinção molar ( $1,5 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) do *p*-nitrofenol (SADEGHIPOUR; BHATLA, 2002).

#### 4.6.1.2 Liase do isocitrato

A atividade da liase do isocitrato foi determinada espectrofotometricamente, através do aumento da absorbância em 324 nm, devido à formação de glioxalato de

fenilhidrazona, de acordo com o método descrito por Dixon e Kornberg (1959). O meio de reação consistiu de tampão imidazol-HCl a 100 mM, pH 7,1,  $MgCl_2$  a 5,0 mM, cloridrato de fenilhidrazina a 3,33 mM, cloridrato de cisteína a 2,0 mM, isocitrato de sódio a 1,67 mM e 100  $\mu$ L do extrato bruto, em um volume final de 1,0 mL. A reação foi conduzida à temperatura ambiente, sendo iniciada pela adição do isocitrato de sódio. As leituras inicial e final ocorreram após 15'' e 5'15'' de reação, respectivamente. Cada extrato enzimático teve dosagem duplicada. A atividade total da liase do isocitrato foi expressa em nmol de glioxalato  $min^{-1} mg^{-1}$  de massa seca e a atividade específica, em nmol de glioxalato  $min^{-1}mg^{-1}$  de proteína, usando-se para os cálculos, o coeficiente de extinção molar ( $1,7 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ ) do glioxalato de fenilhidrazona (DIXON; KORNBERG, 1959).

#### 4.6.1.2 Sintase do malato

Determinou-se a atividade da sintase do malato medindo-se o aumento da absorbância em 412 nm, devido à reação entre o DTNB (ácido 2,2'- dinitro-5,5'-ditio-dibenzóico) e o grupo tiol livre da coenzima-A (CoA), de acordo com o método descrito por Hock e Beevers (1966). Tendo como meio de reação tampão imidazol-HCl a 100 mM, pH 7,1,  $MgCl_2$  a 5,0 mM, DTNB a 0,13 mM, acetil-CoA a 0,1 mM, glioxalato de sódio a 3,33 mM e 100  $\mu$ L do extrato bruto, em um volume final de 10,0 mL. À temperatura ambiente, a reação teve início pela adição do glioxalato de sódio ao meio de reação. As leituras inicial e final foram feitas após 15'' e 2'15'' de reação, respectivamente. Cada extrato enzimático teve dosagem duplicada. A atividade total da MS foi expressa em nmol de CoA  $min^{-1} mg^{-1}$  de massa seca e a atividade específica, em pmol de CoA  $min^{-1} mg^{-1}$  de proteína, usando-se para os cálculos, o coeficiente de extinção molar ( $1,33 \times 10^7 M^{-1} cm^{-1}$ ) do complexo DTNB-CoA (HOCK; BEEVERS, 1966).

#### 4.6.2 Enzimas do metabolismo de amido

**Extração** - Para as determinações das atividades das enzimas  $\alpha$ - e  $\beta$ -amilases e fosforilase do amido, os extratos foram obtidos após a homogeneização de 100 mg do pó liofilizado em almofariz e pistilo com 2,0 mL de tampão de extração, composto por Bis-Tris a 100 mM, pH 6,5,  $MgCl_2$  a 3,0 mM, cloreto de cálcio a 3,0 mM, glicerol a 20% (v/v), TRITON X-100 a 1,0% (v/v), DTT a 2,0 mM e PMSF a 1,0 mM (SAEED; DUKE, 1990). Após a homogeneização, as amostras foram centrifugadas a 16.000 x g, por 20 minutos a 4 °C. O

sobrenadante obtido foi purificado em colunas de Sephadex G-25, usando-se um kit PD Spintrap G25 (GE Healthcare), conforme instruções do fabricante.

#### 4.6.2.1 $\alpha$ - e $\beta$ -Amilases

A atividade amilásica total foi determinada segundo Guglielminetti *et al.* (1995). O meio de reação foi composto por tampão acetato a 50 mM, pH 5,2,  $\text{CaCl}_2$  a 10 mM, amido solúvel a 1% (p/v) e 100  $\mu\text{L}$  do extrato purificado, em um volume total de 1,0 mL. A reação ocorreu em banho-maria a 30 °C, sendo iniciada pela adição do extrato. Após 30 minutos, a reação foi parada pela adição de 1,0 mL da solução reagente DNS e os carboidratos redutores liberados foram computados conforme Miller (1959), através de leituras de absorbância em 575 nm, utilizando-se como branco, amostras em que o extrato foi adicionado após o reagente DNS. A curva padrão foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de maltose. Cada extrato enzimático foi dosado em duplicata e a atividade amilásica total expressa em  $\mu\text{mol}$  de maltose  $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de massa seca e a atividade específica em  $\mu\text{mol}$  de maltose  $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de proteína.

#### 4.6.2.2 Fosforilase do amido

A atividade da fosforilase do amido foi determinada colorimetricamente, segundo Lee (1966), através da determinação do fosfato inorgânico (Pi) liberado a partir da glicose-1-fosfato, em razão da adição de glicose à molécula de amido existente no meio de reação, composto por MES a 100 mM, pH 6,3, amido solúvel a 1,0% (p/v), glicose-1-fosfato a 10 mM e 100  $\mu\text{L}$  do extrato, em um volume total de 1,0 mL. A reação foi iniciada com adição de glicose-1-fosfato e as amostras foram incubadas em banho-maria a 30 °C, por 30 minutos. A reação foi paralisada adicionando-se 0,5 mL de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) a 5,0% (p/v), seguida da adição 2,0 mL de uma solução de acetato de sódio a 100 mM. O Pi resultante foi determinado como descrito por Fiske e Subbarow (1925). Em tubos de ensaio, contendo 0,5 mL das amostras mais 1,0 mL de uma solução formada por molibdato de amônio a 0,7% (p/v) e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 2% (v/v), seguido pela adição imediata de 50  $\mu\text{L}$  de uma solução de ácido ascórbico a 10% (p/v). Após 10 minutos adicionou-se 1,45 mL de uma solução formada por citrato de sódio a 2,0% (p/v), arsenito de sódio a 2,0% (p/v) e ácido acético a 2,0% (v/v). O Pi foi quantificado através de leituras de absorbância a 820 nm, tendo-se como branco, amostras em que a glicose-1-fosfato foi adicionada após o TCA. A curva

padrão de fosfato foi obtida utilizando-se soluções com concentrações crescentes de ácido fosfórico. Cada extrato enzimático foi dosado em duplicata. A atividade total da fosforilase do amido foi expressa em  $\mu\text{mol de Pi min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de massa seca e a atividade específica, em  $\mu\text{mol de Pi min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  de proteína.

#### **4.7 Concentração de proteína**

A concentração de proteínas solúveis nos extratos enzimáticos foi determinada de acordo com Bradford (1976). Em tubos de ensaio contendo 100  $\mu\text{L}$  do extrato convenientemente diluído foi adicionado 1,0 mL do reagente composto por azul de comassie brilhante G-250 a 0,01% (p/v), etanol a 4,75% (v/v) e ácido fosfórico a 8,5%. Após 15 minutos, a concentração de proteínas solúveis foi estimada pela leitura de absorbância a 595 nm, tomando-se como branco, água desionizada em substituição ao extrato. Obteve-se a curva padrão utilizando-se soluções com concentrações crescentes de albumina sérica bovina (BSA).

#### **4.8 Delineamento experimental e análise estatística**

Em todos os experimentos usou-se o delineamento inreiramente ao acaso, sendo para cada tratamento, duas repetições de 10 g de sementes nas avaliações da evolução da curva de embebição, cinco repetições de 25 sementes nos estudos germinativos de superação de dormência e nos estresses salino e hídrico. Nos estudos da mobilização de reservas o experimento foi em parcelas subdividida com três estádios de desenvolvimento (ED1, ED2 e ED3) como tratamentos principais e seis potenciais de solutos (0,0, -0,2, -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa) como tratamentos secundários, o mesmo número de repetições e de sementes do experimento imediatamente anterior. Os dados obtidos através dos resultados da absorção de água, testes de superação de dormência e do estudo da mobilização de reservas foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% de probabilidade. Para curva de embebição foram gerados gráficos de linha de tendência para observar a evolução da absorção de água pelas sementes em questão em função do tempo e dos potenciais de solutos acima referidos. Para os resultados obtidos da germinação com estresses hídrico e salino, fez-se a análise de variância e de regressão. (BANZATTO; KRONKA, 2008). Os gráficos foram gerados pelo programa SigmaPlot® [Versão 11.0 (SYSTAT Software, Inc.)].

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Curva de embebição

Observa-se na Tabela 1 que houve diferença significativa entre os tratamentos e para a interação tratamento versus tempo, tanto para os testes de quebra de dormência como para os estresses salino e hídrico.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância referente à embebição de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a testes de superação de dormência e aos estresses salino e hídrico

Superação de dormência			Estresses salino e hídrico		
Fonte.de Variação	G. L.	Quadrados Médios	Fonte.de Variação	G. L.	Quadrados Médios
Trat.	12	3336,284**	Trat.	10	432,812**
Tempo	13	38,082	Tempo	13	2807,823**
Trat. x Tempo	156	38,082**	Trat. x Tempo	130	8,091**
Erro	220	0,298	Erro	153	0,169
CV. (%)		0,55			0,95

(\*\*) = Significativo a 1% pelo teste F, Trat. = tratamentos  
CV = Coeficiente de variação.

Os dados referentes às percentagens de umidade das sementes de copaíba submetidas a testes de superação de dormência estão expressos na Tabela 2 e as curvas de embebição referentes aos mesmos testes nas Figuras 6A e 6B e 7A e 7B.

A absorção de água pelas sementes de copaíba foi acompanhada durante 168 horas (Tabela 2). As sementes do tratamento controle apresentaram lenta taxa de embebição, quando comparadas com os demais tratamentos. As imersões em água quente e em ácido sulfúrico concentrado propiciaram aceleração na absorção de água, no entanto, os tratamentos de imersão em água a 50 e a 75 °C por 10, 15 e 20 minutos, apesar de diferirem do tratamento controle promoveram taxa de embebição mais lenta em comparação aos tratamentos com água fervente e com ácido sulfúrico. Além disso, a absorção de água pelas sementes dos tratamentos controle, imersão em água a 50 e a 75 °C pelos tempos de 10, 15 e 20 minutos, não obedeceram ao padrão trifásico clássico, característico de sementes ortodoxas (BEWLEY; BLACK, 1994). Dessa forma, as sementes estudadas nesses tratamentos, mantiveram um

comportamento linear com relação à absorção de água e não houve estabilização da curva durante o tempo em que ficaram imersas (Figura 6A e 6B).

Investigando a evolução da absorção de água em sementes de pinhão manso (*Jathorpha curcas* L.) durante 196 horas, Silva *et al.* (2012) verificaram resultados discordantes, em que estabilização da curva de embebição se deu a partir de 24 horas, contudo, os tratamentos de imersão em água fervente e em ácido sulfúrico aceleraram a absorção de água, promovendo uma rápida taxa de absorção nas primeiras horas de embebição, destacando-se as imersões em água fervente por 10, 15 e 20 minutos e em ácido sulfúrico por 60 minutos superando o tratamento controle em 6,39, 9,40, 18,20 e 12,53% respectivamente na primeira hora de embebição. Esses resultados evidenciam uma resistência ao fluxo de água para o interior das sementes do tratamento controle devido à restrição mecânica imposta pela testa da semente (Tabela 2).

Durante as primeiras 36 de embebição, o tratamento de imersão em água fervente por 20 min. diferiu significativamente dos demais, proporcionando maior e mais rápida absorção de água com um aumento de 38% em relação ao tratamento controle. Nesse mesmo período, a imersão em ácido sulfúrico por 60 minutos foi o segundo melhor tratamento, promovendo um aumento de 37,38% na taxa de absorção de água, quando comparado com o tratamento controle. Contudo, a partir do período de 48 horas até o tempo de 120 horas de embebição, o tratamento de imersão em ácido sulfúrico por 60 minutos teve melhor desempenho, o mesmo foi acompanhado pelo tratamento de imersão em ácido sulfúrico por 30 minutos até o final do experimento (Tabela 2).

Diferentemente do tratamento controle e dos tratamentos de imersão em água a 50 e 75 °C, as imersões em água fervente e em ácido sulfúrico além de promoverem melhor desempenho na taxa de embebição das sementes de copaíba, propiciaram também a estabilização da curva de absorção de água, o que ocorreu a partir do período de 36 horas, exceto para o tratamento de imersão em ácido sulfúrico por 15 minutos, cuja estabilização da curva ocorreu com 96 horas de embebição. Dessa forma, nos tratamentos de imersão em água fervente e em ácido sulfúrico, as sementes em questão seguiram o padrão trifásico clássico de embebição (Figuras 7A e 7B).

Em sementes de espécies da família Leguminosae-Caesalpinioideae, a testa é constituída por uma camada externa de células epidérmicas esclerificadas, coberta por uma cutícula; uma camada interna de osteoesclereídes (hipoderme) e camadas de células parenquimáticas com paredes espessadas (GUNN, 1981; CRESTANA; BELTRATI, 1988). A presença desse conjunto estrutural em muitas das espécies de leguminosas impede a difusão

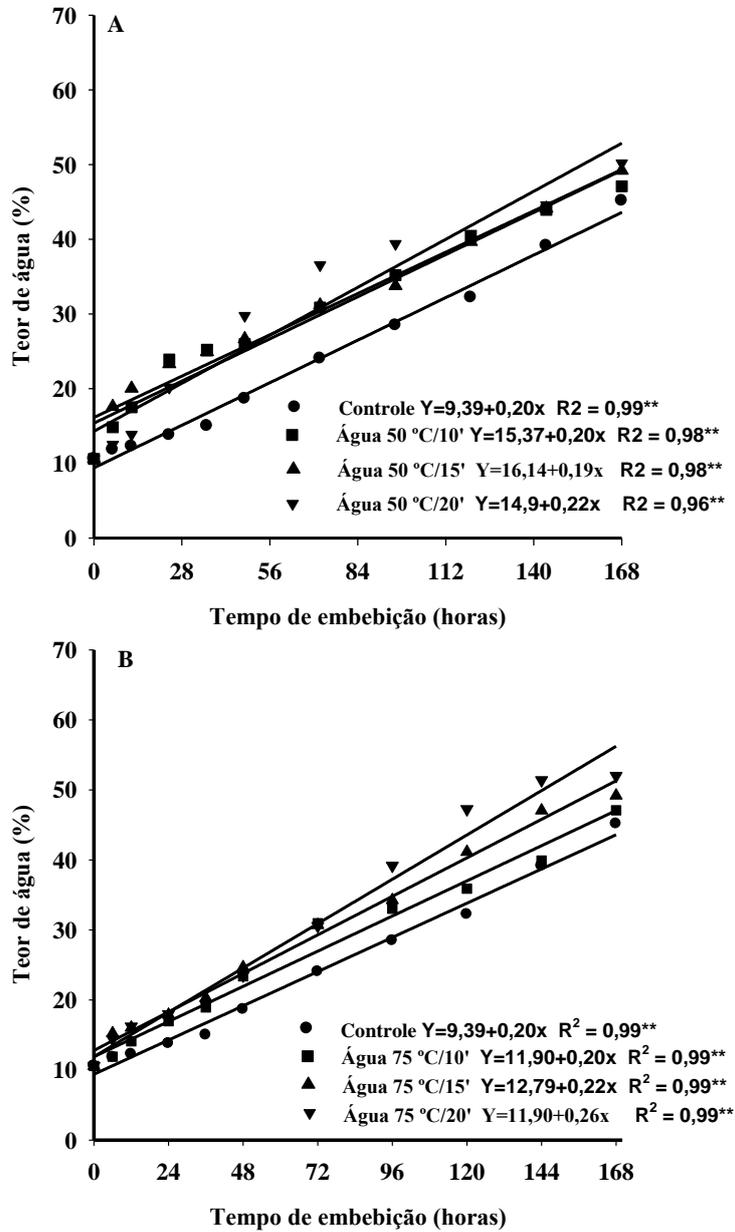
Tabela 2 - Valores médios das percentagens da absorção de água em função do tempo de embebição em sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a testes de superação de dormência

Tempo (horas)	Tratamentos												
	Controle	Água 50 °C/10'	Água 50 °C/15'	Água 50 °C/20'	Água 75 °C/10'	Água 75 °C/15'	Água 75 °C/20'	Água fv. /10'	Água fv. /15'	Água fv. /20'	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /15'	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /30'	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /60'
1	10,60 h	10,60 h	10,60 h	10,60 h	10,60 h	11,45 g	13,19 f	16,99 d	20,00 c	28,80 a	14,31 e	14,78 e	23,13 b
2	10,60 i	10,60 i	10,60 i	10,60 i	10,60 i	12,05 h	14,61 g	19,36 d	29,51 b	34,11 a	15,89 f	17,86 e	26,65 c
4	10,84 l	11,25 l	13,07 i	15,14 g	12,25 j	13,96 h	16,47 f	24,17 d	31,09 c	35,74 a	16,05 f	19,15 e	31,96 b
6	11,81 l	11,96 l	12,63 j	15,57 h	14,72 i	14,92 i	17,63 f	27,96 d	32,38 c	38,88 a	16,35 g	21,55 e	34,29 b
8	12,04 l	12,85 j	15,43 i	18,46 f	12,82 j	15,54 hi	16,07 h	31,18 d	34,82 c	41,67 a	17,04 g	23,59 e	37,02 b
10	12,18 i	13,48 h	15,94 g	15,99 g	13,56 h	16,48 g	19,18 f	34,77 d	37,23 c	44,16 a	18,65 f	25,58 e	39,25 b
12	12,23 l	13,94 j	16,07 i	16,25 i	14,14 j	17,59 h	20,06 g	37,65 d	39,65 c	46,72 a	20,77 f	26,92 e	41,57 b
24	13,74 m	20,36h	23,95 g	23,41 g	16,99 l	17,95 j	18,89 i	44,39 d	47,98 c	52,80 a	27,75 f	37,49 e	50,36 b
48	18,42 m	25,99 i	26,80 h	29,88 g	23,44 l	23,76 l	24,74 j	46,23 e	50,30 d	53,75 b	36,41 f	51,08 c	54,67 a
72	24,03 j	30,87 i	31,58 h	36,31 g	30,69 i	30,83 i	31,48 h	46,81 e	50,58 d	53,67 c	42,31 f	55,48 b	56,76 a
96	28,78 l	33,88 j	35,40 h	39,69 g	33,51 j	34,67 i	39,17 g	47,15 f	50,67 d	53,85 c	48,96 e	57,11 b	58,71 a
120	32,60 l	39,85 i	40,78 gh	40,44 h	36,06 j	41,17 g	47,62 f	47,94 f	50,86 e	54,60 c	53,75 d	58,76 b	59,52 a
144	39,19 h	44,36 f	44,55 f	44,47 f	39,95 g	47,03 e	51,39 c	50,22 d	51,75 c	55,26 b	55,80 b	59,91 a	60,26 a
168	45,19 j	47,12 h	49,35 g	50,19 f	45,85 i	51,83 e	54,80 c	51,73 e	53,25 d	57,05 b	56,89 b	60,56 a	60,96 a
Médias	20,16 n	23,37 m	24,77 l	26,21 j	22,51 i	24,95 h	27,52 g	37,61 e	41,43 c	46,50 a	31,50 f	37,84 d	45,37 b

Teor de água das sementes quiescentes = 10,6%; DMS para linha = 0,56; DMS para médias = 0,13

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Água fv. = água fervente.

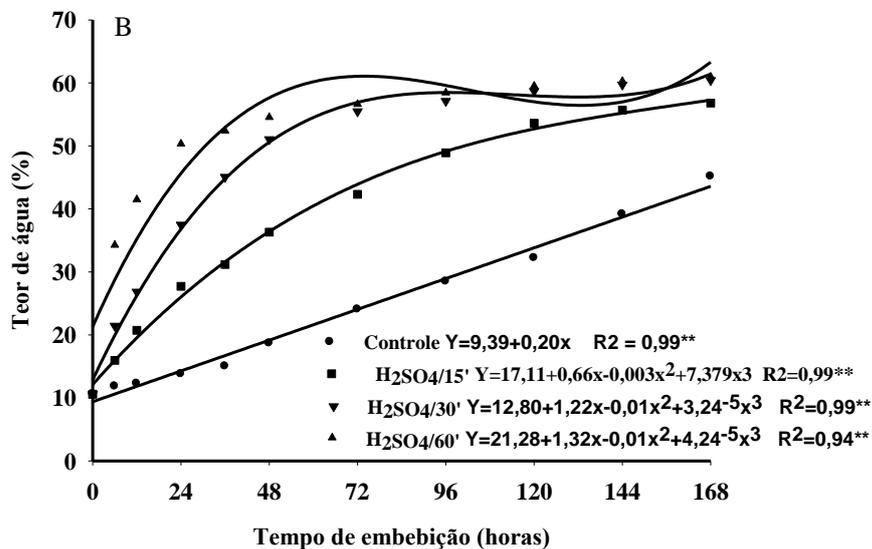
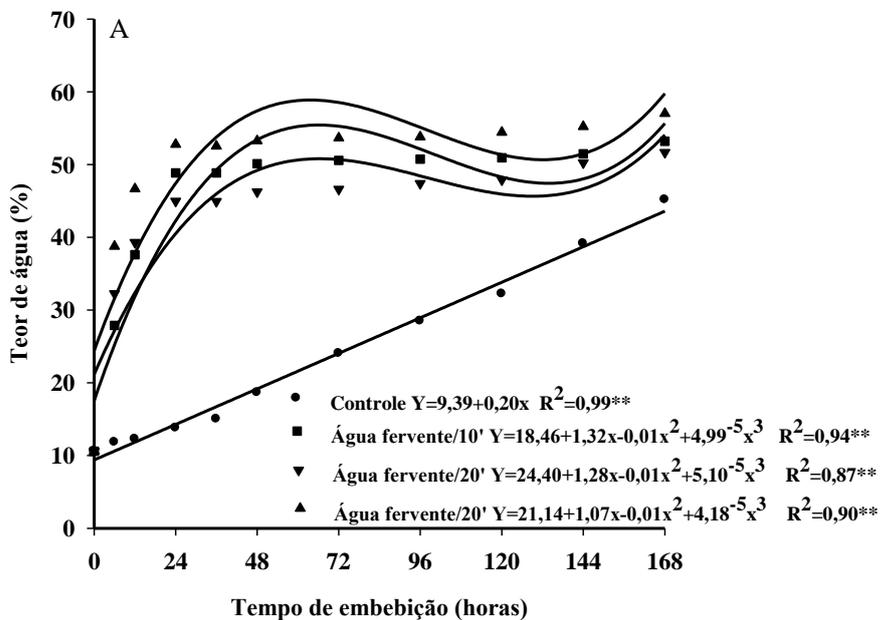
Figura 6 - Evolução da absorção de água em sementes de copíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a imersões em água a temperatura ambiente (controle) e em água a 50 °C (A) e a 75 °C (B) por 10, 15 e 20 minutos



de água e de gases em direção ao interior do tecido embrionário (ROLSTON, 1978, SOUZA; MARCOS FILHO, 2001), conferindo assim o mecanismo da dormência tegumentar. Neste contexto, sementes de muitas espécies leguminosas diferem do padrão trifásico de embebição.

O padrão trifásico clássico de embebição é dividido em três fases: uma fase de rápida absorção de água (Fase I), seguida de uma fase de estabilização (Fase II) e uma fase de crescimento e desenvolvimento embrionário, definida como Fase III (BEWLEY; BLACK, 1994; BEWLEY, 1997; CASTRO *et al.*, 2004).

Figura 7 - Evolução da água em sementes de copíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a imersões em água a temperatura ambiente (controle) e em água fervente e por 10, 15 e 20 min (A) e em ácido sulfúrico por 15, 30 e 60 min (B)



Nas sementes de copaíba do tratamento controle, a primeira fase teve início entre 2 e 4 horas de embebição, com uma taxa de absorção muito lenta, prolongando até o período final do ensaio (168 h), o mesmo ocorreu com as sementes dos tratamentos de imersão em água a 50 e 75 °C, como já mencionado anteriormente, não houve estabilização da curva, portanto, as sementes nesses tratamentos permaneceram o tempo todo na fase I. Conforme Carvalho e Nacagawa (2000), a fase I possui duração de uma a duas horas. Por outro lado, Coll *et al.*, (2001) explicam que a velocidade de absorção e a quantidade de água embebida variam com a natureza e composição do tegumento e que o tempo exigido para a estabilização da curva de absorção de água pode se prolongar por várias horas, dependendo da espécie.

Esses resultados diferem dos encontrados por Noletto *et al.* (2010), que trabalhando com sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) verificaram que no tratamento controle a primeira fase foi caracterizada por uma lenta absorção de água durante as primeiras 18 horas de embebição, tornando-se mais rápida entre 18 e 60 horas e que a estabilização da curva ocorreu entre 60 e 78 horas, caracterizando a Fase II. Segundo esses autores o tempo necessário para a completa embebição das sementes de copaíba é muito mais longo do que o encontrado na maioria das espécies, tais como *Bixa orellana* (AMARAL *et al.*, 1995); *Caesalpinia pyramidalis* (DANTAS *et al.*, 2008a); *Eremanthus erythropappusi* (DAVIDE *et al.*, 2008) e *Lupinus luteus* (GARNCZARSKA *et al.*, 2007).

As sementes de copaíba tratadas com imersão em água fervente e em ácido sulfúrico iniciaram a primeira fase logo na primeira hora de embebição, prolongando-a até 36 horas, quando teve início a fase II (Figura 7A e 7B). Esta última, caracterizada por uma redução na embebição, prolongou-se por aproximadamente 144 horas. A proporção do tempo decorrido entre as fases I e II está de acordo com Bewley (1997), pois, normalmente, a fase II é até dez vezes mais longa que a fase I. Após 168 horas de embebição, poucas sementes atingiram a fase III, (protrusão radicular). Esse fato se deve, provavelmente, à condição em que as sementes foram colocadas para embeber (copos com água sem sistema de oxigenação), desfavorecendo assim, a germinação da maioria das sementes devido a baixa oxigenação do meio, apesar da água de embebição ter sido trocada após cada leitura. Vale ressaltar que esse comportamento ocorreu apenas com as sementes tratadas com água fervente e com ácido sulfúrico.

Os tratamentos de escarificação mecânica e química, bem como a imersão em água quente são métodos bastante utilizados para avaliar a absorção de água e superar a dormência imposta pela testa encontrada em sementes de espécies florestais. Contudo, a aplicação e eficiência desses tratamentos dependem de alguns fatores como: a intensidade da

dormência, - muito variável entre as espécies-, procedência e idade das sementes; local e método de coleta (GARCIA *et al.*, 2002; ALVES *et al.*, 2007; BARBOSA *et al.*, 2005; SILVA *et al.* 2007). Oliveira *et al.*(2008) encontraram em sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. Submetidas a diferentes tratamentos pré-germinativos variações na absorção de água e na germinação, em função da data e do local de coleta das sementes.

No caso da escarificação química, ocorre a corrosão ou desgaste do tegumento, eliminando a impermeabilidade imposta pela testa. O uso do ácido sulfúrico concentrado foi eficiente para promover a permeabilidade e superar a dormência em sementes de *Adenantha pavonina* L. (KISSMAN *et al.*, 2008), *Stryphinodendron adstringens* Mart., e *S. polyphyllum* Mart. (MARTINS *et al.*, 2008), *Albizia lebbek* L. (BENEDITO *et al.*, 2009) e *Parkia platycephala* Benth. (NASCIMENTO *et al.*, 2009). Segundo Nascimento *et al.* (2009), o sucesso do tratamento está relacionado com o tempo de exposição ao ácido bem como a sua concentração. O uso de água quente amolece o tegumento, favorecendo a entrada de água na semente (PEREZ, 2004) e sua eficiência foi constada para sementes de *Acácia mangium* Willd. (SMIRDELE *et al.*, 2005; RODRIGUES *et al.*, 2008).

A absorção de água pelas sementes é o primeiro passo da germinação, sem o qual este processo não ocorre. Dessa forma, a germinação está totalmente atrelada e condicionada ao processo de embebição. A reativação do metabolismo (fase I) é caracterizada pelo rápido aumento da respiração, proporcional ao aumento da hidratação dos tecidos da semente. Na indução do crescimento (fase II), a atividade respiratória se estabiliza. A terceira fase, na qual a absorção da água tende a aumentar ocorre um segundo aumento na atividade respiratória, que se associa a maior disponibilidade de oxigênio, como consequência da ruptura da testa produzida pela emergência da radícula e o crescimento da plântula (GUIMARÃES, 1999). Iniciada a germinação das sementes ocorre à ativação da síntese proteica, a formação de enzimas hidrolíticas que produzem a mobilização das reservas. Neste sentido, é de suma importância o conhecimento sobre o comportamento das sementes no que diz respeito ao padrão de absorção de água, para que se possa conhecer o tipo de dormência de uma determinada espécie e adquirir métodos técnicos eficientes e viáveis para superação da dormência e obtenção de uma germinação rápida e uniforme.

Os dados referentes às percentagens médias de absorção de água dos tratamentos em função do tempo em sementes de copaíba submetidas a soluções de NaCl ou de polietileno glicol 6.000 (PEG 6.000) estão representados na Tabela 3 e as curvas de embebição referentes aos mesmos tratamentos estão expressos na Figura 8A e 8B. Salienta-se que antes da embebição as sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado por 60 minutos, para

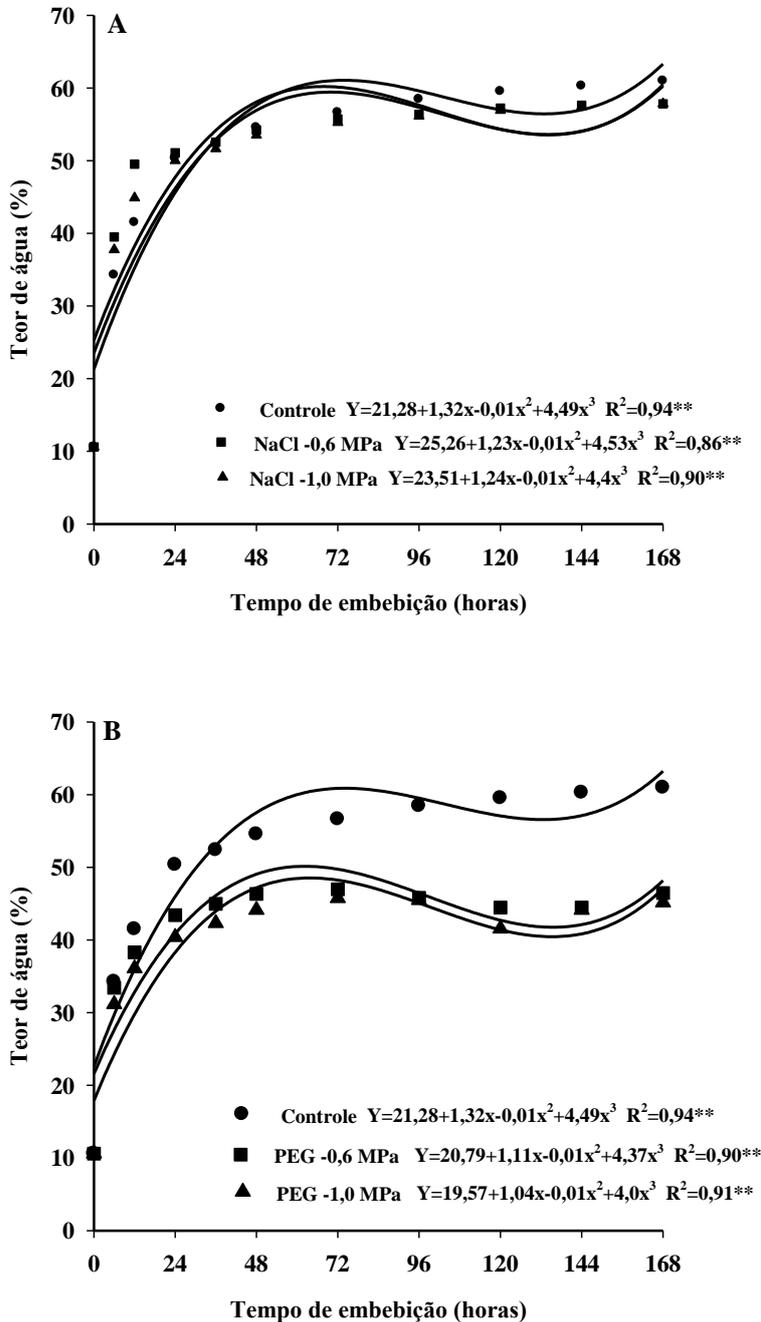
Tabela 3 - Valores médios das percentagens da absorção de água em função do tempo de embebição em sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffi* Desf.) submetidas a imersões em água destilada (controle) e em soluções de NaCl ou de PEG 6.000

Tempo (horas)	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)										
	Controle 0,0	NaCl					PEG 6.000				
		-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
1	24,27 a	23,39 abc	23,03 abc	23,06 abc	22,79 bc	22,27 cd	24,08 ab	22,52 cd	21,39 de	20,12 e	11,15 f
2	27,97 a	25,88 bc	25,43 cd	25,73 bc	24,84 cd	26,85 ab	27,67 a	25,35 cd	24,24 d	22,39 e	21,56 e
4	33,66 a	31,92 bc	30,65 cde	31,61 cd	29,60 ef	30,95 cd	33,14 ab	30,40 de	28,62 f	27,17 g	25,82 h
6	40,50 a	38,98 b	37,88 bc	36,50 d	34,67 e	34,43 e	36,87 cd	34,82 e	33,71 e	31,18 f	30,56 f
8	44,10 a	42,84 ab	40,68 dc	41,98 bc	39,59 de	37,01 f	41,87 bc	38,42 e	36,42 f	34,60 g	33,78 g
10	49,75 a	45,62 b	44,61 b	45,09 b	42,82 c	41,95 c	45,39 b	42,16 c	38,65 d	36,07 e	36,04 e
12	50,40 a	50,84 a	50,54 a	50,39 a	51,14 a	48,94 b	50,15 ab	46,50 c	43,45 d	41,87 e	40,19 f
24	52,77 a	52,24 a	52,69 a	51,82 ab	51,81 ab	50,84 b	51,51 ab	48,30 c	44,99 d	44,46 d	42,16 e
48	54,67 a	54,52 a	54,27 ab	53,75 ab	53,62 abc	52,28 c	52,97 bc	49,87 d	46,66 e	45,66 e	44,06 f
72	56,91 a	56,62 ab	55,63 abc	55,37 bc	55,32 bc	55,22 c	54,47 c	50,57 d	46,98 e	46,39 ef	45,37 g
96	58,26 a	57,25 ab	56,46 bc	56,39 bc	56,19 bc	55,35 cd	54,67 cd	50,33 e	45,40 f	45,24 f	44,46 f
120	59,56 a	57,34 b	57,21 b	57,11 b	57,00 b	56,95 b	55,08 c	48,11 d	46,08 e	44,58f	44,28 f
144	60,63 a	58,62 b	58,48 bc	57,71 bc	57,56 bc	57,26 c	55,22 d	50,16 e	47,35 f	44,73 g	44,56 g
168	61,08 a	59,73 b	59,49 b	58,01 c	57,86 c	57,86 c	55,55 d	50,55 e	47,42 f	46,23 g	45,07 g
Médias	48,18 a	46,84 b	46,21 c	46,03 c	45,34 d	44,86 e	45,61 d	42,00 f	39,38 g	37,90 h	36,36 i

Teor de água inicial das sementes = 10,6%; DMS para tempo/tratamento = 1,34, DMS para médias = 0,35

Médias seguida de mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 8 - Evolução da absorção de água em sementes de copíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a imersões em água destilada (controle ) e em soluções de NaCl e de PEG 6.000 de -0,6 e -1,0 MPa



eliminar a impermeabilidade do tegumento e que para o tratamento controle usou-se água destilada.

Considerando-se o teor de água inicial das sementes secas (10,6%), conta-se uma rápida taxa de embebição já nas primeiras horas em todos os tratamentos. Contudo, nas primeiras 10 horas de embebição, a absorção de água das sementes do tratamento controle foi superior aos demais, atingido uma taxa de absorção de 39,75%. Nesse intervalo, as menores

taxas de embebição foram promovidas pelas sementes imersas em solução de PEG 6.000, nos potenciais de solutos de -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, com reduções da taxa de absorção de água em 11,69, 14,28 e 14,31%, respectivamente, quando comparadas com as sementes do tratamento controle. Evidencia-se, conforme os dados, uma redução do ganho de água pelas sementes de copaíba à medida que os potenciais de soluto foram ficando mais negativos, sendo mais pronunciada nos tratamentos com PEG 6.000.

A estabilização da curva ocorreu às 24 horas de embebição, quando as sementes completaram a fase I (Figura 4 A e B). Contudo, nesse intervalo, as taxas de absorção de água nos tratamentos com PEG foram mais baixas em relação aos demais, com exceção do PEG em -0,2 MPa, o qual não diferiu do tratamento controle.

A fase II perdurou de 24 horas até o final do ensaio, a fase III não foi observada, uma vez que não houve emissão de radícula. Como já mencionado, a ausência da fase III pode ter sido devido às condições de baixa oxigenação em que as sementes foram submetidas o que pode ter comprometido o início da germinação. conforme as médias dos tratamentos durante as 168 horas de embebição (Tabela 3), observa-se que houve uma redução significativa na taxa média de embebição sendo diretamente proporcional ao aumento da concentração de NaCl e de PEG. O potencial de soluto de -1,0 MPa promoveu menor taxa de embebição em ambos os solutos NaCl e PEG 6.000, quando comparados separadamente, diminuindo a taxa média de absorção de 3,32% para o NaCl e 11,81% para o PEG 6.000, em comparação com o tratamento controle.

Resultados semelhantes em relação à absorção de água em soluções de NaCl foram encontrados por Nizam (2011), trabalhando com sementes de azevém perene *Lolium Multiflorum* Lam. esse autor observou alta taxa de absorção de água pelas sementes em soluções de NaCl em condutividade elétrica (CE) de 4 dS m<sup>-1</sup>. (aproximadamente -0,2 MPa) por outro lado, o mesmo autor constatou que as sementes diminuíram significativamente a taxa de embebição quando a CE foi aumentada para 20 dS m<sup>-1</sup> (aproximadamente -0,88 MPa). Taiz e Zeiger (2006) relatam que o aumento da concentração de NaCl na solução ou no substrato aumenta a pressão osmótica promovendo abaixamento do potencial hídrico do meio, o que dificulta a absorção de água pelas sementes, e por conseguinte redução na taxa de germinação.

Quanto ao estresse hídrico os resultados desta pesquisa corroboram com os encontrados por de Albuquerque *et al.* (2000), em sementes de *Crotalaria spectabilis* Roth. Os autores verificaram redução significativa na taxa de embebição das sementes imersas em solução de polietileno glicol 6 000 nos potenciais de soluto de -0,4; -0,8 e -1,2 MPa quando

compararam com o controle (sementes imersas em água destilada). JELLER *et al.* (2003) estudando a absorção de água em sementes canafístula (*Cassia excelsa* Schrad.) imersas em soluções de PEG 6.000 com potenciais osmóticos de -0,2, -0,4 e -0,6 MPa e em água destilada durante 168 horas evidenciaram que o PEG reduziu a taxa de embebição e prolongou a fase II do padrão trifásico clássico quando comparada com o tratamento controle, sendo tal redução mais acentuada para o potencial de solutode -0,6 MPa.

Estudos da curva de embebição é de grande valor, especialmente para o desenvolvimento de técnicas pré-germinativas que visem melhorar a qualidade fisiológica das sementes, tais estudos permitem a aquisição de conhecimentos técnico-práticos para a elaboração de métodos possibilitadores de aprimoramentos de trabalhos em fisiologia de sementes e produção de mudas, principalmente em se tratando de espécies arbóreas nativas (NATH; COOLBEAR; LOPES *et al.*, 2000).

## 5.2 Superação de dormência

Conforme os dados da análise de variância referentes aos testes de superação de dormência apresentados na Tabela 4, observa-se que houve diferenças significativas entre os tratamentos, para as três variáveis estudadas: Percentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG), para as quais se obteve uma boa uniformidade dos dados, considerando-se os baixos coeficientes de variação.

Tabela 4 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios de Percentagem de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a testes de superação de dormência

Fonte de Variação	G. L.	Quadrados Médios		
		%G	IVG	TMG
Tratamentos	15	2335,45**	1,98**	1,08**
Erro	60	29,22	0,013	0,012
CV. (%)		6,80	7,16	3,97

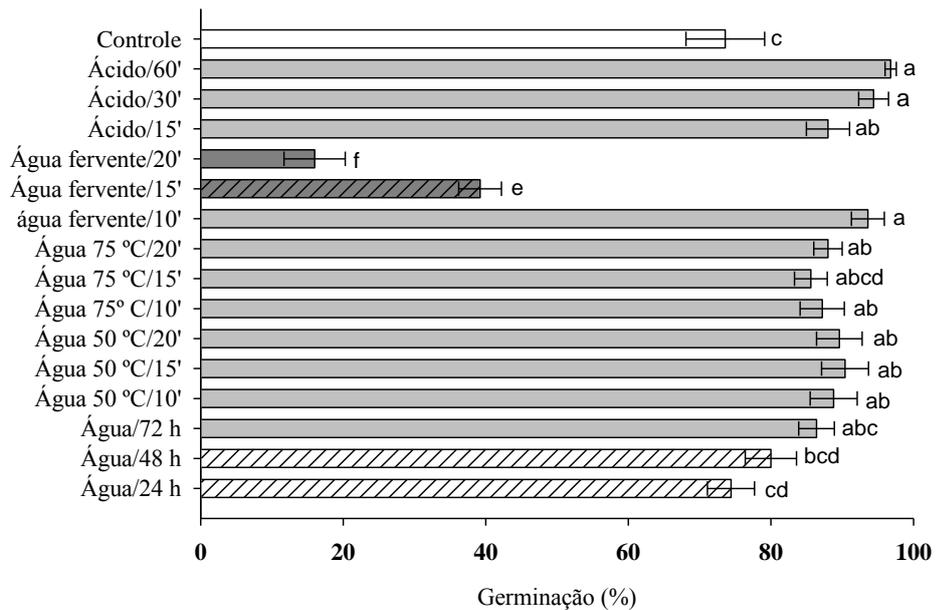
(\*\*) = Significativo a 1% pelo teste F.

CV = Coeficiente de variação.

Como visto na Figura 9, a maioria dos tratamentos foi capaz de promover a germinação acima de 85%, destacando-se os tratamentos com ácido sulfúrico concentrado por

30 e 60 minutos, com 94 e 96,8% de germinação respectivamente. Conforme Brasil (2009), em se tratando de sementes de espécies nativas, uma germinação acima de 80% pode ser considerada como um bom resultado, levando-se em conta apenas a quantidade de sementes germinadas.

Figura 9 - Valores médios da percentagem de germinação de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a testes de superação de dormência



Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. O traço na extremidade direita de cada barra representa o erro padrão da média.

Como observado na Figura 7B as imersões das sementes de copaíba em ácido sulfúrico concentrado por 30 e 60 minutos promoveram alta taxa de absorção de água, refletindo em alto %G, IVG e baixo TMG. Tais fatos reforçam a ideia de que a germinação depende primariamente da evolução da absorção de água pelas sementes. Os tratamentos com água fervente por 15 e 20 minutos apesar de terem proporcionado altas taxas de embebição (Figura 7A), não foram eficientes para as variáveis supracitadas, produzindo os piores resultados, com redução da germinação em 34,4 e 57,6% respectivamente, em relação ao controle e, 59,5 e 83,47% em relação à imersão em ácido sulfúrico concentrado por 60 minutos. Por outro lado, a imersão em água fervente por 10 minutos promoveu alto percentual de germinação nas sementes estudadas.

A absorção de água pelas sementes é condicionada pela temperatura, sendo as temperaturas mais elevadas promotoras de maior embebição, tal fenômeno, provavelmente, está relacionado às modificações da viscosidade e da energia cinética da água com o aumento da temperatura (MAYER: POLJAKOFF-MAYBER, 1989).

Segundo Carvalho e Nacagawa (2000) a embebição das sementes é um processo físico, ligado às propriedades coloidais, ocorrendo tanto em sementes vivas como em sementes mortas. Neste sentido, o aumento do tempo de imersão das sementes de copaíba em água fervente parece ter sido determinante no processo germinativo, causando a morte embrionária da maioria das sementes, conseqüenciando no impedimento da germinação. Tal fato, permite supor que a água em ebulição poderia promover melhores resultados com o uso de menores tempos de imersão. Aburquerque (2006) obteve resultados favoráveis na germinação de sementes de sucupira preta (*Bowdichia virgilioides*), utilizando para a superação de dormência água fervente por 5 e 10 minutos. Já Gama *et al.* (2011) investigando o comportamento germinativo de sementes de *Centrosema plumeri* Benth. conseguiram germinação acima de 85% com imersões em água fervente por 10 e 20 segundos.

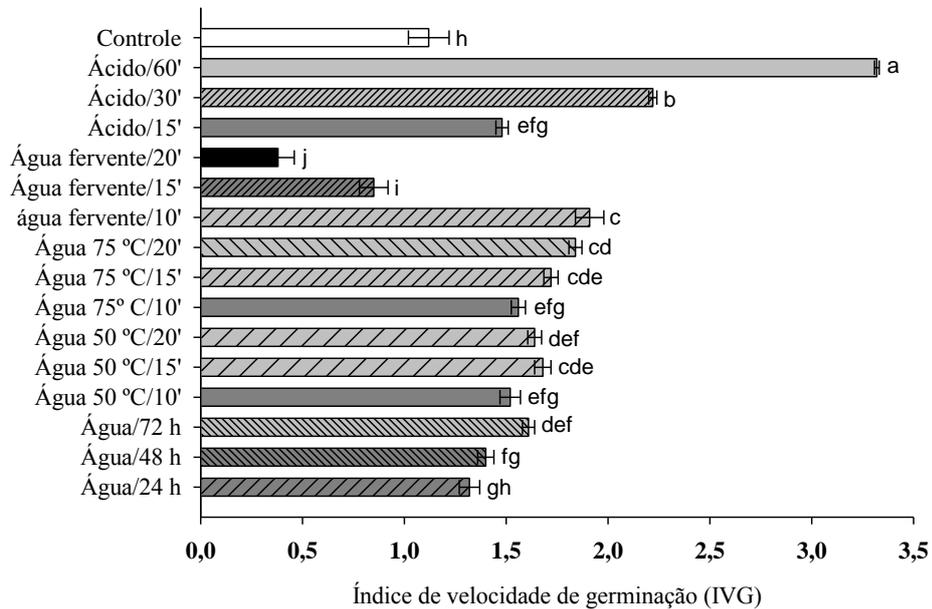
Os tratamentos de imersão em água quente e em temperatura ambiente e em ácido sulfúrico são bastantes utilizados para superar a dormência tegumentar de sementes de espécies arbóreas. Trabalhando com sementes de *Bowdichia virgilioides*, Albuquerque *et al.* (2007) obtiveram êxito na superação de dormência com imersões em ácido sulfúrico concentrado e em água fervente por 30 e 10 minutos respectivamente. Borges *et al.* (2004) constataram que a imersão em água a temperatura ambiente por 72 horas foi eficiente na promoção da germinação de sementes de mamoneira (*Tachigalia multijuga*). Melo *et al.* (2011) conseguiram bons resultados na germinação de sementes de *Parkia velutina* com imersão em ácido sulfúrico concentrado por 30 minutos.

Bezerra *et al.* (2002) constataram que a imersão das sementes de copaíba em ácido sulfúrico aumenta a percentagem e a velocidade de germinação e reduz em 3,7 dias o tempo médio de germinação. Porém, os resultados obtidos por esses autores foram inferiores aos encontrados neste trabalho, tanto para a %G como para os IVG e TMG.

A maioria dos tratamentos aumentou significativamente o IVG das sementes estudadas, destacando-se o tratamento com o ácido sulfúrico por 60 minutos, superando o controle em 66,26% (Figura 10).

Quanto ao TMG, fica claro que no tratamento controle as sementes estudadas demoraram mais para germinar, mesmo resultando em 73,6% de germinação. Isso indica que, nem sempre altos percentuais de germinação no final do experimento significam uma germinação rápida e uniforme (POPINIGIS, 1985).

Figura 10 - Valores médios do índice de velocidade de germinação de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a testes de superação de dormência



Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. O traço na extremidade direita de cada barra representam o erro padrão da média.

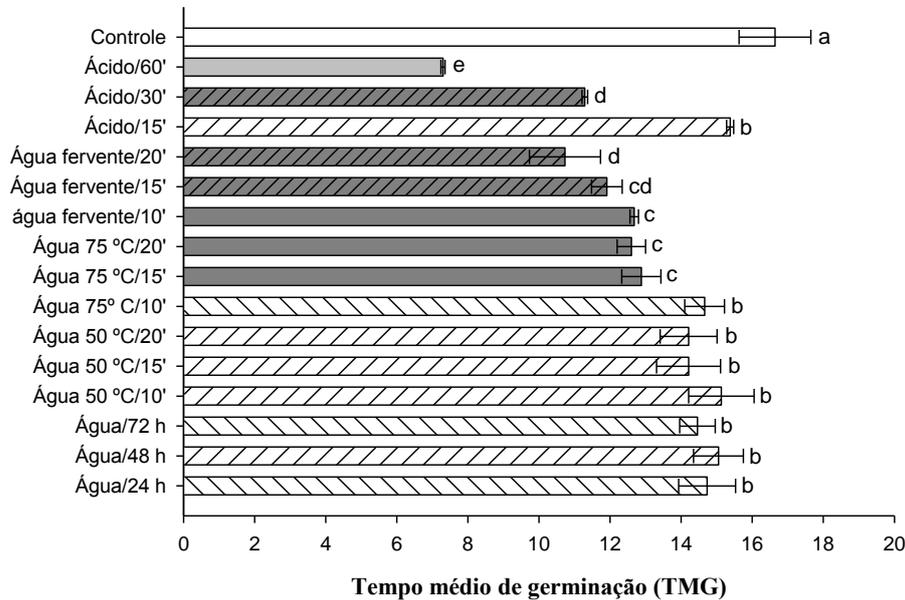
O TMG indica o tempo médio em que um lote ou uma amostra de sementes leva para germinar ao máximo (MARCOS FILHO, 2005). Observa-se na Figura 11 que a imersão em ácido sulfúrico por 60 minutos reduziu significativamente o TMG (56,12%) em relação ao controle, sendo este, o tratamento que se sobressaiu em relação aos demais.

A germinação das sementes de copaíba imersas em ácido sulfúrico por 60 minutos teve início a partir do sexto dia após a semeadura (DAS).

Já no tratamento controle a germinação iniciou no décimo primeiro DAS, um atraso de 45,45% em relação ao tempo de primeira contagem. Considerando-se as variáveis avaliadas, tomando-se como base o erro padrão da média dos tratamentos (Figuras 9, 10 e 11) e enfatizando-se a imersão em  $H_2SO_4/60'$  e controle (%G = 0,8 e 5,51; IVG = 0,01 e 0,1; TMG = 0,06 e 1,01 respectivamente), evidencia-se que, no geral, a imersão em  $H_2SO_4/60'$  promoveu menor variação e maior rapidez, conferindo maior uniformidade dos dados referentes a germinação das semente testadas.

Marcos Filho (2005) salienta que o conhecimento sobre a velocidade de germinação de um lote de sementes é muito importante em diagnósticos para a obtenção de plântulas ou mudas mais uniformes e saudáveis, uma vez que quanto mais rápido a semente germina, menos as sementes estão sujeitas a injúrias causadas pelo ataque de pragas e/ou

Figura 11 - Valores médios referentes ao tempo médio de germinação de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a testes de superação de dormência



Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. O traço na extremidade direita de cada barra representa o erro padrão da média.

doenças, devido ao menor tempo de exposição, proporcionando assim, menor custo de produção.

Fica evidente, conforme estes resultados, a necessidade de utilização de tratamentos pré-germinativos para o desencadeamento da germinação em sementes de copaíba. Resultados semelhantes para essa espécie foram encontrados por Bezerra *et al.*, (2002), em que os autores verificaram aumento no IVG e redução do TMG com imersão em ácido sulfúrico concentrado.

O comportamento germinativo de *C. langsdorffii* tem sido descrito na literatura científica e técnica de duas maneiras: alguns trabalhos recomendam a necessidade de tratamentos de quebra de dormência (BORGES *et al.*, 1982; BEZERRA *et al.*, 2002), enquanto que segundo Noleto (2010), não há necessidade de tais tratamentos. Entre os tratamentos de escarificação já testados para a espécie figuram a escarificação mecânica com lixa e a imersão em ácido sulfúrico (BEZERRA *et al.*, 2002), imersões em água parada por 72 horas e em hipoclorito de sódio (NaClO) por 60 minutos (NOLETO, 2010). Todavia, todos esses trabalhos carecem de informações mais detalhadas sobre o processo germinativo ao longo do tempo.

Trabalhando com sementes de copaíba Amaro e Andrade Jr. (1997) verificaram germinação de 97%, sem qualquer tratamento, porém, nesse caso, os autores coletaram

sementes antes de completarem a desidratação, ainda dentro dos frutos, e o tegumento ainda não estava completamente maduro.

No presente trabalho, obteve-se 73,6% de germinação no tratamento controle, com um IVG de 1,12, que é considerado muito baixo e um TMG de 16,4 dias, considerado muito alto (BRASIL, 2009). Porém, neste caso, as sementes foram colhidas após a deiscência, em frutos abertos e secos, ou seja, em estágio final de maturação. É importante ressaltar que a época da coleta e a maneira como as sementes são coletadas podem influenciar a germinação (MARCOS FILHO *et al.*, 1994; MARCOS FILHO, 2005; SILBERSTEIN *et al.*, 2008).

### 5.3 Germinação sob estresses hídrico e salino

Conforme os dados contidos na Tabela 5, observa-se que o estresse salino não afetou significativamente o %G, porém, influenciou IVG e o TMG. Quanto ao estresse hídrico, houve diferença significativa entre os tratamentos para as três variáveis avaliadas.

Tabela 5 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios de percentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de copaíba submetidas aos estresses salino hídrico

Fonte de Variação	G. L.	Quadrados Médios		
		%G	IVG NaCl	TMG
Tratamentos	5	67,52 <sup>ns</sup>	135,29**	4,22**
Erro	24	32,80	3,42	0,05
CV. (%)	-	6,14	11,88	11,37
PEG				
Tratamentos	5	6340,69**	295,34**	137,33**
Erro	24	199,46	4,41	17,65
CV. (%)	-	21,18	28,74	54,64

(<sup>ns</sup>) = não significativo, (\*\*) = significativo a 1% pelo teste F. CV = coeficiente de variação.

Os dados sobre o %G, IVG, e TMG e as equações da regressão estão representados nas Figuras 12A, 12B 12C e na Tabela 6, respectivamente. Verifica-se que o percentual de germinação das sementes de copaíba não foi afetado significativamente pela redução do potencial de soluto induzido por NaCl. No entanto, essa variável foi influenciada significativamente pelo PEG nos potenciais de solutos -0,8 e -1,0 MPa, reduzindo o %G em

Figura 12- Valores médios: (A) percentagem de germinação (%G), (B) índice de velocidade de Germinação (IVG) e (C) tempo médio de germinação (TMG), de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas aos estresses salino e hídrico

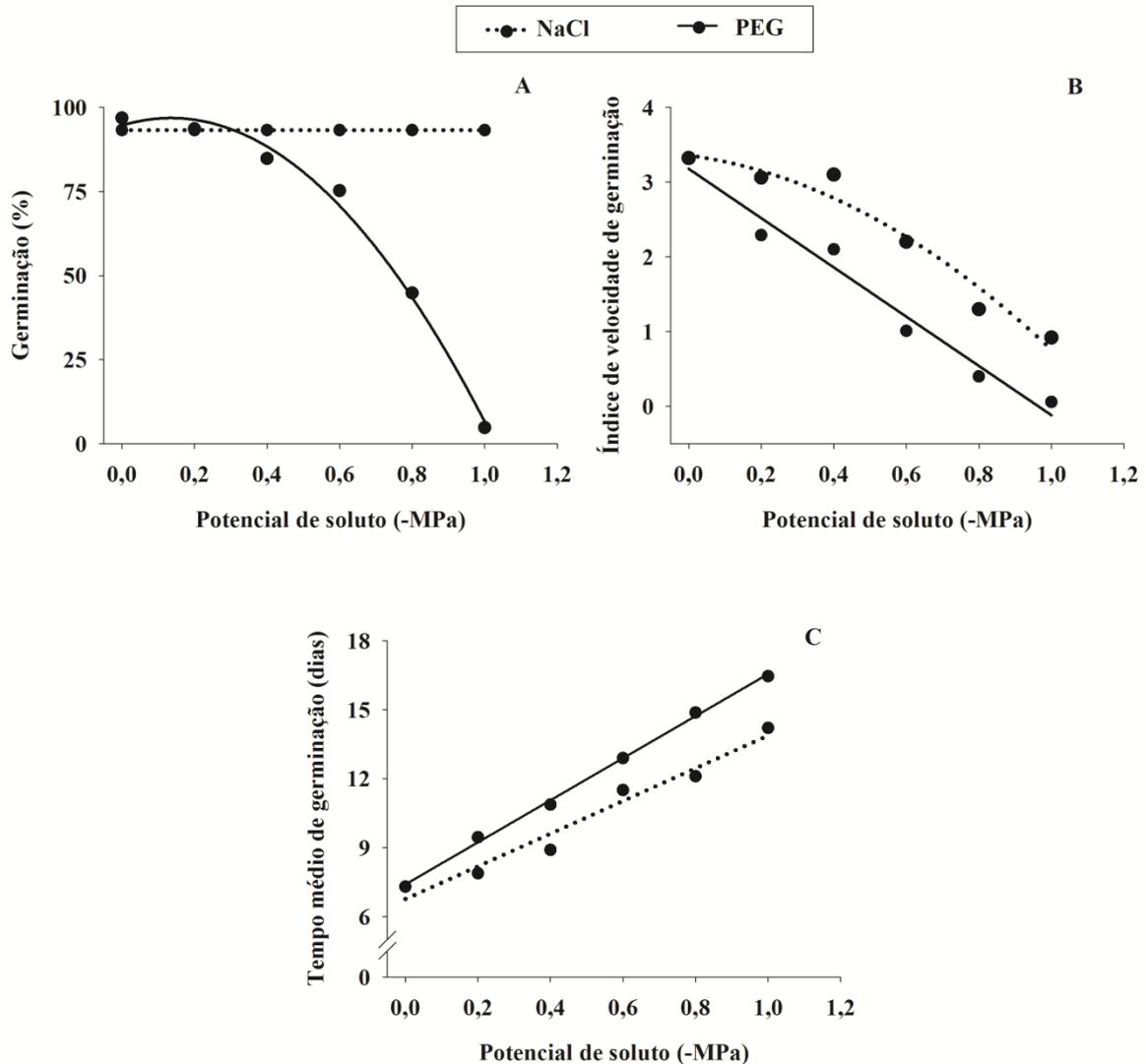


Tabela 6 - Equações da regressão para Percentual de Germinação (%G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG) e Tempo Médio de Germinação (TMG) de sementes de copaíba submetidas aos estresses salino e hídrico

Solução	Variáveis	Equação	F	P	R <sup>2</sup>
NaCl	%G	93,2 <sup>ns</sup>	-	-	1,0
	IVG	3,355-0,650x-1,946x <sup>2</sup> **	33,30	0,0089	0,92
	TMG	6,7590 +7,1086x**	106,13	0,0005	0,95
PEG	%G	94,57+32,71x-12,71x <sup>2</sup> **	190,78	0,0007	0,98
	IVG	3,15-3,29x**	65969,54	<0,0001	0,99
	TMG	7,39+,14x**	1845,74	<0,0001	0,99

(<sup>ns</sup>) = não significativo, (\*\*) = significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

53,7% e 95% respectivamente, comparados ao controle (Figura 12A). A diminuição do potencial de soluto com NaCl a partir de -0,6 MPa reduziu significativamente o IVG com maior impacto em -1,0 MPa (72,3%), em relação ao tratamento controle. Essa variável foi mais afetada pelo PEG, que promoveu reduções significativas em todos os tratamentos comparando-se ao controle, sendo o potencial de soluto de -1,0 MPa de maior efeito, reduzindo o IVG em 98,2% (Figura 12B). Nos tratamentos com NaCl, o TMG aumentou significativamente nos potenciais de solutos de -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, 57,5%, 65% e 94,5% em relação ao controle, enquanto que para o PEG 6.000, esse aumento foi significativo em todos os tratamentos, atingindo 1,4 vezes no potencial de soluto de -1,0 MPa (Figura 12C). Para a percentagem de germinação, estes resultados discordam dos de Jeller e Perez, (1997) em que foi observado inibição do %G em 20,4% em -0,2 MPa, 100% em -1,0 MPa de NaCl em sementes dessa mesma espécie. Sobre esse contraste. É importante ressaltar que a germinação das sementes de copaíba pode diferir em função da metodologia utilizada (AMARO; ANDRADE JR, 1997). No trabalho citado os autores não precisaram a idade das sementes, a forma como as sementes foram colhidas, além disso, na referida pesquisa as sementes foram imersas em ácido sulfúrico por apenas 10 minutos e não foi revelado em qual concentração. Enquanto que nesta pesquisa, as sementes foram imersas em ácido sulfúrico concentrado por 60 minutos para eliminar a impermeabilidade tegumentar. Portanto, pode ser que as sementes fossem velhas ou não tenha sido eliminada a impermeabilidade tegumentar e, isso pode ter interferido nos resultados. Ressalta-se que, pesquisas são ainda necessárias para elucidar melhor a superação de dormências das sementes de copaíba.

Quanto ao sal, de acordo com Marcos Filho (2005), o aumento na dosagem de NaCl retarda a entrada de água nas sementes, dificultando os processos metabólicos que desencadeiam o início da germinação.

O mau desempenho da germinação na presença de sal deve-se à limitação na absorção de água que provoca uma carência de energia para os processos metabólicos da germinação (LARCHER, 2003). A alta concentração de sais é um fator de estresse para as plantas, pois, reduz o potencial osmótico e proporciona a ação dos íons sobre o protoplasma. A água é osmoticamente retida na solução salina, de forma que o aumento da concentração de sais a torna cada vez menos disponível para as plantas. Assim, com o aumento da salinidade, ocorre a diminuição do potencial osmótico do substrato, dificultando a absorção de água pelas raízes (LOPES; MACEDO, 2008).

Estudando os efeitos dos estresses hídrico e salino na germinação de sementes de *Plantago ovata*, Souza *et al.* (2008) verificaram também que os menores valores encontrados

de germinação foram nos potenciais induzidos com PEG 6000 em comparação com soluções salinas. Resultados semelhantes foram obtidos por Moraes e Menezes (2003) trabalhando com soja.

Larcher (2003) ressalta que o excesso dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  causa intumescência protoplasmática, afetando a atividade enzimática e resultando principalmente na produção inadequada de energia por distúrbios na cadeia respiratória.

Potenciais hídricos muito negativos, especialmente no começo da embebição, inviabilizam a sequência dos eventos germinativos da semente durante a absorção de água. Por outro lado, de acordo com Borges e Rena (1993), o abaixamento do potencial hídrico, causado pela adição de polietileno glicol (PEG 6.000) na solução causa excesso de umidade, ocasionando um decréscimo na germinação, visto que impede a penetração do oxigênio e reduz todo o processo metabólico resultante.

Com relação ao PEG 6.000, os resultados deste trabalho corroboram com Moraes; Menezes; Pasqualli (2005), que observaram reduções significativas na germinação e formação de plântulas normais de *Phaseolus vulgaris* em potenciais osmóticos inferiores a -0,60 MPa. Isso pode estar relacionado com o fato de que soluções de PEG apresentam alta viscosidade, comprometendo a absorção de  $\text{O}_2$  pelas sementes (YOON *et al.*, 1997). Contudo, Lima e Torres, (2009), trabalhando com sementes de juazeiro (*Ziziphus joazeiro*) verificaram um efeito mais pronunciado do NaCl em relação ao PEG.

Conforme Gois *et al.* (2008), a redução do poder germinativo, em comparação com o controle, serve como um indicador do índice de tolerância da espécie à salinidade. Nesse método, a habilidade para germinar indica, também, a tolerância das plantas aos sais em estádios subsequentes do desenvolvimento (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Quanto ao limite máximo de tolerância para IVG e TMG, Jeller e Perez, (1997) encontraram para sementes de *Copaifera langsdorffii* limites de -1,6 MPa para NaCl e de -1,0 MPa para  $\text{CaCl}_2$ , enquanto sementes de *Pterogyne nitens*. suportaram a salinidade ate -2,0 MPa e -1,6 MPa em soluções de NaCl e  $\text{CaCl}_2$ , respectivamente. Em sementes de *Leucaena leucocephala*, o limite máximo de tolerância ao NaCl ocorreu a -1,3 MPa (CAVALCANTE; PEREZ, 1995). O mesmo ocorreu com sementes de *Prosopis juliflora* que a partir do potencial de -0,3 MPa de NaCl; ja para o  $\text{CaCl}_2$  a redução só foi significativa a partir de -0,6 MPa (PEREZ; TAMBELINI, 1995). Sementes de *P. nitens* apresentaram redução na velocidade de germinação a partir dos potenciais de solutos de -0,8 e -0,4 MPa em NaCl e  $\text{CaCl}_2$ , respectivamente (NASSIF; PEREZ, 1997).

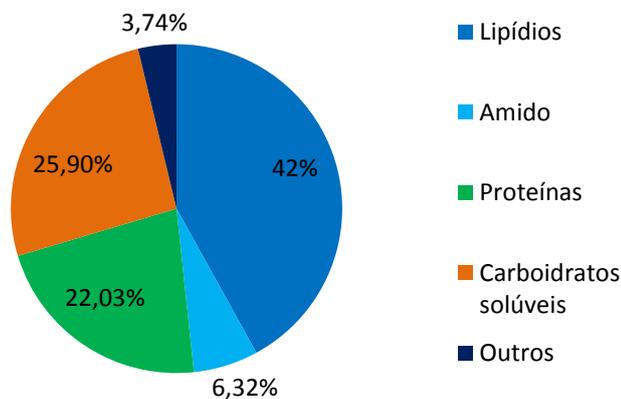
Rosa *et al.* (2005) constataram em sementes de timbó (*Ateleia glazioviana*) as mesmas dificuldades impostas pelos potenciais osmóticos mais negativos à germinação, em que a partir de -0,4 MPa houve um decréscimo acentuado na germinação acumulada, sendo mais drástico para os potenciais de -0,6 e -0,8 MPa. Fonseca e Perez (2003), ao testarem potenciais de -0,1 a -0,5 MPa induzidos por PEG 6.000 para a espécie *Adenantha pavonina*, encontraram maior percentual de germinação na testemunha, o qual decresceu do potencial -0,1 MPa até o potencial -0,5 MPa. Em *Bowdichia virgilioides*, Silva *et al.* (2001) observaram que o percentual de germinação sofreu drástica queda a partir de -0,5 MPa, ao passo que em potenciais mais negativos (-0,9 MPa e -1,1 MPa), não houve germinação. Com *Senna occidentalis*, Delachiave e Pinho (2003) verificaram queda no percentual de germinação a partir de -0,2 MPa, com germinação nula em -0,6 MPa. Já *Chorisia speciosa* apresentou elevada queda na germinação no potencial -0,7 MPa (FANTI; PEREZ, 2003).

Considerando-se o apanhado literário e os resultados desta pesquisa, salienta-se que, pesquisa mais acuradas são ainda necessárias para um melhor conhecimento do comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. Haja vista, a incipiência informativa disponível na literatura especializada.

#### 5.4 Quantificação das principais substâncias de reservas

As sementes quiescentes de *copaíba langsdorffii* Desf. apresentaram 42% de lipídios, 25,9 % de açúcares solúveis, 22,03% de proteínas e 6,32 % de amido, em relação à massa seca dos cotilédones. Outros constituintes, como carboidratos de parede e compostos derivados do metabolismo secundário, íons e outras substâncias estariam compondo cerca de 3,74% (Figura 13).

Figura 13 -. Percentuais das principais substâncias de reserva da semente de copaíba



A quantidade total de reservas da semente disponível para uma plântula não é determinada apenas pela sua massa, mas é também influenciada pela composição química. Considerando-se a alta proporção de lipídios nas sementes de copaíba, pode-se sugerir essa característica como uma possível vantagem adaptativa para a espécie, possibilitando o estabelecimento de plântulas em ambientes menos iluminados, devido ao maior conteúdo energético armazenado. Segundo Kitagima (1996) os altos teores de lipídios em sementes de algumas espécies devem indicar uma relação compensatória (maior energia/volume), as sementes mais leves são selecionadas, o que favorece a dispersão.

Observa-se nas Tabelas 7, 8 e 9 que a través dos dados apresentados pela análise de variância houve diferença significativa entre os estádios de desenvolvimento (EDs), entre os tratamentos e na interação ED x Tratamento.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios da massa seca e teores de lipídios e amido, em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca, em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RA) de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

Fonte de Variação	G. L.	Quadrados Médios		
		COT	PA	RA
ED	2	565833,61**	3874,48**	77716,51**
Erro a	8	67,08	55,67	36,78
Tratamento.	5	2988,09**	241,57**	3431,35**
ED x Tratamento.	10	2156,38**	4208,06**	2752,53**
Erro	60	113,93	132,29	45,05
CV. a (%)		3,35	8,99	12,53
CV. b (%)		2,29	6,71	10,02
Lipídios				
ED	2	655244,30**		
Erro a	8	19,40		
Tratamento	5	913,11**		
EDxTratamento	10	570,45**		
Erro b	60	34,49		
CV. a (%)		1,73		
CV. b (%)		2,31		
Amido				
ED	2	571147,12**	599,64**	4307,43**
Erro a	8	20,45	9,01	7,33
Tratamentos	5	3100,44**	94,27**	11125,32**
EDxTratamento	10	1382,24**	178,62**	1383,42**
Erro b	60	20,55	5,80	8,51
CV(%)		2,03	8,07	6,21
CV (%)		1,03	6,78	6,45
Proteínas				
ED	2	70303,62**	1683,78**	239718,84**
Erro a	8	60,50	27,08	408,85
Tratamento	5	727,35**	4811,68**	4458,03**
EDxTratamento	10	881,11**	1789,78**	5910,57**
Erro b	60	86,35	42,10	119,01
CVa (%)		8,25	4,74	14,98
CV b (%)		9,86	5,91	8,08

Tabela 8 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios de aminoácidos, açúcares solúveis, açúcares redutores e não redutores, em  $\text{mgg}^{-1}$  de massa seca em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RA) de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

Fonte de Variação	G. L.	Quadrados Médios		
		COT	PA	RA
Aminoácidos				
ED	2	516,27**	3669,90**	2774,13**
Erro a	8	0,56	0,56	0,65
Tratamento	5	12,92**	85,39**	118,00**
EDxTratamento	10	10,15**	26,23**	50,01**
Erro b	60	0,41	0,50	0,95
CV a(%)		7,83	3,52	5,24
CV b(%)		6,68	4,83	6,32
Açúcares solúveis				
ED	2	1448,90**	4756,98**	22933,58**
Erro a	8	0,45	2,56	51,95
Trat.	5	10,93**	35,94**	8162,29**
ED x Trat.	10	4,46**	67,12**	2001,31**
Erro b	60	0,43	2,53	39,80
CV. a (%)		6,79	8,06	10,07
CV. a (%)		6,63	8,11	8,82
Açúcares redutores				
ED	2	169,31 **	955,53**	24,25**
Erro a	8	0,10	0,73	0,01
Tratamentos	5	15,76 **	46,35**	1,39 **
EDxTratamento	10	9,92**	51,35**	0,44 **
Erro b	60	0,07	0,69	0,02
CV. a (%)		15,80	14,78	9,93
CV. b (%)		12,79	14,27	14,18
Açúcares não redutores				
ED	2	658,62**	1582,77**	18020,47**
Erro a	8	0,16	1,87	61,84
Tratamentos	5	4,59**	116,94**	6487,15**
EDxTratamento	10	18,25**	89,62**	4757,48**
Erro b	60	0,44	2,44	48,41
CV. a (%)		5,15	9,88	12,21
CV. b (%)		8,79	11,28	10,80

Tabela 9 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios de íons potássio, sódio e cloreto, em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca, em cotilédones (COT), parte aérea (PA) e raiz (RA) de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

Íons sódio ( $\text{Na}^+$ )				
ED	2	325,47**	41,32**	66,34**
Erro a	8	0,77	0,13	0,54
Tratamentos	5	347,74**	142,60**	511,79**
EDx Tratamento	10	34,48**	13,68**	7,14**
Erro b	60	0,82	0,12	0,59
CV. a (%)		12,79	7,77	7,87
CV. b (%)		13,17	7,48	8,24
Íons potássio ( $\text{K}^+$ )				
ED	2	18,7610**	3078,46**	275,81**
Erro a		0,08	0,76	0,61
Tratamentos	5	0,3548**	21,84 **	15,98**
ED x Tratamento	10	1,8126**	19,24**	12,29**
Erro b	60	0,0629	0,86	0,35
CV. a (%)		10,28	7,66	12,51
CV. b (%)		8,72	8,15	9,58
Íons cloreto ( $\text{Cl}^-$ )				
ED	2	160,24**	348,06**	403,26 **
Erro a	8	0,11	0,16	0,32
Tratamentos	5	232,60**	190,97**	459,88 **
ED x Tratamento.	10	51,89**	34,39**	80,21 **
Erro b	60	0,04	0,20	0,47
CV a (%)		3,54	3,66	3,45
CV b (%)		2,24	4,11	4,01

(\*\*) Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

#### 5. 4 Massa seca

De acordo com os dados apresentados na Tabela 10, verifica-se que no ED 1, apenas o potencial de soluto de -1,0 MPa diferiu do tratamento controle, mantendo 7,7% a mais de massa seca nos cotilédones. Já para o ED 2, os potenciais de solutos de -0,6, -0,8 e -1,0 MPa mantiveram respectivamente 7,2, 15,7 e 23% a mais de massa seca nos cotilédones, quando comparados com o controle, enquanto que no ED 3, os potenciais de solutos equivalentes mantiveram respectivamente, 32,5, 38% e 60% a mais de massa seca cotiledonar em relação ao controle, diferindo estatisticamente desse tratamento. Para a massa seca da parte aérea, não houve diferenças significativas entre os tratamentos no ED 1, no ED 2, apenas o potencial de solutos de -1,0 MPa diferiu do controle, com uma redução de 18,4% na

Tabela 10 - Valores médios da massa seca em miligrama por plântula de cotilédones (MSCOT), parte aérea (MSPA) e raiz (MSRA) de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
MSCOT						
ED1	442,8 Ba	450,8 Ba	446,0 Ba	447,8 Ba	447,8 Ba	476,8 Aa
ED2	306,4 Db	306,8 Db	308,4 Db	328,0 Cb	354,8 Bb	376,8 Ab
ED3	61,6 Cc	57,4 Cc	74,2 BCc	81,6 Bc	85,0 ABc	98,4 Ac
Massa seca dos cotilédones das sementes quiescentes = 501,60 mg por semente. DMS: linha = 16,17, DMS: coluna = 19,80.						
MSPA						
ED1	14,9 Ac	14,9 Ac	14,3 Ac	14,6 Ac	14,2 Ac	14,4 Ac
ED2	143,8 Ab	143,2 Ab	143,0 Ab	130,4 ABb	127,0 ABb	119,8 Bb
ED3	302,2 Aa	269,2 ABa	277,6 Ba	250,4 Ca	193,1 Da	182,8 Da
DMS: linha = 17,43, DMS: coluna = 21,33						
MSRA						
ED 1	12,3 Ac	13,4 Ac	12,6 Ac	12,5 Ac	12,1 Ac	9,7 Ac
ED 2	38,2 Ab	42,8 Ab	39,2 Ab	36,9 Ab	38,1 Ab	33,9 Ab
ED 3	156,9 Aa	153,3 Aa	118,2 Ba	107,1Ba	77,2 Ca	49,4 Da
DMS: linha = 10,16, DMS: coluna = 12,43						

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

massa seca da plântula. Já para o ED 3, os potenciais de solutos de -0,4, -0,6, -0,8 e -1,0 MPa reduziram significativamente a massa seca das plântulas de copaíba em 15,0 22,0 41,0 e 49,0% respectivamente, comparando-se com o controle. Para a massa seca da raiz, não houve diferenças significativas entre os tratamentos nos ED 1 e ED 2. Por outro lado, no ED 3 houve forte inibição no crescimento das raízes das plântulas de copaíba, mediante aumento da concentração de NaCl na solução, a partir de -0,4 MPa, nesse potencial de soluto houve uma redução de 24,7% no conteúdo médio de massa seca das raízes, quando comparado com o controle. A maior redução foi de 68,5%, promovida pelo -1,0 MPa, em relação ao tratamento controle.

Segundo Fageria (1985) para uma planta ser considerada como tolerante, a produção de massa seca não deve ser reduzida pela salinidade em mais de 20% em relação ao tratamento controle, assim, com base nos resultados aferidos neste trabalho, copaíba pode ser considerada tolerante à salinidade até o nível de -0,4 MPa em relação à produção de massa

seca no desenvolvimento inicial da planta, uma vez que os potenciais de solutos mais negativos promoveram redução da massa seca superior a 20% em relação ao controle.

Considerando-se o conteúdo de massa seca dos cotilédones das sementes quiescentes (501,6 mg por semente) e as quantidades de matéria seca consumidas nos potenciais de solutos extremos 0,0 MPa (controle) e -1,0 MPa, estima-se que no ED 1 foram consumidos 11,72%, no controle, enquanto que no -1,0 MPa foram consumidos 4,94% do total de massa seca cotiledonar das sementes quiescentes, no ED 2 foram mobilizados para o eixo embrionário 38,91% no controle e 24,88% no -1,0 MPa e no ED 3 foram consumidos 87,71% no controle e 80,38% no tratamento -1,0 MPa. As diferenças entre o controle e o -1,0 MPa foram de 6,78% (ED 1), 14,03% (ED 2) e 7,33% (ED 3) em relação a mobilização de reservas a partir dos cotilédones. Neste sentido, e conforme essas informações, há evidências de que o NaCl afetou negativamente o crescimento das plântulas de copaíba.

A diminuição no conteúdo médio de massa seca nos cotilédones foi acompanhada pelo aumento significativo na massa seca do eixo embrionário (parte aérea e raiz), pois, a massa seca das plântulas do ED 3 foi em média 16,86 (parte aérea) e 9,10 (raiz) vezes superior a das plântulas do ED 1. Assim, esse crescimento, foi correlacionado com a mobilização das reservas cotiledonares para o eixo embrionário durante o desenvolvimento inicial das plântulas de copaíba.

Conforme os dados apresentados na Figura 12A, observa-se que os potenciais de solutos aplicados com NaCl não afetou significativamente a percentagem de germinação. No entanto, influenciou negativamente o índice de velocidade de germinação (Figura 12B) e no tempo médio de germinação (Figura 12C). Estes resultados obtidos sobre a massa seca, convergem com inibição do crescimento das plântulas promovidas pelo aumento nas concentrações de NaCl.

Fica evidente que houve inibição da mobilização de reservas a partir dos cotilédones para o eixo embrionário, durante o desenvolvimento inicial das plântulas de copaíba, devido ao aumento na concentração de NaCl na solução. Hosseini, Powell e Bingham (2002) ressaltam que em glicófitas, o estabelecimento da plântula é mais afetado pelo estresse salino do que a germinação. Sementes de *Schinopsis quebracho colorado* (uma espécie arbórea) foram mais tolerantes a salinidade na germinação do que na fase de plântulas (MELONI *et al.*, 2008). Isso indica que a maior e menor tolerância na germinação e fase de plântulas, respectivamente pode está relacionado com diferente sensibilidade dos tecidos ao estresse salino.

Neves *et al.* (2004) encontraram resultados semelhantes na produção de mudas de umbuzeiro (*Spodea tuberosa*) em concentrações de NaCl equivalentes aos potenciais de solutos de -0,08, -0,17, -0,27, -0,37 e -0,44 MPa. Santos (2010) trabalhando com sementes de *Moringa oleífera*, constatou expressiva redução na produção de massa seca das plântulas, em potenciais de solutos superiores a -0,22 MPa com NaCl, conferindo a essa espécie tolerância ao NaCl até o referido potencial osmótico. Farias (2008), trabalhando com sementes de *Gliricidia sepium* Jacq. Walp. constatou redução da massa seca das plântulas em cerca de 50% no potencial osmótico de -1,7 MPa. Moraes *et al.* (2005) observaram em plântulas de *Vigna unguiculata* (L) Valp. redução na massa seca decorrente da elevação dos níveis de NaCl.

Lin *et al* (2012) investigando a fisiologia dos estresses salino e alcalino em sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.), submetidas a concentrações de NaCl de 0, 100, 200, 300, 400 e 500 Mm, observaram severa influência negativa na germinação e no crescimento das plântulas, com pronunciadas reduções sobre a massa seca, comparando-se com o controle, sendo que, nas concentrações salinas mais elevadas (300, 400 e 500 mM) a germinação foi acentuadamente menor.

A inibição da mobilização de reservas dos cotilédones e sobre o crescimento do eixo embrionário causada por condições salinas, foi também observados por Marques (2009) em plântulas de cajueiro, em feijão-de-corda (GOMES-FILHO; PRISCO, 1978; PRISCO; ENÉAS-FILHO; GOMES-FILHO, 1981; GOMES-FILHO *et al.*, 1983). Conforme Lin, (2012), a redução no crescimento da plântula, imposta pelo estresse salino durante a germinação resulta, principalmente, da inibição na mobilização das reservas a partir dos cotilédones para o eixo embrionário em crescimento.

A explicação para a redução do crescimento das plântulas submetidas a níveis crescentes de NaCl em solução salina baseia-se no efeito osmótico, associado à toxidez de íons pela absorção excessiva de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) e de cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), no desequilíbrio nutricional, causado pelos distúrbios na absorção e/ou distribuição dos nutrientes e na restrição hídrica, imposta pelo sal, o que promove menor velocidade dos processos fisiológicos e bioquímicos e/ou dificuldades de hidrólise e mobilização das reservas dos cotilédones para o eixo embrionário (BEWLEY; BLACK, 1994; MUNNS, 2002; LACERDA 2005).

## 5. 6 Mobilização de reservas

Os dados referentes aos teores de lipídios das sementes quiescentes, e dos cotilédones das plântulas de copaíba submetidas a tratamentos com água destilada 0,0 MPa (controle) e com soluções de NaCl em diferentes potenciais de solutos, estão representados na Tabela 11. A mobilização lipídica teve início no ED 1, porém, não houve diferença estatística entre os tratamentos neste estágio de desenvolvimento. No ED 2, verifica-se que apenas o potencial de soluto de -1,0 MPa afetou significativamente a mobilização dos lipídios, quando comparado com o tratamento controle, no qual foram inibidos 3,0% de lipídios. No ED 3, observa-se uma inibição mais contundente na mobilização lipídica, uma vez que a partir do -0,6 MPa a inibição foi significativa em relação ao controle. Sendo 18,8, 42,9 e 44,5% nos potenciais de solutos de -0,6, -0,8 e -1,0 MPa, respectivamente.

Tabela 11 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de lipídios de cotilédones de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
ED1	391,0 Aa	388,8 Aa	383,4 Aa	383,0 Aa	386,0 Aa	385,6 Aa
ED2	283,8 Bb	281,2 Bb	286,2 ABb	285,4 ABb	286,4 ABb	292,4Ab
ED3	77,8 Dc	79,6 Dc	80,2 Dc	92,4 Cc	111,2 Bc	122,4 Ac

Teor de lipídios nas sementes quiescentes = 420 mg por grama de massa seca.

DMS: linha = 8,12, DMS: coluna = 9,94

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

Considerando-se a quantidade de lipídios nas sementes quiescentes (420 mg por grama de massa seca) e a mobilização lipídica nos potenciais de solutos extremos [controle (0,0) e -1,0 MPa], estima-se que no ED 2 a mobilização foi de 32,42% no controle e 30,38% no -1,0 MPa, já no ED 3, foram mobilizados no tratamento controle 81,47% de lipídios enquanto no potencial de soluto -1,0 MPa a mobilização foi de 70,85% dessa substância dos cotilédones para o eixo embrionário em desenvolvimento. As diferenças entre os dois potenciais de solutos extremos foram de 2,04% para o ED 2 e 10,62% no ED 3. Estes dados conferem que o aumento na concentração de NaCl afetou acentuadamente a mobilização lipídica nos cotilédones das plântulas de copaíba.

As sementes oleaginosas, como as de copaíba, possuem grandes quantidades de óleos armazenados nos cotilédones, para que ocorra a germinação, este material de reserva

precisa ser degradado para fornecer energia e estruturas carbonadas para desencadear os processos metabólicos e bioquímicos da germinação e para a construção de novas células. Os lipídios são degradados via  $\beta$ -oxidação, pelo ciclo de glicoxalato, a principal enzima envolvida no processo é a lipase que hidrolisa o óleo, convertendo-o em glicose e frutose. Krasensky e Jonak (2012) argumentam que os processos metabólicos de degradação dos lipídios podem ser altamente sensíveis a estresses, tais como, déficit hídrico, salinidade e outros. Contudo, os mesmos autores ressaltam que a menor ou maior sensibilidade a algum tipo de estresse depende da espécie e de interações adaptativas com o ambiente.

Tendo em vista que os lipídios compõem a principal fonte de reserva das sementes de copaíba (Figura 13), e que essas substâncias são efetivamente degradadas durante a germinação e início do desenvolvimento das plântulas, pode-se supor que a redução da produção de matéria seca pela plântula, ou seja, a inibição do crescimento do eixo embrionário, observada nesse trabalho atrela-se ao atraso na mobilização dos lipídios, devido a distúrbios na via de degradação desses compostos, promovidos pelo aumento na concentração de NaCl.

Trabalhando com sementes de jojoba (*Simmondsia chinensis*), Kayani, Naqvi e Ting (1990) observaram forte inibição na mobilização lipídica na medida em que foi aumentada a concentração de NaCl de 10 para 15  $\text{dSm}^{-1}$ . Segundo esses autores, o crescimento das plântulas de jojoba foi inversamente proporcional ao aumento da concentração de NaCl. Sebei *et al.* (2007), estudando a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas de linho (*Linum usitatissimum* L.) concluíram que concentrações de 100 e 200 mM de NaCl prejudicam fortemente a germinação e o crescimento das plântulas dessa espécie. Os autores atribuíram tais prejuízos aos efeitos osmótico e tóxico da salinidade na atividade das enzimas envolvidas nos processos de degradação dos lipídios, uma vez que houve retardo na mobilização desses compostos já nas primeiras horas após a semeadura, o que comprometeu a quebra dos lipídios e sua conversão em açúcares pela via gliconeogênica para o suprimento energético e carbônico do eixo embrionário.

Similares resultados sobre o retardo na mobilização de lipídios durante a germinação, com conseqüente comprometimento do crescimento das plântulas foram encontrados em milho (ASHRAF; WAHID, 2000), em girassol (ASHRAF; ZAFAR; ASHRAF, 2003), em cajueiro (VOIGT *et al.*, 2009; MARQUES, 2009, MARQUES *et al.*, 2011) e em *Salicornia pérsica* e *Salicornia europaea* ( AGHALEH *et al.*, 2011).

No geral, esses trabalhos, evidenciam que a inibição da germinação e do crescimento de plântulas de espécies oleaginosas induzidas pelo estresse salino está

estritamente relacionada com atraso na degradação e mobilização dos componentes de reserva contidos no cotilédones, principalmente lipídios.

Na Tabela 12 estão representados os dados referentes à concentração de amido nos cotilédones, parte aérea e raízes de plântulas de copaíba, submetidas estresse salino. As concentrações de NaCl não afetaram significativamente os teores de amido no ED 1, percebe-se que houve um aumento nos teores desta substância nos cotilédones das plântulas do ED 2 nos potenciais de solutos de 0,0 até -0,6 MPa, por outro lado, ocorreu o inverso nos cotilédones das plântulas tratadas com -0,8 e -1,0 MPa. Os menores teores de amido foram verificados nas plântulas do ED 3.

Tabela 12 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de amido em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Cotilédones						
ED1	56,0 Ab	55,8 Ab	53,2 Ab	52,4 Ab	51,3 Aa	50,7 Aa
ED2	65,8 Aa	65,1 Aa	64,9 Aa	63,3 Aa	45,9 Bb	34,4 Cb
ED3	18,8 Bb	19,3 Bc	16,8 BCc	19,2 Bc	22,7 Bc	25,7 Ac
Teor de amido das sementes quiescentes = 63,2 mg por grama de massa seca.						
DMS: linha = 3,50; DMS coluna = 5,41						
Parte aérea						
ED1	26,3 Ac	25,0 Ac	26,9 Ab	25,2 bA	25,6 bA	25,6 bA
ED2	34,0 Ab	32,4Ab	33,3 Ab	34,3 Ab	35,0 A	35,7 A
ED3	45,8 aA	42,3 ABa	41,3 Ba	40,8 Ba	27,3 Cb	23,4 Db
DMS:linha = 3,65, DMS: coluna = 4,47						
Raiz						
ED1	52,6 Aa	53,8 Aa	50,7Ab	53,3Aa	50,1 Aa	50,8Aa
ED2	55,2 Aa	57,3 Aa	58,1 Aa	57,3 Aa	55,8 Aa	51,5 Aa
ED3	54,9 Aa	55,7 Aa	57,4 Aa	57,4 Aa	22,37 Bb	20,3 Bb

DMS: linha = 4,42, DMS: coluna = 5,41

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

A concentração de amido na parte aérea das plântulas dos ED 3 aumentou consideravelmente em relação aos demais, sendo esse aumento, asintosamente inibido nos tratamentos de -0,8 e -1,0 MPa. A concentração de amido nas raízes não sofreu alteração nos ED 1 e ED 2, já no ED 3 a concentração foi reduzida em 59,25 e 63,02% nos potenciais de

solutos de NaCl -0,8 e -1,0 MPa, respectivamente, em comparação ao controle.

Comparando-se o ED 2 com o ED 1, observa-se um aumento na concentração de amido nos cotilédones de 17,50% no controle e 16,66, 22,0, e 20,8% nos potenciais de solutos de -0,2, -0,4 e -0,6 MPa respectivamente. Tal fenômeno pode não ser atribuído ao atraso na mobilização do amido, mas em função da degradação dos lipídios e sua conversão em polímeros de glicose pela atividade das enzimas envolvidas no processo, tais como fosforilase da ADP-glicose e sintase do amido (SMITH; DENYER; MARTIN, 1997). Através desses resultados sugere-se que os lipídios desempenham papel fundamental como substância de reserva no fornecimento de energia e substratos para o crescimento e desenvolvimento do eixo embrionário durante a germinação e desenvolvimento das plântulas de copaíba.

Trabalhando com sementes de cajueiro Voigt *et al.* (2009) e Marques (2009) observaram que a rápida mobilização de lipídios após a protrusão radicular coincidiu com o acúmulo transiente de amido nos cotilédones, indicando síntese de carboidrato a partir dos lipídios pela gliconeogênese. Resultados semelhantes foram encontrados por outros autores em outras espécies: pepineiro (CHAPMAN; GALLESCHI, 1985) e jojoba (KAYANI *et al.*, 1990).

A síntese de amido nos cotilédones de sementes oleaginosas durante a germinação pode ocorrer devido à demanda de carboidratos solúveis pelo eixo embrionário, o amido pode funcionar como um regulador desses açúcares, sendo sintetizado a partir dos lipídios, evitando a alta concentração de carboidratos, prevenindo as células de prováveis efeitos osmóticos, uma vez que pode haver saturação na capacidade de assimilação pelo eixo embrionário em crescimento (CHENEVARD; FROSSARD; LACOINT, 1994, GONELA *et al.*, 2004; GHAZIZADE, 2012). Nesse contexto, baseando-se na explicação desses autores, supõe-se que nas sementes de copaíba esse fenômeno possa ter ocorrido.

O aumento na concentração de amido na parte aérea das plântulas de copaíba no ED 3 pode não ter sido devido à mobilização dessa substância para o eixo embrionário e nem pela saturação de carboidratos solúveis resultante da degradação do amido, mas, pela atividade fotossintética, uma vez que nesse estágio, as plântulas apresentaram as primeiras folhas totalmente expandidas (Figura 5D). Similares achados foram constatados por Arbona *et al.* (2005) com plântulas de tangerina (*Citrus clementina* L.), os autores constataram incremento no conteúdo amiláceo na parte aérea e que foi coincidente com o aumento de clorofila nas folhas e atividade fotossintética.

A depleção na concentração de amido nas raízes das plântulas de copaíba no ED 3

nos potenciais de soluto -0,8 e -1,0 MPa é corroborante com os resultados de Arbona *et al.* (2005) em que esse autor, trabalhando com plântulas de tangerina NaCl-estressadas, 30 dias após a semeadura, encontraram níveis de amido muito baixos nas raízes. Tal fato pode ser atribuído a distúrbios na translocação de açúcares solúveis tais como sacarose a partir da fonte, estabelecendo uma correlação fonte-dreno negativa e/ou no metabolismo dos carboidratos (CHEESEMAN, 1988). Similares dados sobre depleção de amido em folhas e raízes em função do estresse salino foram encontrados por outros autores (GUCCI *et al.*, 1988; LLOYD; HOWIE, 1989; KEREPRESI; GALIBA; BANYAI, 1998; IGLESIAS *et al.*, 2002; FERGUSON; GRATAN, 2005; KHODADAD, 2011).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 13 observa-se que 90% dos açúcares solúveis (AS) das sementes quiescentes são compostos por açúcares não redutores (ANR) entre a semeadura e o ED 1 foram consumidos em média 57,91% dos AS pelas plântulas do tratamento controle, 54,63 pelas plântulas do NaCl -1,0 MPa. Isso pode ter sido em função do consumo dos ANR. Houve um aumento nos teores de AS entre o ED 1 e ED 2 em torno de 55,96% nas plântulas do controle e de 27,82% nas plântulas do NaCl-1,0 MPa, devido ao aumento dos açúcares redutores (AR) e não redutores. Entre o ED 2 e ED 3 os níveis de AR aumentaram, enquanto que, no mesmo período ocorreu o inverso com os teores de ANR.

O estresse salino alterou os teores de AS nos cotilédones das plântulas de copaíba. O acúmulo de AR foi gradativamente reduzido na medida em que o potencial de soluto foi ficando mais negativo em todos os EDs. Em relação aos ANR houve acúmulo significativo nas plântulas tratadas com -1,0MPa no ED 1 em comparação aos demais tratamentos. Entre o ED 1 e ED 2 os teores desses açúcares sofreram um ligeiro aumento, para o ED 3, o aumento na concentração de NaCl promoveu acúmulo dos ANR, sendo-o mais acentuado no NaCl -1,0 MPa o qual aumentou em 86,1% quando comparado com o controle.

Trabalhando com sementes de guapuruvu (*Schizolobium parayba*) - uma Leguminosae-Caesalpinoideae - Magalhães *et al.* (2009) verificaram que a sacarose e os oligossacarídeos da série rafínosica são os AS predominantes nos cotilédones dessa espécie e que foram rapidamente depreciados nos primeiros dias de germinação. A sacarose é o primeiro e principal oligossacarídeo utilizado pelas sementes durante a germinação para suprir o eixo embrionário em desenvolvimento (TAIZ; ZEIGER, 2009). Galão *et al.* (2007) constataram que a sacarose e a rafinose são os principais açúcares não redutores encontrados nos cotilédones e endosperma de sementes de *Prosopis juliflora*, constituindo maior fração dos açúcares solúveis. Os autores detectaram também uma expressiva queda na concentração de

carboidratos solúveis nas primeiras horas de germinação, e que tal fato teve forte correlação com a depleção dos teores de sacarose e refinose.

Tabela 13 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de açúcares solúveis (AS), não redutores (ANR) e redutores (AR) em cotilédones de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Açúcares solúveis						
ED1	109,0 Ab	110,5 Ab	108,4 Ab	107,8 Ac	108,0 Ab	117,5 Bb
ED2	170,0 Aa	170,7 Aa	168,8 Aa	165,1 Aa	160,6 Aa	150,2 Ba
ED3	115,9 Ab	114,2 Ab	115,5 Ab	116,8 Ab	113,6 Ab	114,2 Ab
Teor de açúcares solúveis nas sementes quiescentes = $259 \text{ mg g}^{-1}$ de massa seca DMS: linha 7,22, DMS: coluna = 8,55						
Açúcares redutores						
ED1	12,2 Ac	13,1 Ac	11,5 Ac	8,0 Bc	7,9 Bc	6,5 Bc
ED2	64,9 Ab	61,9 Ab	64,7 Ab	62,4 Bb	51,8 Db	44,9 Eb
ED3	85,7 Aa	78,5Bc	78,2 Ba	75,5 Ba	65,3 Ca	57,3 Da
DMS: linha = 3,22; DMS: coluna = 8,88						
Açúcares não redutores						
ED1	96,8 Bb	97,4 Bb	96,9 Bb	99,8 Ba	100,1Ba	111,0 Aa
ED2	108,8A a	108,3 Aa	105,1 Aa	102,7 Ba	101,8 Ba	99,3 Bb
ED3	30,2 Cc	35,7 Cc	37,3 Cc	41,3 BCc	48,3 Bb	56,9 Ac
DMS: linha = 8,12, DMS: coluna = 8,5						
Totais de açúcares solúveis nas sementes quiescentes em $\text{mg g}^{-1}$ de massa seca.						
Redutores		Não redutores			Total	
25,9		233,1			259	

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

Embora não se tenha conhecimento da proporção exata da sacarose e dos oligossacarídeos da série refinósica nas sementes de copaíba, pode ter ocorrido de forma parecida com os achados dos autores mencionados, haja vista, a grande proporção de ANR encontrada nessa espécie.

O aumento na proporção de AS (redutores e não redutores) nos cotilédones das plântulas de copaíba no ED 2 pode ter ocorrido em função da degradação dos lipídios, pois, entre ED 1 e ED 2 houve uma expressiva queda na concentração dessa substância nos cotilédones (Tabela 8). A degradação dos AR também pode ter contribuído para o aumento dos teores de AR nos cotilédones. Dantas *et al.* (2008b), trabalhando com sementes de

baraúna (*Schinopsis brasiliense*) observaram aumento nos teores de AS durante todo o processo germinativo e redução nos teores de amido nas primeiras horas de embebição.

Em referência a modificações no comportamento metabólico durante a germinação, em geral há na literatura conflitantes resultados em relação às sementes. No início da germinação, sementes de *Apuleia leiocarpa* apresentaram aumento dos teores de manose, arabinose e glicose (açúcares redutores) no tegumento e no embrião e de amido nos cotilédones (PONTES *et al.*, 2002), sementes de *protium Widgrenii* mantiveram o teor de AR constantes (SEIFFERT, 2002), enquanto que o teor de carboidratos redutores em sementes de *Caesalpinia pyramidalis* apresentaram grande variações e diminuição no teor de amido (DANTAS *et al.*, 2008a).

Como já enfatizado, houve um acúmulo progressivo de ANR nos cotilédones das plântulas no ED 3 na proporção em que a salinidade aumentou, o mesmo ocorreu com os teores de lipídios e de amido (Tabela 11 e Tabela 12, respectivamente), sendo que, para o amido, o acúmulo ocorreu apenas nas plântulas tratadas com -1,0 MPa, portanto, a salinidade inibiu a mobilização de lipídios e de amido nesse ED. Assim, o acúmulo de ANR proporcionalmente ao aumento da salinidade não é condizendo com o ocorrido com lipídios e com o amido. Neste contexto, o acúmulo de ANR, pode ter ocorrido em função da inibição na mobilização desses açúcares para o eixo embrionário, promovida pelo NaCl.

Corroborantes resultados foram constatados em sementes de cajueiro (VOIGT *et al.*, 2008; MARQUES, 2009) e de trigo (LIN, 2012), em que os autores constataram considerável aumento nos teores de açúcares não redutores na fase de estabelecimento das plântulas, sendo proporcional ao incremento da concentração de NaCl no meio.

Na Tabela 14 estão expressos os dados referentes aos teores AS, AR e ANR na parte aérea de plântulas de copaíba em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a condições de salinidade.

Os açúcares solúveis aumentaram consideravelmente durante o desenvolvimento das plântulas, sendo esse aumento mais expressivo no ED 3, tanto para os AR como para os ANR, entre ED 1 e ED 2, ED1 e ED 3 e ED 2 e ED 3, o aumento médio foi de 0,7 2,6 e 11,1 vezes, respectivamente. Entre ED 1 e ED 2 não houve alteração significativa nos níveis de AR nem para o controle e nem para o estresse salino, enquanto que entre o ED 2 e ED 3 houve um aumento médio de 3,9 vezes nos teores desses açúcares. Em respeito à concentração de ANR o comportamento diferiu daquele em relação aos AR, os ANR aumentaram significativamente entre o ED 1 e ED 2 entre o ED 1 e ED 3 e entre o ED 2 e ED 3, no caso dos AR o aumento

nos teores desses açúcares ocorreu apenas entre ED 2 e ED 3. O NaCl, em níveis de concentração mais elevados reduziu significativamente os teores de AR (ED 3) e ANR (ED 2 e ED 3).

Tabela 14 - Valores médios em  $\text{mgg}^{-1}$  de massa seca dos teores de açúcares solúveis (AS), redutores (AR) e não redutores (ANR) na parte aérea de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	0,8	-1,0
Açúcares solúveis						
ED1	10,1 Ac	9,4 Ac	9,0 Ac	10,3 Ac	9,0 Ab	9,1 Ab
ED2	18,5 Ab	17,3 Ab	16,8 Ab	17,7 Ab	14,9 ABb	10,0 Bb
ED3	37,8 ABa	37,2 ABa	39,5 Aa	32,8 Ba	29,2 Ba	25,9 Ba
DMS: linha = 6,22, DMS: coluna = 7,55						
Açúcares redutores						
ED1	2,5 Ab	2,7 Ab	2,8 Ab	3,1 Ab	2,9 Ab	1,8 Ab
ED2	2,8 Ab	2,6 Ab	2,7 Ab	3,1 Ab	2,3 Ab	2,0 Ab
ED3	16,3 Aa	16,6 Aa	16,4 Aa	15,9 ACa	14,9 Ca	12,6 Da
DMS: linha = 2,08, DMS: coluna = 3,88						
Açúcares não redutores						
ED1	7,6 Ac	6,7 Ac	6,2 Ac	7,2 Ab	6,1 Ab	7,3 Ab
ED2	15,7 Ab	14,7 ABb	14,1 ABb	14,6 ABa	12,6 Ba	8,0 Cb
ED3	21,5 Aa	25,6 Aa	23,1 Ba	16,9 Ba	12,6 Ba	13,3 Ba
DMS: linha = 3,12, DMS: coluna = 5,24						

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

Os teores e as variações de AS nas raízes (Tabela 15) foram similares aos da parte aérea (Tabela 14), no entanto, nos ED 2 e 3, as raízes apresentaram uma média de 1,5 e 3,3 vezes AS respectivamente em comparação a PA. Os teores de AS foi reduzido significativamente proporcionalmente ao aumento da salinidade, sendo mais expressiva essa redução nas plantas do NaCl -1,0 MPa, 45,5 e 61,7% nos ED 2 e ED 3 respectivamente, quando comparados com o controle. Os AR foram mais acentuadamente afetados pelo aumento na concentração de NaCl e sofreram maior redução dos seus teores em comparação aos ARN.

As variações ocorrentes nos teores de AS na parte aérea (Tabela 14) e raízes (Tabela 12) de plântulas de copaíba durante a germinação e desenvolvimento inicial, coincidem com o ocorrido nos cotilédones (Tabela 13), o incremento dos AS entre o

ED 1 e ED 3 foi concomitante com o acréscimo na massa seca do eixo embrionário (Parte aérea e raiz). A hidrólise de amido e principalmente dos lipídios deve ter sido responsável pelo acréscimo de açúcares solúveis no eixo embrionário, a produção de sacarose, e de oligossacarídeos da série rafínosica a partir da quebra dos lipídios pode ter contribuído em suma para o aumento nos teores de ANR e a degradação da sacarose em seus constituintes (frutose e glicose) deve ter influenciado o aumento dos AR.

Tabela 15 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de açúcares solúveis (AS), redutores (AR) e não redutores (ARN) em raízes de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi_s$ em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Açúcares solúveis						
ED1	10,4 Ac	10,4 Ac	11,1 Ac	9,6 Ac	9,0 Ac	9,0 Ac
ED2	45,5 ABb	49,8 Ab	44,5 ABb	43,5 Bb	34,6 Cb	24,8 Db
ED3	206,7 Aa	186,5 Ba	167,1 Ca	126,8 Da	108,8 Ea	79,2 Fa
DMS: linha = 4,22, DMS: coluna = 11,55						
Açúcares redutores						
ED1	5,0 Ac	5,9 Ac	6,9 Ac	5,2 Ac	5,1 Ab	5,3 Ab
ED2	21,5 Ab	22,9 Ab	21,6 Ab	21,5 Ab	9,3 Bb	5,1 Cb
ED3	140,0A a	120,8 Ba	99,8 Ca	58,3Db	54,2 Ea	38,6 Fa
DMS: linha = 10,50, DMS: coluna = 13,88						
Açúcares não redutores						
ED1	5,4 Ac	4,5 Ac	4,2 Ac	4,4,0 Ac	3,9 Ac	3,7 Ac
ED2	24,0 Ab	26,9 Ab	22,8ABb	22,0ABb	25,3 Ab	19,7 Bb
ED3	66,7 Aa	65,7 Aa	67,3 Aa	68,5 Aa	54,6 Ba	40,6 Ca
DMS: linha = 4,12, DMS: coluna = 5,15						

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

Como visto na Figura 5, as plântulas do ED 3 apresentaram folhas primárias totalmente expandidas, sob as condições de fotoperíodo aplicadas durante os ensaios deste trabalho (12:12h) pode se argumentar que parte dos AS no eixo embrionário (parte aérea e raízes) das plântulas de copaíba foram provenientes da atividade fotossintética, o que contribuiu para o aumento dos níveis de AS, AR e ANR nesse órgãos.

A diminuição dos teores AS na parte aérea e nas raízes de plântulas de copaíba ocasionada pelo acréscimo na concentração de NaCl, pode ter sido reflexo do atraso da mobilização dos produtos da degradação dos lipídios e/ou amido nos cotilédones (Tabelas 11

e 12, respectivamente) para o eixo embrionário, em virtude dos potenciais de solutos mais negativos, visto que o crescimento das plântulas estudadas sofreu efeito negativo dentro das condições aplicadas.

Em relação ao aumento no acúmulo de AS no eixo embrionários no ED 3 nas plântulas estudadas, Flowers *et al.* (1977) salientam que acréscimos no acúmulo de açúcares solúveis tem sido reportados em muitas espécies expostas à salinidade. O aumento no *pool* de glicose induzido pela salinidade parece ser devido a redução na demanda por carbono por parte do eixo embrionário (STOOP; PHARR, 1994). Durante a germinação, em sementes de *Populus tremula* em condições salinas, Evers *et al.* (1997) observaram forte aumento nos teores de glicose e frutose e declínio nos teores de sacarose. Em folhas de plântulas de oliveira (*Olea europaea* L.) Jonak, (2012) sugeriram que o incremento de manitol e de glicose desempenha uma função osmótica ativa adaptativa em resposta a salinidade em plantas.

Acredita-se, segundo vários autores, que sob estresse salino, o acúmulo de açúcares, juntamente com solutos compatíveis contribuem para um ajustamento osmótico e que podem ser uma importante resposta à salinidade, e conforme o padrão de resposta, a planta pode se comportar como sensível ou tolerante ao estresse induzido por NaCl (JENKS; HASEGWA, 2005, ALMEIDA *et al.* 2010; KHODADAD, 2011; KRASENSKY; JONAK, 2012; LIN *et al.*, 2012).

Observa-se na Tabela 16 que no ED 1 os teores de proteínas foram superiores, quando comparados com os das sementes quiescentes (ED 0), um incremento médio de 2,63%, seguida de uma intensa mobilização durante a germinação e estabelecimento das plântulas. Nos cotilédones, as variações nos teores de proteínas em função do aumento de NaCl foram pequenas e ocorreram apenas no ED 2, com uma ligeira redução a partir do NaCl -0,6 MPa, mais acentuada no NaCl -1,0 MPa, com 37,97% a menos, em comparação com o controle. Na parte aérea e nas raízes, as variações dos teores proteicos foram maiores entre os EDs do que dentro de um mesmo ED, houve um aumento progressivo durante a germinação e o estabelecimento das plântulas. Contudo, os teores de proteínas foram influenciados negativamente pelo aumento na concentração de NaCl com maior expressão nas plântulas tratadas com NaCl -1,0 MPa, tanto para parte aérea como para raízes.

A mobilização proteica dos cotilédones para o eixo embrionário ocorreu de maneira semelhante ao ocorrido com a mobilização lipídica (Tabela 11), no ED 3, os teores proteicos nos cotilédones representaram em média, 18,62% do total contido nas sementes quiescentes (ED 0), indicando que a mobilização proteica ainda estava ocorrendo. Quanto ao

acréscimo nos teores proteicos entre ED 0 e ED 1 pode ter sido devido ao acionamento dos processos desencadeadores da respiração, ocasionado pela entrada de água na semente (GAMA, *et al.*, 2011; MELO *et al* 2011).

Tabela 16 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de proteínas totais em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Cotilédones						
ED1	224,1 Aa	225,4 Aa	226,1 Aa	230,0 Aa	224,4Aa	226,6 Aa
ED2	156,1 Ab	145,0A b	146,3 ABa	141,5 Bb	139,6 Bb	96,8 Cb
ED3	37,5 Ac	37,8 Ac	36,3 Ac	45,7 Ac	43,9 Ac	45,0 Ac
Teor de proteínas nas sementes quiescentes = $220,3 \text{ mg g}^{-1}$ de massa seca. DMS: linha = 11,91; DMS: coluna = 14,58						
Parte aérea						
ED1	105,5 Ac	105,7 Ac	108,2 Ac	93,5 Bb	90,2 Bb	88,0 Ba
ED2	120,1Ab	127,7 Ab	129,3 Ab	110,4 Ba	104,0 Bb	91,0 Ca
ED3	139,1 Aa	139,9 Aa	139,2 Aa	110,0 Ba	72,4 Cc	72,5 Cb
DMS: linha = 9,07; DMS: coluna = 11,10.						
Raiz						
ED1	62,9 ABb	90,9 b Ab	96,4 Ac	48,9 Bc	44,6 Bc	44,5 Bc
ED2	119,0 Ab	112,3 Ab	103,4 Ac	105,2 Ac	99,3 Ac	87,7 Ac
ED3	277,4 Aa	252,1ABa	243,0 ABCa	222,8 BCa	214,8 aBC	196,8 aC
DMS: linha = 38,62, DMS: coluna = 47,26						

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

A embebição é o primeiro evento ocorrente para que a semente germine, com a entrada de água tem início a hidratação dos tecidos, absorção de oxigênio, intensificação da respiração e síntese de enzimas (NIZAM, 2011; SCHWENGBER; SMIDERLE, 2011; KRASENSKY; JONAK, 2012).

Antes da germinação, a semente se encontra em estado de repouso, a taxa respiratória e a necessidade de proteínas ativas são bastante reduzidas (POPINIGIS, 1985; LARCHER, 2003). Com a hidratação tem início a atividade hidrolítica, proporcionada por enzimas sintetizadas durante a maturação da semente, ocorre síntese “*de novo*” de hidrolases a qual envolve atuação do mecanismo de síntese de proteinases, concomitante à recuperação do

metabolismo oxidativo, processos sincronizados e ativados durante a embebição. Assim, há um pequeno aumento nos teores proteicos nos cotilédones ou no endosperma em função da demanda energética e estrutural pelos processos iniciadores da germinação (AFFENZELLE *et al.* 2009; HAIDE *et al.* 2012; BLOOM *et al.*, 2012 ).

Pontes *et al.*, (2002) e Seifert (2000), estudando sementes de *Apuleia leiocarpa* e *protium vidgrenni* respectivamente, quantificaram as proteínas totais e constataram que ocorre aumento nos teores proteicos durante o processo de embebição devido à indução da biossíntese de enzimas hidrolíticas.

Observa-se na Tabela 17 que houve um acúmulo significativo de aminoácidos livres nos cotilédones das plântulas dos ED 2 e ED 3 em NaCl -1,0 MPa (Tabela 14), isso pode ter sido reflexo da inibição da mobilização de proteínas ou da síntese proteica nesses órgãos, ocasionadas por desequilíbrios bioquímico e metabólico, excesso de oxidantes e outros (ORTEGA-GALISTEO *et al.*, 2012).

Tabela 17 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de aminoácidos em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Cotilédones						
ED1	10,5 Ab	10,4 Ab	10,0 Ab	9,7 Ab	6,9 Bc	5,1 Cc
ED2	15,0 Ba	14,6 Ba	15,6 Ba	15,4 Ba	14,8 Ba	18,7 Ab
ED3	5,8 Cc	6,6 Cc	7,0 Cc	6,2 Cc	10,1 Bb	15,7 Aa
DMS: linha = 1,0, DMS: coluna = 1,21						
Parte aérea						
ED1	3,0 Ac	3,4 Ac	3,3 Ac	3,3 Ac	2,6 Ac	2,6 Ac
ED2	16,5 Ab	17,1 Ab	17,3 Ab	17,4 Ab	13,2 Bb	12,9 Bb
ED3	30,2 Aa	29,7 Aa	27,3 Ba	23,6 Ca	21,3 Da	18,3 Ea
DMS: linha = 1,01, DMS: coluna = 1,27						
Raiz						
ED1	5,3 Ac	5,2 Ac	5,4 Ac	5,4 Ac	5,8 Ac	5,9 Ac
ED2	13,2 Cb	13,6 Cb	13,8 BCb	14,1 BCb	15,1 Bb	16,9 Ab
ED3	20,0 Ca	21,7 Ba	27,4 Aa	27,9 Aa	28,4 Aa	20,1 Ba
DMS: linha = 1,45, DMS: coluna = 1,78						

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

Os teores de aminoácidos livres no eixo embrionário sofreram significativo acréscimo ao longo da germinação e estabelecimento das plântulas de copaíba, os maiores aumentos ocorreram nas plântulas do ED 3. Esse aumento nos teores de aminoácidos livres no eixo embrionário foi concomitante com a intensa mobilização de reservas nos cotilédones, e com o aumento na massa seca das plântulas no ED 3 (Tabela 10) esse acréscimo pode ter ocorrido em função da demanda desses compostos pelo eixo embrionário.

Por outro lado, o aumento do NaCl causou redução nos teores de aminoácidos livres nas plântulas do ED 3, principalmente nas tratadas com NaCl -1,0 MPa, tal fato, pode ter sido em função da inibição da mobilização proteica a partir dos cotilédones. Diante dessas evidências, pode-se supor que o NaCl influenciou negativamente na mobilização de reservas tanto nos cotilédones como no eixo embrionário de plântulas de copaíba.

O acúmulo de aminoácidos tem sido observado em muitos estudos sobre plantas expostas a estresses abióticos (PRISCO; ENÉAS-FILHO; GOMES-FILHO, 1981; RHODES; FOUGERE *et al.*, 1991;. KAPLAN; GUY., 2004; BROSCHE *et al.*, 2005;. ZUTHER *et al.*, 2007;. VOIGT *et al.*, 2008 KEMPA *et al.*, 2007;. SANCHEZ *et al.*, 2008;. USADEL *et al.*, 2008.; LUGAN *et al.*, 2010). Esses autores enfatizam que tal aumento pode ser resultante da produção de aminoácidos e/ou de reforço induzido pelo estresse na degradação de proteínas. Widodo *et al.*, 2009 argumentam que o acúmulo total de aminoácidos sob estresse salino pode ocasionar danos celulares em algumas espécies.

Efeitos inibitórios na mobilização proteica durante a germinação e estabelecimento de plântulas tem sido reportado por muitos autores, Voigt *et al.* (2008) e Marques (2009) verificaram em sementes de cajueiro que o aumento na concentração de NaCl comprometeu consideravelmente a mobilização e a hidrólise proteica durante a germinação e o estabelecimento das plântulas.

Por outro lado, Krasensky e Jonak, (2012), salientam que aumento dos níveis de aminoácidos específicos pode ter um efeito benéfico durante a germinação e o desenvolvimento inicial de plântulas, propiciando em algumas espécies aclimação ao estresse. Neste contexto, os efeitos do NaCl no comportamento de sementes e plântulas durante a germinação e o crescimento inicial tem oferecidos resultados conflitantes na literatura. Aghaleh *et al.* (2009) não constataram mudanças significativas nos teores de proteínas durante a germinação de sementes de *Salicornia pérsica* e de *salicornia europaea* segundo esses autores, essas espécies se comportaram de maneira semelhante a espécies halófitas quando submetidas a estresse salino. Resultados dessa natureza também foram

relatados por Munoz *et al.* (1997), em trigo (ELSHINTINAWY; ELSHOURBAGY, 2001) e em espécies do gênero *Salicornia* (NIKNAM *et al.*, 2006).

Na Tabela 18 observa-se que os teores de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) nos cotilédones, parte aérea e raízes sofreram alterações significativas durante a germinação e desenvolvimento inicial das plântulas em função do aumento da concentração de NaCl.

Tabela 18 - Valores médios em  $\text{mg g}^{-1}$  de massa seca dos teores de íons sódio ( $\text{Na}^+$ ) em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Cotilédones						
ED1	1,7 Ca	1,6 Cb	2,7 BCb	3,8 Bc	5,4 Ac	5,9 Ab
ED2	1,7 Da	2,1 Db	6,2 Ca	6,8 Cb	11,0 Bb	16,9 Aa
ED3	1,0 Fa	5,6 Ea	7,5 Da	10,5 Ca	15,2 Ba	16,9 Aa
DMS: linha = 1,4, DMS: coluna = 1,7						
Parte aérea						
ED1	0,6 Ea	4,2 Da	6,5 Ca	8,3 Ba	9,2 Aa	9,43 Aa
ED2	0,4 Ea	0,9 Ec	1,8 Dc	2,6 Cc	4,8 Bb	9,8 Aa
ED3	0,3 Ea	2,2 Db	4,2 Cb	6,3 Bb	8,8 Aa	8,5 Ab
DMS: linha = 0,5, DMS: coluna = 0,7						
Raiz						
ED1	2,7 Fa	6,8 Ea	9,0 Da	13,8 Cb	15,4 Ba	19,0 Aa
ED2	2,0 Fa	4,2 Eb	6,4 Db	8,3 Cb	10,2 Bc	18,2 Aa
ED3	2,5 Fa	4,7 Eb	6,6 Db	8,8 Cb	11,5 Bb	19,1 Aa
DMS: linha = 1,2, DMS: coluna = 1,4						

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

Nos cotilédones, o acréscimo de  $\text{Na}^+$  foi mais pronunciado no NaCl -1,0 MPa, nesse potencial de soluto, os acréscimos médios foram 2,5, 9,9, e 15 vezes nos ED 1, ED 2 e ED 3 respectivamente, quando comparados com o controle. Na parte aérea os acréscimos médios foram 14,7, 23,5 e 27,3 vezes em comparação com o controle e nas raízes houve aumento médio de 7,0, 9,1 e 7,6 vezes em comparação com o controle.

Verifica-se na Tabela 19 que para íons potássio ( $\text{K}^+$ ) e em relação ao aumento do NaCl, nos Ed 1 e ED 2, apesar de haver diferenças significativas entre os tratamentos, as variações nos teores desses íons foram pequenas, considerando-se o valor da DMS (0,3) no ED 3, e entre os EDs, as variações foram mais acentuadas quanto aos demais. O aumento do NaCl reduziu significativamente os teores de  $\text{K}^+$  nos cotilédones, principalmente no ED 3. Na parte

a aérea e nas raízes os teores de  $K^+$  foram significativamente reduzidos ao longo do desenvolvimento das plântulas, com maior ênfase entre ED 2 ED 3. No que diz respeito aos íons cloreto ( $Cl^-$ ), constata-se na Tabela 20 que o comportamento das plântulas de copaíba em relação aos teores desses íons foi semelhante ao que ocorreu com o verificado em relação aos íons  $Na^+$  (Tabela 18).

Tabela 19 -Valores médios em  $mg\ g^{-1}$  de massa seca dos teores de íons potássio ( $K^+$ ) em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi\pi$ em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	-0,8	-1,0
Cotilédones						
ED1	3,0 Ca	3,6 Ba	3,2 Ca	3,2 Ca	3,5 BCa	4,0 Aa
ED2	2,9 Da	3,2 CDb	3,7 ABa	3,4 Ba	3,8 Aa	2,1 Eb
ED3	2,2A B	2,4A c	2,4 Ac	1,7 Bb	1,0 Cb	1,0 Cb
DMS: linha = 0,3, DMS: coluna = 0,5						
Parte aérea						
ED1	18,4Da	21,9 Ca	22,2 Ca	23,2 Ba	26,01 Aa	26,7 Aa
ED2	5,1 Bb	5,1 Bb	5,1 Bc	5,3 Bc	6,6 Ab	2,2 Cc
ED3	5,14 Cb	5,1 Cb	6,6 ABa	7,2 Ab	6,6 ABb	6,7 ABb
DMS: linha = 1,4, DMS: coluna = 0,46						
Raiz						
ED1	9,7 Ba	10,6 ABa	6,9 Ca	9,5 Ba	11,4 Aa	7,5 Ca
ED2	8,1 Ab	7,3 ABb	6,9 BCa	7,0 ABb	6,0 Cb	2,1 Dc
ED3	3,2 ABc	3,4 ABc	2,4 Cb	2,1 Cc	1,9 Cc	1,1 Ab
DMS: linha = 0,96, DMS: coluna = 1,11						

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

Nos cotilédones, comparando-se o controle com o tratamento NaCl -1,0 MPa dentro do mesmo ED, constata-se que os teores de  $Cl^-$  aumentaram 2,4, 8,5 e 10,6 vezes para os ED 1, ED 2 e ED 3 respectivamente. Entre ED 1 e ED 2 houve um acréscimo de 1,2 vezes e de aproximadamente 100% entre o ED 2 e ED 3. No eixo embrionário os aumentos foram proporcionais ao acréscimo na concentração de NaCl no meio. Sendo que nas raízes, o acréscimo de íons  $Cl^-$  foi maior em comparação com a parte aérea. Estes resultados contrastam com os de Ashrat e Orooj (2006), esses autores verificaram em plântulas de trigo, maiores teores de  $Cl^-$  na parte aérea comparando-se com as raízes.

Os aumentos nos níveis de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> nas plântulas de copaíba mediante o aumento da concentração de NaCl estabelecem uma correlação com a inibição na mobilização lipídica e amilácea e com a redução da massa seca. Neste sentido, argumenta-se que o acréscimo de NaCl no meio de cultivo proporcionou um efeito tóxico no desenvolvimento desde a germinação até o final dos ensaios.

Tabela 20 - Valores médios em miligrama por grama de massa seca dos teores de íons cloreto (Cl<sup>-</sup>) em cotilédones, parte aérea e raiz de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

ED	Tratamentos ( $\Psi$ s em MPa)					
	0,0	-0,2	-0,4	-0,6	0,8	-1,0
Cotilédones						
ED1	3,1 Fb	5,7 Eb	7,5 Dc	8,7 Cc	9,3 Bc	10,4 Ac
ED2	2,7 Ea	5,2 Ec	10,3 Db	12,3 Ca	15,3 Ba	23,0 Aa
ED3	1,0 Cc	11,0 Ba	11,3 ABa	11,1 Bb	11,6 Ab	11,6 Ab
DMS: linha = 0,4, DMS: coluna = 0,4						
Parte aérea						
ED1	6,2 Ca	6,6 Cb	6,8 Cc	8,6 Bc	9,5 Ac	9,8 Ac
ED2	6,2 Ea	11,9 Da	15,5 Ca	15,2 Ca	18,7 Ba	22,7 Aa
ED3	4,4 Fb	6,6 Eb	8,1 Db	10,8 Cb	13,8 Bb	14,8 Ab
DMS: linha = 0,7, DMS: coluna = 0,9						
Raiz						
ED1	10,6 Ea	15,2 Da	16,6 Cb	18,8 Bb	18,1 Bc	23,1 Ac
ED2	4,9 Eb	14,8 Da	23,0 Ca	24,0 Cb	27,2 Ba	30,3 Aa
ED3	4,9 Eb	14,5 Ca	16,6 Cb	17,2 Cb	20,6 Bb	25,6 Ab
DMS: linha = 1,0, 1DMS: coluna = 1,27						

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

Estes resultados corroboram com contribuições na literatura sobre os efeitos tóxico e osmótico na germinação e desenvolvimento inicial das plantas. Altas concentrações de NaCl no apoplasto geram efeitos primários e secundários que geralmente influenciam negativamente na sobrevivência, crescimento e desenvolvimento vegetal (FLOWERS, 2004), os efeitos primários são toxicidade iônica e desequilíbrio osmótico.

Tanto o Na<sup>+</sup> como o Cl<sup>-</sup> em altas concentrações são inibidores dos processos citosólicos e organelares (PETRIDIS *et al.*, 2012). Concentrações acima de 0,4 M inibem principalmente as enzimas, devido distúrbios no balanço hidrofóbico-eletrostático, necessários para manter as estruturas proteicas (GHAZIZADE; GOLKAR; SALEHINEJAD,

2012). Concentrações de 0,1 M de  $\text{Na}^+$  são citotóxicas indicando que o íon afeta diretamente processos bioquímicos e fisiológicos específicos (ORSINI *et al.*, 2012). Altas concentrações de sal impõe choque hiperosmótico baixando o potencial hídrico celular, causando redução do turgor ou restringindo a expansão da célula (MUNNS; 2002; HASEGAWA *et al.*, 2000; ZHU, 2002).

Os principais efeitos secundários do estresse induzido por NaCl são distúrbios na aquisição de  $\text{K}^+$ , disfunção membranar, comprometimento nos transportes de fotossintatos, geração de espécies reativas de oxigênio (EROS) e morte celular programada (RODRIGUEZ-NAVARRO, 2000; ZHU, 2003; GIMENO, 2012).

O  $\text{K}^+$  é um elemento essencial para as plantas e o  $\text{Na}^+$  compete com ele na absorção celular, particularmente quando as concentrações extracelulares são muito grandes (FOOLAD *et al.*, 2001).

Como já mencionado, o aumento do NaCl induziu a redução de  $\text{K}^+$ , tanto nos cotilédones quanto no eixo embrionário (Tabela 19), o que pode ter contribuído na inibição da mobilização de reservas e do crescimento das plantas de copaíba. Li *et al.* (2010) trabalhando com sementes de alfafa (*Medicago sativa* L.) em concentrações de 30, 60, 90, 120 e 150 mmol de NaCl constataram reduções significativas nos teores de  $\text{K}^+$  em função do aumento da concentração salina, indicando uma competição que inibiu o influxo de  $\text{K}^+$  nos tecidos das plântulas. James *et al.* (2006), sustentam que baixos níveis de  $\text{Na}^+$  e altas concentrações de  $\text{K}^+$  no citoplasma são essenciais para a manutenção de vários processos enzimáticos, pois o  $\text{K}^+$  desempenha papel chave em vários processos fisiológicos, tais como osmorregulação, síntese proteica e ativação enzimática. Os autores ressaltam também que a substituição do  $\text{K}^+$  por  $\text{Na}^+$  pode levar a um desbalanço nutricional e desequilíbrio de várias funções fisiológicas imprescindíveis para o mecanismo celular.

As altas concentrações de NaCl nos tecidos do eixo embrionário das plântulas de copaíba podem ter induzido a redução da massa seca, como foi constatado neste trabalho. Datta, *et al.* (2009) encontraram resultados similares em plântulas de trigo, em que a redução do desenvolvimento do eixo embrionário pode ter sido causado pelas altas concentrações de NaCl no meio.

Sobre aumentos dos teores de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e redução nos níveis de  $\text{K}^+$ , nos tecidos de cotilédones e no eixo embrionário, bem como os decorrentes nocivos efeitos sobre a germinação, crescimento e desenvolvimento de plântulas, destacam-se na literatura os trabalhos de Hussain *et al.* (2009) em semente de *Nigella sativa* L., Aghaleh *et al.* (2011) com

sementes de *Salicornia*, Siddiqui; Mohammad e Khan, (2009), em sementes de cajueiro (MARQUES *et al.*, 2011), além de outros.

Manter a homeostase celular da razão  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  é de fundamental importância para a sobrevivência das plantas em ambiente salino. Contudo, os estudos sobre a manutenção equilíbrio homeostático em plantas cultivadas e, principalmente em espécies não domesticadas são incipientes (MA *et al.*, 2012)

## 5.5 Atividades enzimáticas

### 5.5.1 Enzimas do metabolismo dos lipídios

As análises das atividades enzimáticas nas sementes e plântulas de copaíba submetidas a estresse salino foram feitas nos cotilédones das sementes quiescentes (ED 0) e das plântulas nos ED 1 e ED 2. Os Potenciais de solutos foram 0,0 MPa (controle), soluções de NaCl -0,4 e -0,8 MPa.

O resumo da análise de variância das atividades enzimáticas está representado na Tabela 21. Observa-se que houve diferenças estatísticas entre os tratamentos, entre os EDs e para interação Tratamento x ED.

Os dados sobre as atividades enzimáticas, total (AT) e específica (AE), da lipase, liase do isocitrato e sintase do malato estão representados na Figura 14A e 14B, 14C e 14D, e 14E e 14F, respectivamente. A atividade total da lipase foi mais intensa no ED 1 e não sofreu alteração em virtude do aumento na salinidade, no ED 2, a atividade total e específica dessa enzima foi fortemente inibida pelo aumento na concentração de NaCl. Entre o ED 0 e o ED 1 a atividade lipásica aumentou em 1,45 vezes em média. No ED 2, a salinidade reduziu a atividade lipásica em 43%, e 68% para NaCl -0,4 e -0,8 MPa, respectivamente.

Resultados similares foram verificados por Marques (2009) trabalhando com sementes de cajueiro, em que o autor observou notável redução nas atividades lipásicas em concentrações de NaCl iguais a  $18 \text{ dSm}^{-1}$ , quando comparados com a testemunha. Ainda segundo o mesmo autor, a inibição nas atividades da lipase causada pelo estresse salino foi correlata com a redução da mobilização dos lipídios a partir dos cotilédones para o eixo embrionário. Efeitos danosos na síntese “*de novo*” da enzima podem ter ocorrido durante a germinação e desenvolvimento das plântulas crescidas sob estresse salino, sendo esse um fator responsável por interferências negativas na atividade enzimática. Neste sentido, a inibição das atividades da lipase nos cotilédones das plântulas de copaíba talvez tenha ocorrido devido a sintomas parecidos.

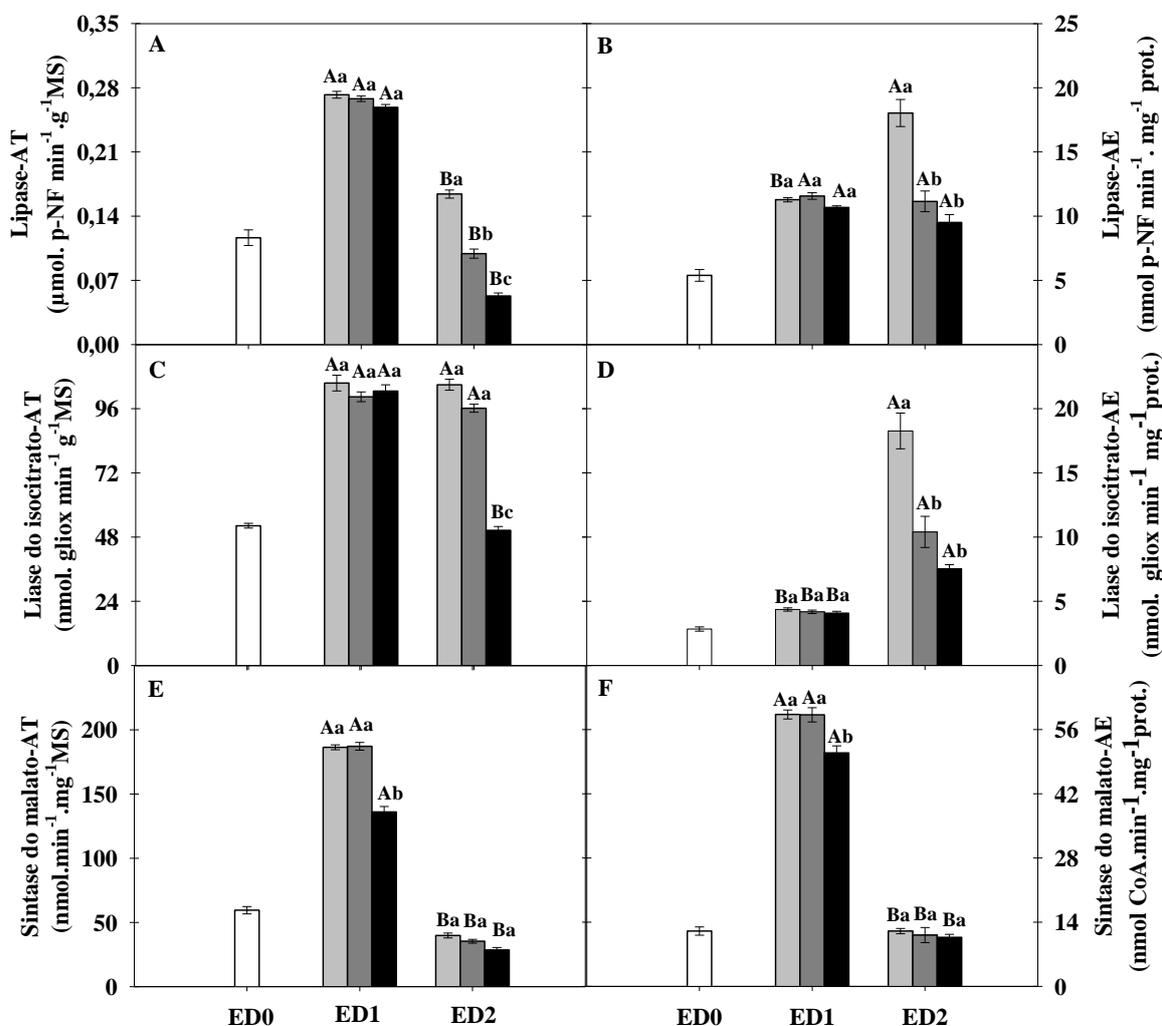
As atividades total e específica da liase do isocitrato (ICL) não foram afetadas pela salinidade (Figura 14 D) no ED 1, no ED 2, o NaCl -0,8 MPa inibiu a atividade total da ICl em 62% comparando-se com o mesmo nível de sal no ED 1, em relação ao controle no mesmo ED. A atividade específica da ICL no ED 2 foi afetada significativamente pelo aumento da salinidade, com reduções de cerca de 38 e 55% nos potenciais de soluto de -0,4 E -0,8 MPa, respectivamente (Figura 14C).

Tabela 21 - Resumo da análise de variância referente aos valores médios das atividades enzimáticas, Total (AT) e específica (AE) das enzimas do metabolismo dos lipídios: Lipase (LP) liase do isocitrato (LIC) e sintase do malato (SM) e do metabolismo do amido: alfa e beta amilases ( $\alpha$  e  $\beta$ -AM) e fosforilase do amido (FA) em cotilédones de sementes e plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) em diferentes estádios de desenvolvimento (ED) e submetidas a estresse salino

Fonte de variação	G.L.	Quadrados Médios									
		LP		LIC		SM		$\alpha$ e $\beta$ -AM		FA	
		AT	AE	AT	AE	AT	AE	AT	AE	AT	AE
Trat.	2	0,009*	45,90*	2124,03*	5,51*	996,85*	210,96*	0,82*	3,64*	5,51*	0,28*
ED	1	0,26*	18,22*	2703,43*	32,66*	60309,75*	3283,01*	0,82*	70,47*	32,66*	4,59*
EDxTrat.	2	0,009*	25,60*	2053,35*	5,51*	644,95*	3,79*	55,60*	4,70*	5,51*	0,27*
Erro	21	0,001	6,83	27,68	13,89	23,263	18,06	0,012*	4,36	15,75	0,01
CV (%)		14,52	21,70	5,63	5,93	23,27	9,22	3,01	5,08	5,93	4,22

(\*) significativo a 5% de probabilidade pelo teste F

Figura 14 - Atividades total (AT) e específica (AE) das enzimas lipase (A e B); liase do isocitrato (C e D) e sintase do malato (E e F) em cotilédones de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a soluções de NaCl com potenciais de solutos de: 0,0 MPa (□), controle; -0,4 MPa (■) e -0,8 MPa (■) em três estádios de desenvolvimento (ED)



Letras minúsculas e maiúsculas iguais em um mesmo nível de NaCl e no mesmo ED, respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O traço no topo de cada coluna refere-se ao erro padrão da média.

A atividade da sintase do malato (MS) aumentou entre o ED 0 e ED 1 e diminuiu drasticamente entre este último e o ED 2, o potencial de soluto de -0,8 MPa causou uma ligeira redução na atividade total da MS no ED 1, no ED 2 não houve alterações significativas dentro do mesmo ED, nem para AT nem para AE dessa enzima (Figuras 14E e 14F).

O período decorrido entre semeadura e o estágio de desenvolvimento um (ED 1) foi de  $10 \pm 2$  dias, enquanto que para o ED 2 foi de  $18 \pm 2$  dias. Portanto, a ausência de efeitos negativos nas atividades das enzimas lipase, isocitrato liase e malato sintase no ED 1, pode ter

sido em função do curto espaço de tempo para a manifestação dos sintomas do estresse induzido pelo aumento da salinidade.

O estresse osmótico causado por altas concentração de NaCl inibe a degradação dos lipídios e mobilização do seus produtos em várias espécies, devido a redução das atividades enzimáticas do ciclo do glioxalato, operantes na conversão de ácidos graxos a carboidratos, durante a germinação (GIACHETTI *et al.*, 1987; LIN; CHIA *et al.*, 2005).

Sidari *et al.* (2008) constataram forte inibição nas atividades da liase do isocitrato em sementes de pinheiro (*Pinus pinea*), sob concentrações de 50 mM de NaCl e completa inibição na ação dessa enzima e da sintase do malato em concentrações salinas superiores. Aghaleh *et al.* (2011) relacionaram a inibição das atividades do ciclo do glioxalato (em particular ICL) com altas concentrações de íons  $\text{Cl}^-$  no citosol. Lin, (2004) sugeriram que ânions monovalentes como, por exemplo o  $\text{Cl}^-$ , interagem com os sítios de ligação da ICL inibindo sua atividade. Sementes oleaginosas são altamente dependentes da ICL para germinar, a atividade determina a conversão de acetil-CoA em malato e controla subsequentes enzimas envolvidas no metabolismo da germinação.

### **5.5.2 Enzimas do metabolismo do amido**

Observa-se na Figura 15A que as atividades amilásicas aumentaram no início da germinação, contudo, no ED 1, não houve efeito relacionado à salinidade, no ED 2 os potenciais de solutos NaCl -0,4 e -0,8 causaram ligeira inibição na atividade dessas enzimas, em comparação ao controle, porém, não diferiram entre si.

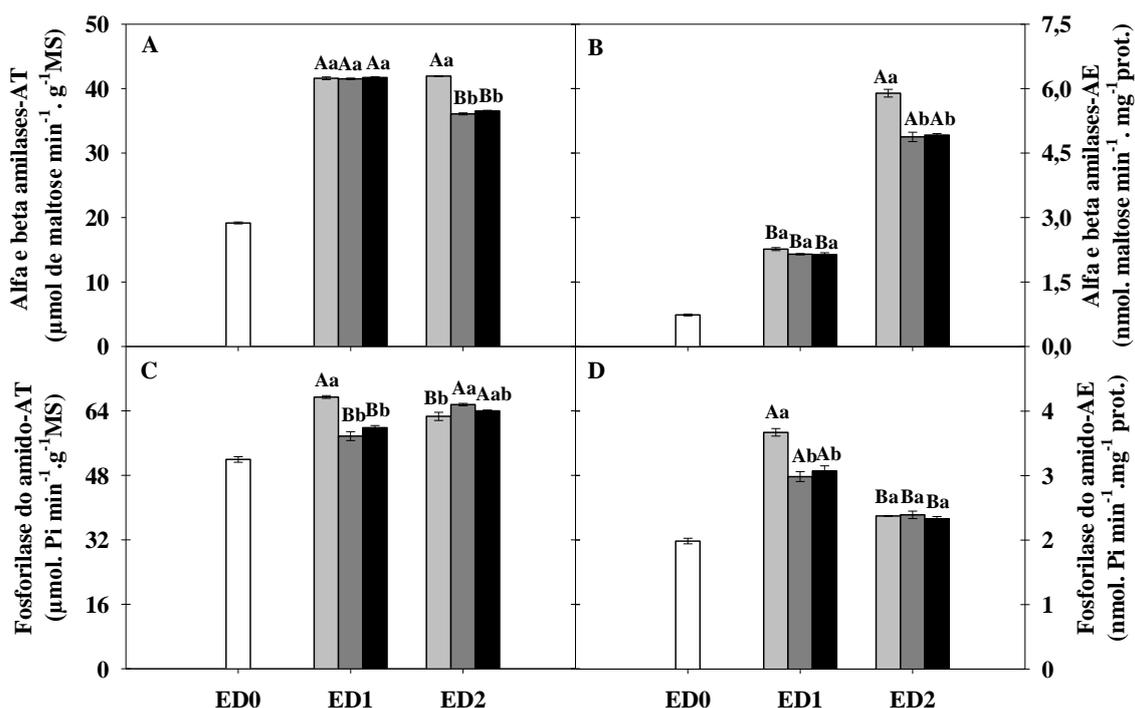
A AE das amilases no ED 2 aumentou 2 vezes no tratamento controle e 1,4 vezes nos potenciais de solutos -0,4 e -0,8 MPa. Como já mencionado, para as enzimas do metabolismo dos lipídios, essa diferença entre ED 1 e ED 2 pode ser em virtude do curto espaço de tempo entre a sementeira e o ED 1, ou seja, não houve tempo suficiente para uma manifestação das atividades mais efetivas da enzima, isso vale também para os efeitos do NaCl.

Como observado na Tabela 12, nos potenciais de solutos 0,0, -0,2, -0,4, -0,6 MPa houve um acréscimo médio de 18,8% nos teores de amido entre ED 1 e ED 2. Em sementes oleaginosas, esse aumento de amido é considerado na literatura como transiente, decorrente da produção de amido a partir da quebra dos lipídios durante a germinação.

Neste contexto, é justificável a falta de uma correlação entre as atividades das lipases e a mobilização de amido nos cotilédones das plântulas de copaíba. De acordo com os

dados das figuras 15C e 15D constata-se que as atividades total e específica da fosforilase de amido (FA) foram bastante expressivas durante a germinação, este fator pode ter contribuído com o aumento dos teores de amido nos cotilédones das plântulas estudadas. Uma vez que a FA pode atuar reversivelmente, ou seja, esta enzima tanto pode remover como adicionar monómeros de glicose na quebra e síntese do amido respectivamente. Talvez a FA tenha atuado mais na síntese do que na quebra do amido durante a germinação das plântulas de copaíba, haja vista, a grande quantidade de lipídios contidos nos cotilédones, sendo que para serem utilizados pelo eixo embrionário os lipídios têm que ser primeiro fragmentados e convertidos a açúcares na via gliconeogênica (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Figura 15 - Atividades total (AT) e específica (AE) das enzimas  $\alpha$ - $\beta$  amilases (A e B) e fosforilase do amido (C e D) em cotilédones de sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) submetidas a soluções de NaCl com potenciais de solutos de: 0,0 MPa (□), controle; - 0,4 MPa (▒) e - 0,8 MPa (■) em três estádios de desenvolvimento (ED)



Letras minúsculas e maiúsculas iguais em um mesmo nível de NaCl e no mesmo ED., respectivamente, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O traço no topo de cada coluna refere-se ao erro padrão da média.

A enzima sintase do amido (AS) faz parte do metabolismo de síntese de amido em sementes durante a germinação, principalmente em sementes oleaginosas e contribui para o aumento transiente de amido nos cotilédones. Embora não se tenha analisado as atividades da sintase do amido neste trabalho, essa enzima pode ter se mantido ativa durante a germinação

das sementes de copaíba e influenciado positivamente no acúmulo de amido e de açúcares solúveis nos cotilédones e eixo embrionário, como foi constatado nas tabelas 9, 10 e 11.

A AT da fosforilase do amido foi inibida em 27% pelo sal no ED 1, em comparação com o controle, no ED 2 a atividade dessa enzima foi menor, comparando-se com ED 1 e não foi afetada pelo NaCl.

Marques (2009) constatou aumento transiente de amido em cotilédones de plântulas de cajueiro e redução nas atividades das enzimas envolvidas na mobilização do amido, resultados semelhantes foram verificados por Voigt (2008).

Os estudos sobre os efeitos da salinidade nas atividades enzimáticas em espécies arbóreas nativas são ainda incipientes, portanto, pesquisas sobre tal assunto são necessárias para um melhor conhecimento da fisiologia do estresse em sementes durante a germinação e desenvolvimento inicial de plantas, com grande valor para elaboração e implantação de planos de manejo de preservação de nossas essências florestais.

## 6 CONCLUSÕES

Sementes de copaíba (*Copaífera langsdorffii* Desf.) apresentam forte resistência à entrada de água, ocasionada pela impermeabilidade da testa.

A imersão das sementes de copaíba em ácido sulfúrico concentrado por 60 minutos é um método indicado para obtenção de uma germinação rápida e uniforme.

O PEG 6.000 reduz mais a taxa de embebição das sementes de copaíba do que o NaCl, em potenciais de solutos equivalentes.

A germinação das sementes de copaíba é intolerante ao abaixamento do potencial de soluto com PEG 6.000 a partir de -0,2 MPa.

Os lipídios representam 42% e são majoritários na composição das reservas de sementes de copaíba.

A mobilização lipídica e proteica nos cotilédones é intensa durante a germinação de sementes de copaíba e é afetada negativamente pelo estresse salino em potenciais de soluto igual ou inferiores a -0,6 MPa.

Os potenciais de solutos a partir de -0,6 influenciam negativamente nos processos de degradação e mobilização de reservas cotiledonares durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de copaíba.

O aumento da concentração de NaCl no meio ocasiona aumentos nos teores de Na<sup>+</sup> e de Cl<sup>-</sup> e causa distúrbios nas vias metabólicas e bioquímicas que desencadeiam a germinação em sementes de copaíba.

As enzimas do metabolismo dos lipídios são mais sensíveis ao NaCl do que as do metabolismo do amido durante a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de copaíba, em potenciais de solutos equivalentes.

## 7 REFERÊNCIAS

ADLER, P. B.; HILLERISLAMBERS J. The influence of climate and species composition on the population dynamics of ten prairie forbs. **Ecology**, v. 89: p. 3049-3060, 2008.

AFFENZELLER, M. J *et al.* Salt stress-induced cell death in the unicellular green alga *Micrasterias denticulate*. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, n. 3, p. 939-954, 2009.

AGHALEH, M *et al.* K.Effect of salt stress on phisyological and antioxidative responses in two species of *Saliconia* (*S. persica* and *S. europaea*). **Acta physiol plant** v. 33, p. 1261-1270, 2011.

ALBUQUERQUE, M.C.F. *et al.* ABSORÇÃO DE ÁGUA POR SEMENTES DE *Crotalaria spectabilis* Roth determinada em diferentes temperaturas e disponibilidade hídrica **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n 1, p.206-215, 2000.

ALBUQUERQUE, K. S. **Aspectos fisiológicos da germinação de sementes de sucupira preta** (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). 2006, 90 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

ALBUQUERQUE, K. S. *et al.* Métodos para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Ciência Agrotecnica.**, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, 2007

ALIAN, A.; ALTMAN, A.; HEUER, B. Genotypic difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato cultivars. **Plant Science**, v. 152, n. 1, p. 59-65, 2000.

ALVES, E.U *et al.* Superação de dormência em sementes de *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p. 405-415, 2007.

AMARO, M. S.; FIGUEIREDO.; LUCENA, E. M. P. Germinação em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO A PESQUISA DA URCA. 4, 2000, Crato. **Resumos...** Crato: Universidade Regional do Cariri, 2000. p. 49.

AMARAL, L.I.; PEREIRA, M.F.; CORTELAZZO, A.L. Quebra de dormência em sementes de *Bixa orellana*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.7, n. 2, p. 151-157, 1995.

AMORIM, J.R.A *et al* Efeito da salinidade e modo de aplicação da água de irrigação no crescimento e produção de alho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 2, p. 167-176, 2002.

AMORIM, I. L. *et al*. Fenologia de espécies lenhosas da caatinga do Seridó, RN. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 491-499, 2009

APG III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105-202, 2009.

ARAÚJO, F. P.; SANTOS, C. A. F.; CAVALCANTI, N. B., **Instruções Técnicas da EMBRAPA Semi-Árido**, n. 24, 2000.

ASHRAF, M.; WAHID, S Time-course changes in organic metabolites and mineral nutrients in germinating maize seeds under salt (NaCl) stress. **Seed Sci Technol**, v. 28, p. 641-656. 2000.

ASHRAF, M.; ZAFAR, R. ASHRAF M.Y. Time-course changes in the inorganic and organic components of germinating sunflower achenes under salt (NaCl) stress. **Flora**, v. 198 p. 26-36, 2003.

ASHRAF, M.; OROOJ. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in arid zone traditional medicinal plant ajwain [*Trachyspermum ammi* (L.) Sprague]. **Journal of Arid Environments**, v. 64, p. 209-220, 2006.

AZERÊDO, G.A. *et al*. Superação de dormência de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 49-58, 2010.

BAETHGEN, W.E.; ALLEY, M.M. A manual colorimetric procedure for measuring ammonium nitrogen in soil and plant Kjeldahl digests. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 20, p. 961-969, 1989.

BANZATTO, D. A.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**. 4 ed, Jaboticabal: FUNEP, 2008. 237p.

BARBOSA, A. P. *et al.* Tecnologia alternativa para a quebra de dormência das sementes de pau-de-balsa (*Ochroma lagopus* Sw., Bombacaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 34, n. 1, p. 107-110, 2004.

BARBOSA, J.G. *et al.* Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 71-77, 2005.

BARROS, M. F. C. *et al.* Influência da aplicação de gesso para correção de um solo salino-sódico cultivado com feijão caupi. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 9, n. 1, p. 77-82, 2009.

BARTELS D, SUNKAR R. Drought and salt tolerance in plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 24, p. 23-58, 2005.

BENEDITO, C.P.; RIBEIRO, M.C.C.; TORRES, S.B. Salinidade na germinação da semente e no desenvolvimento das plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 3, p. 463-467, 2008.

BENEDITO, C. P *et al.* Influência da cor e métodos de superação de dormência em sementes de albizia. **Caatinga**, v. 22, n. 2, p. 121-124, 2009.

BERNACCI, L. C. *et al.* O efeito da fragmentação florestal na composição e riqueza de árvores na região da reserva morro grande (planalto de ibiúna, SP) **Revista. Instituto. Florestal.**, São Paulo, v. 18, n. único, p. 121-166, 2006.

BERNICASA, M. M. P. **Ecofisiologia Vegetal**. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1984. 72 p.

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

BEWLEY, J.D. Seed Germination and Dormancy. **The Plant Cell**, v. 9, n 7, p. 1055-1066, 1997.

BEZERRA, A. M.; *et al.* Germinação e desenvolvimento de plântulas de copaíba em função do tamanho e da imersão da semente em ácido sulfúrico. **Revista Ciência Agronômica**, v. 33, n. 2, p. 79-84, 2002.

BLOOM, A. J *et al.* Deposition of ammonium and nitrate in the roots of maize seedlings supplied with different nitrogen salts. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 5, p. 1997-2006, 2012.

BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; CANDIDO, J.F.; GOMES, J.M. Comparação de métodos de quebra de dormência em sementes de copaíba. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 4 n. 1 p. 9-12, 1982.

BORGES, E. E. L *et al.*, Estudos preliminares sobre o efeito do estresse hídrico na germinação de sementes de Jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra*) e Cedro-rosa (*Cedrela fissilis*). **Revista Brasileira de Sementes**, 13: 115-118. 1991.

BORGES, E. E. L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑARODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES,. p.83-136. 1993.

BORGES, E. E. L *et al.* Alterações fisiológicas em sementes *Tachigalia multijuga* (mamoneira) relacionadas aos métodos de superação de dormência. **Nresvista Árvore**, v. 28 n. 3, p. 317-325, 2004.

BRACCINI, A.L. *et al.* Germinação e vigor de sementes de soja sob estresse hídrico induzido por soluções de cloreto de sódio, manitol e polietileno glicol. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 18, n. 1, p. 10-16, 1996.

BRADFORD, K.J. Water relations in seed germination. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Eds.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 351-396.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará**. CE, Imprensa Oficial, 1960. 547 p.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceará**. 3. ed. Mossoró: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1976. 256 p.

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

BRITO, C. M. **Ecofisiologia de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae) no sítio Venha Ver, município de Crato-CE**. 2001. 56 f. Monografia (Especialização em Botânica). Universidade Regional do Cariri, Crato.

BROSCHÉ, M.; VINOCUR, B.; ALATALO E.R, Gene expression and metabolite profiling of *Populus euphratica* growing in the Negev desert. **Genome Biology**, v. 6, p. 101, 2005.

BUCKERIDGE, M.S. *et al.* Acúmulo de Reservas. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 324 p.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Ed.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 149-162.

CASTRO, R.D.; HILHORST, H.W.M. Dormancy, germination and the cycle cell in developing imbibing tomato seeds. **Resvista Brasileira de Fisiologia vegetal**, v. 12, p. 105, 2004.

CAVALCANTE, A.M.B.; PEREZ, S.C.J.G. Efeitos dos estresses hídrico e salino sobre a germinação de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n. 2, p. 281-289, 1995.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000, 588 p.

CHAPMAN, J. M.; GALLESCHI, L. The control of food mobilization in seeds of *Cucumis sativus* L. VI. The production of starch. **Annals of botany**, v. 55, p. 29-34, 1985.

CHENEVARD, D.; FROSSARD, J. S.; LACOINTE, A. Lipid utilization and carbohydrate partitioning during germination of English walnut (*juglans regia*). **Annals of Forest Science**, v. 51, p. 373-379, 1994.

CHEESEMAN, J. M. Mechanism of salinity tolerance in plants. **Plant Physiology**, v. 117, p. 547-550.

CHINNUSAMY, V.; ZHU, J.; ZHU, J. K. Cold stress regulation of gene expression in plants. **Trends in Plant Science**, v. 12, p. 444-451, 2007.

COLL, J. B.; RODRIGO, G. N.; GARCIA, B. S.; TAMES, R. S. **Fisiologia Vegetal**. Madrid: Ediciones Pirámide, 2001. 566 p.

CORTE, V. B. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (LEGUMINOSAE-CAESALPINOIDEAE). **Revista Árvore**, v. 30, n. 6, p. 941-949, 2006.

COSTA, P. A. *et al.* Quebra de dormência em sementes de *Adenantha pavonina* L. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 1, p. 83-88,. 2010.

CRESTANA, C.; BELTRATI, C.M. Morfologia e anatomia das sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae). **Naturalia**, v.13, p. 45-54, 1988.

DANTAS, B.F. *et al.* Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 221-227, 2008a).

DANTAS, F. B *et al.* Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 214-219, 2008b).

DASH, M.; PANDA, S.K. Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germinating *Phaseolus mung* seeds. **Biologia Plantarum**, v. 44, p. 587-589, 2001.

DATTA, J. K *et al.* Impact salt stress of wheat (*triticum aestivum* L.) cultivars under laboratory condition, **Journal Applied Science Environment**, v. 13, n. 3, p.93-97, 2009.

DAVIDE, A.C *et al.*. Estudos morfo-anatômicos, bioquímicos e fisiológicos durante a germinação de sementes de candeia (*Eremanthus erythropappus*) (DC.) MacLeish. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 2, p. 171-176, 2008.

DEBEZ, A *et al.* Salinity effects on germination, growth, and seed production of the halophyte *Cakile maritima*. **Plant Soil**, v. 262, p. 179-189, 2004.

DELACHIAVE, M. E. A.; PINHO, S. Z. Germination of *Senna occidentalis* Link: seed at different osmotic potential levels. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Botucatu, v. 46, n. 2, p. 163-166, 2003.

DIAS, G. F. **Educação ambiental**: princípios e práticas. São Paulo: Gaia, 2004. 587 p.

DIXON, G.H.; KORNBERG, H.L. Assay methods for key enzymes of the glyoxalate cycle. **Biochemistry Journal**, v. 72, 3P, 1959.

DOBRA, J. *et al.* Comparison of hormonal responses to heat, drought and combined stress in tobacco plants with elevated proline content. **Journal of Plant Physiology** v. 167, p. 1360-1370, 2010.

DUAN, D.Y.; LI, W.Q.; LUI, X. J.; OUYANG, H. P. seed germination and seed growth of *suaeda salsa* under salt stress, **Annual Botany Fennici**, v. 44, p. 161-169, 2007.

DUBOIS, M *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

DUPAS, G. **Meio ambiente e sociedade**. São Paulo: EDUSP, 2008. 345 p.

DURAN, J. M.; TORTOSA, M. E. The effect of mechanical and chemical scarification on germination of charlock *Sinapsis arvensis* L. seed. **Seed Science e Technology**, Zürich. v. 13, p. 155-163, 1985.

EMES, M. J *et al.* Starch synthesis and carbon partitioning in developing endosperm, **Journal Experimental. Botany**. v. 54, n. 382, p 569-575, 2003.

EIRA, M. S.; CALDAS, L. S. Seed dormancy and germination as concurrent processes. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12 (Edição Especial) p. 85-104, 2000.

ELSHINTINAWY, F.; ELSHOUBAGY, M. N. Alleviation of changes in protein metabolism in NaCl-stressed wheat seedlings by thiamine. **Biology Plant**, v. 44, p. 541-545, 2001.

EVERS, D. *et al.* Growth characteristics and biochemical changes of populus shoots *in vitro* under sodium chloride stress. **Journal Plant Physiology**, v. 151, p. 748-753, 1997.

FAGERIA, N.K. Salt tolerance of rice cultivars. **Plant and Soil**, v.88, p.237-243, 1985.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. Efeitos do estresse hídrico, salino e térmico no processo germinativo de sementes de *Adenanthera pavonina* L. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, p. 167-177. 1998.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. de A. Efeito do estresse hídrico e envelhecimento precoce na viabilidade de sementes osmocondicionadas de paineira (*Chorisia speciosa*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 4, p. 537-543, 2003.

FARIAS, S. G. G. **Estresse Osmótico na Germinação, crescimento e nutrição mineral da *Gliricidia*** (*Gliricidia sepium* Jack. Walp). 2008. 49 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Campina Grande, Patos.

FERGUSON, L.; GRATAN, S. R. How salinity effects citrus: osmotic effects and specific ion toxicities, **Horttechnology**, v. 15, p. 95-99, 2005.

FISKE, C.H.; SUBBAROW, H. The colorimetric determination of phosphorus. **Journal of Biological Chemistry**, v. 66, p. 375-400, 1925.

FLORIANO, E. P. **Germinação e dormência de sementes Florestais**, Caderno Didático nº 2, 1 ed. Santa Rosa, 2004, 19 p.

FLOWERS, T. J.; TROKE, P. F.; YEO, A. R. The mechanism of salt tolerance in halophytes. **Plant Physiology**, v. 28, p. 89-121, 1977.

FLOWERS, T. J. Improving crop salt tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 55, p. 307-319, 2004.

FONSECA, S. C. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Ação do polietileno glicol na germinação de sementes de *Adenantha pavonina* L. e o uso de poliaminas na atenuação do estresse hídrico sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 1-6, 2003.

FOOLAD, M. R.; ZHANG, L. P.; SUBBIAH, P. Genetics of drouth tolerance during seed germination in tomato: inheritance an QTL mapping. **Genome**, v, 46, p. 536-545, 2003.

FORZZA, R.C *et al. et. al.* 2010. Introdução. in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/>>, acessado em 10 nov. 2011.

FOUGERE, F.; LE RUDULIER, D.; STREETER, J.G. Effects of salt stress on amino acid, organic acid, and carbohydrate composition of roots, bacteroids, and cytosol of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Plant Physiology** v. 96, p. 1228-1236, 1991.

FREITAS C. V.; OLIVEIRA P. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae), *Revista Brasileira de Botânica*, v. 25, n. 3, p. 311-321, 2002.

FRENNE, P. *et al.* The response of forest plant regeneration to temperature variation along a latitudinal gradient. *Annals of Botany*, v. 109, p. 1037-1046, 2012.

GAINES, T.P.; PARKER, M.B.; GASCHO, G.J. Automated determination of chlorides in soil and plant tissue by sodium nitrate extraction. *Agronomy Journal*, v. 76, p. 371-374, 1984.

GALÃO, M. I *et al.* reserve mobilization in mesquite (*Prosopis juliflora*) seed (Leguminosae). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 87, p. 2012-2018, 2007.

GAMA, J. S. N. *et al.* Superação de dormência em semente de centrosema plumeri. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 33, n. 4 p. 643-651, 2011.

GARCIA, J.; DUARTE, J.B.; FRASSETO, E.G. Superação de dormência em sementes de sansão-do-campo (*Mimosa caesalpiniaefolia* L.). *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 32, n. 1, p. 29-31, 2002.

GARNCZARSKA, M.; ZALEWSKI, T.; KEMPKA, M. Water uptake and distribution in germinating lupine seeds studied by magnetic resonance imaging and NMR spectroscopy. *Physiologia Plantarum*, v.130, p.23-32, 2007.

GHAZIZADE; GOLKAR; SALEHINEJAD, E ffect of Salinity Stress on Germination and Seedling characters in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Annals of Biological Research*, v. 3 n. 1, p.114-118, 2012.

GHEYI, H.; FAGERIA, N. K. Efeito dos sais sobre as plantas. In: **Manejo e controle da salinidade na agricultura irrigada**, p. 125-131, 2000.

GIMENO, V. *et al.* Physiological and morphological responses to flooding with fresh or saline water in *Jatropha curcas*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 78, p. 47-55, 2012.

GÓIS, V.A.; TORRES, S.B.; PEREIRA, R.A. Germinação de sementes de maxixe submetidas a estresse salino. **Revista Caatinga**, v.21, n.4, p.64-67, 2008.

GOMES-FILHO, E.; PRISCO, J. T. effects of salinity in vivo and vitro on the proteolytic activity of *Vigna sinensis* (L.) Savi cotyledons during germination. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 1, p 83-88, 1978.

GOMES-FILHO, E *et al.* Effects of salinity in vivo and vitro on ribonuclease activity of *vigna unguiculata* cotyledons during germination. **Phisiologia Plantarum**, v. 59, p. 183-188, 1983.

GONELA, A *et al.* Reação enzimática ao estresse salino durante a germinação de estilosantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v. 39, n. 1, p. 93-95, jan. 2004.

GORAI, M.; NEFFAT, M. Germination responses of *Reaumuria vermiculata* to salinity and temperature. **Annals of Applied Biology**, v. 151, p. 53-59, 2007.

GORAI, M.; NEFFAT, M. influence of water stress in seed germination characteristics invasivas *Diploaxis harra*, boiss (Brassicaceae) in arid zone of Tunisia. **Journal of phytology**, v. 1, n. 4, p. 249-254, 2009.

GUCCI, R *et al.* Partitioning of photosynthetic carbohydrates in leaves of salt-stressed olive plants. **Journal Plant Physiology**, v. 25 p. 571-579, 1998.

GUIMARÃES, R.M. **Fisiologia de sementes**: produção e tecnologia de sementes. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 129 p.

GUGLIELMINETTI, L *et al.* Amylolytic activities in cereal seeds under aerobic and anaerobic conditions. **Plant Physiology**, v. 109, p. 1069-1076, 1995.

GUNN, C.R. Seeds of leguminosae. In: POHILL, R.M.; RAVEN, P.H. (Eds.). **Advances in Legume Systematics**. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 1981. p. 913-925.

GUPTA, N. RATHI, P. GUPTA, R. Simplified *para*-nitrophenyl palmitate assay for lipases and esterases. **Analytical Biochemistry**, v. 311, p. 98-99, 2002.

HAIDER, M, S *et al.* CAM- and starch-deficient mutant of the facultative CAM species *Mesembryanthemum crystallinum* reconciles sink demands by repartitioning carbon during acclimation to salinity. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 5, p. 1985-1996, 2012.

HARBORNE, J.B.; BOULTER, D.; Turner, B.L.; Chemotaxonomy of the Leguminosae; Academic press: London, 1971, p. 1.

HEDHLY A, HORMAZA J.I, HERRERO MGlobal warming and sexual plant reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2009.

HEGNAUER, R.; GPAYER-BARKMEIJER, R. J. Relevance of seed polysaccharides and flavonoids for the classification of the Leguminosae: A chemotaxonomic approach. **Phytochemistry**, v. 34, n. 1, p. 3-16, 1993.

HOCK, B.; BEEVERS, H. Development and decline of the glyoxylate-cycle enzymes in watermelon seedlings (*Citrullus vulgaris* Schrad.). Effects of dactinomycin and cycloheximide. **Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie**, v. 55, p. 405-414, 1966.

HODGE, J.E.; HOFREITER, B.R. Determination of reducing sugars and carbohydrates. In: WILSTER, R.L.; WOLFROM, M.L. (Ed.). **Methods in carbohydrates chemistry**. New York: Academic Press, 1962. v. 1, p. 380-394.

HOLANDA, A. C *et al.* Desenvolvimento inicial de espécies arbóreas em ambientes degradados por sais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v 7, n 1. p. 39-50, 2007.

HOSSEINI, M. K.; POWELL, A. A.; BINGHAM, L. J. Comparison of the seed germination and early seedling growth of soybean in saline conditions. **Seed Science Research**, v. 12, p. 165-172, 2002.

IGLESIAS, D. J *et al.* Regulation of photosynthesis through source-sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. **Plant Physiology**, v. 116, p. 563-572, 2002.

JAMES, R *et al.* Photosynthetic capacity in related to cellular and subcellular partitioning of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in salt- affected barley and durum wheat. **Plant Cell Environment**, v. 29, p. 2185-2197, 2006.

JANSKA A *et al.* Cold stress and acclimation: what is important for metabolic adjustment? **Plant Biology**, v. 12, p. 395-405. 2010.

JELLER, H.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos dos estresses hidrico e salino e da ação de giberelina em sementes de *Senna spectabilis*. **Ciência Florestal**, v.11, n.1, p.93-104, 2001.

JELLER, H.; PEREZ, S. C. J. G. A.; RAIZER, J. Water uptake, priming, drying and storage effects in *Cassia excelsa* Schrad SEEDS. **Brailianz Journal Biology**, v. 63 n. 1, p. 61-68, 2003.

JENKS M. A.; HASEGAWA, P. M. **Plant abiotic stress**. Blackwell Publishing, 2005, 270p.

JUDD, S. W *et al.* Plant Systematics, A Phylogenetic Approach; Ed. Sinauer: Sunderland, 1999, 283p.

JUNTILA, O. Seed and embryo germination in *S. vulgaris* and *S. reflexa* as affected by temperature during seed development. **Physiology plant**, Copenhagen, v. 29, p. 264-268, 1976.

KAPLAN, F.; GUY, C. L. beta-Amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock. **Plant Physiology**, v. 135, p. 1674-1684, 2004.

KAYA, M. D *et al.* Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **European Journal Agronomy**, v. 24, p 291-295, 2006.

KAYANI, S. A.; NAQVI, H. H.; TING, I. P. Salinity effects on germination and mobilization of reserves in jojoba seed. **Crop Science**, v. 30, p. 704-708, 1990.

KEMPA, S.; ROZHON, W.; SAMAJ, J. A. Plastid-localized glycogen synthase kinase 3 modulates stress tolerance and carbohydrate metabolism. **The Plant Journal**, v. 49, p. 1076-1090, 2007.

KEREPRESI, I.; GALIBA, G.; BANYAI, A. Osmotic and salt stresses induced differential alteration in water-soluble carbohydrate content in wheat seedlings. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 46, p. 5347-5354, 1998.

KINGEL, J.; GALILI, G. E. Seed development and germination. New York, Marcel Dekker Inc. 853 p. 1995.

KISSMAN, C. *et al.* Tratamentos para quebra de dormência, temperaturas e substratos na germinação de *Adenantha pavonina* L. **Ciência Agrotécnica**, v. 32, n. 2, p. 668-674, 2008.

KHODADAD, M. An evaluation of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.), seed germination and seedling characters in salt stress conditions. **African Journal of Agricultural Research**, v. 6, n. 7, p. 1667-1672, 2011.

KITAGIMA, K. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: MULKEY, S. S.; CHAZDON, R.L.; SMITH, A. P. **Tropical forest plant ecophysiology**. New York: Chapman e Hall., P. 559-596, 1996

KLADY, R. A. *et al.* Changes in high Arctic tundra plant reproduction in response to long-term experimental warming. **Global Change Biology**, v. 17, p. 1611-1624, 2011.

KONG, X. *et al.* Effects of non-uniform root zone salinity on water use, Na<sup>+</sup> recirculation, and Na<sup>+</sup> and H<sup>+</sup> flux in cotton. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, No. 5, pp. 2105-2116, 2012.

KRASENSKY, J.; JONAK, C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 4, p. 1593-1608, 2012.

KUMAR, S. R.; SANA, N. K.; HOSSAIN, I. Ionic effects on mobilization of seed storage nutrients substance and lipase activity in germination oil seeds (*Brassica napus* L.). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 1, p. 36-44, 2004.

LABOURIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 174 p.

LACERDA, C. F. Interação salinidade x nutrição mineral. In: Nogueira, R. J. . C., Araújo, E. L., Willadino, L. G., Cavalcante, U. (ed.) **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife: UFRPE, 2005, p. 127-137.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. Sao Carlos: Rima, 2000. 531 p.

LARCHER W.. **Physiological plant ecology**, 4 ed. Springer. 2003, 467 p.

**LATITUDES DAS CIDADES BRASILEIRAS**. Disponível em <http://www.apolo11.com/latlon.php?uf=ce&cityid=689>. Acesso em: 06/03/2012.

LEE, Y.P. Potato phosphorylase. In: NEUFELD, E.F.; GINSBURG, V. (Ed.) **Methods in Enzymology**. Complex Carbohydrates, v. 8, p. 550-554, 1966.

LEWIS, W. H.; ELVIN-LEWIS, M. P. F.; **Medical Botany**; John Wiley and Sons: New York, 1977, p. 293.

LIMA-JÚNIOR, D. *et al.* Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. (Leguminosae, Caesalpinoideae). **Revista Árvore**, v. 30, n. 4, p. 513-518, 2006.

LIMA, B.; TORRES, S. Estresses hídrico e salino na germinação de sementes de *Zizyphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 22, n. 4, p. 93-99, 2009.

LIN, J. *et al.* Salinity-alkalinity tolerance in wheat: Seed germination, early seedling growth, ion relations and solute accumulation. **African Journal of Agricultural Research**, v. 7 n. 3, p. 467-474, 2012.

LLOYD, J.; HOWIE, H. Responce of Orange *Citrus sinensis* (L.) Osbeck to saline irrigation water. I. Flowering, fruit set and fruit growth. **Jounal of Agriculture**, v. 40, p. 371-380, 1989.

LLOYD, J.R., KOSSMANN, J., RITTE, G. Leaf starch degradation comes out of the shadows. **Trends Plant Sciece**. v.10, n.3, p.130-137, 2005.

LOPES, A.C. Estudos comparativos entre essências nativas e exóticas. In CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 4, 1982. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 1982. p. 87-89.

LOPES, J. C. *et al.* Germinação de sementes de espécies florestais de *Caesalpinea férrea* Mart. Ex Tul. Var. *leiostachya* Benth., *Cássia grandis* L. e *Samanea saman* Merrill, após tratamento para superar a dormência. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 80-86, 1998.

LOPES, H. M., ROSSETTO, C. A. V.; CARNEIRO, V Embebição de sementes de cenoura (*Daucus corota* L.) em diferentes potenciais osmóticos por dois métodos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, p. 81-87, 2000.

LOPES, J.C.; MACEDO, C. M. P. Germinação de sementes de sob influência do teor de substrato e estresse salino. **RevistaBrasileiradeSementes**, v. 30, n. 3, p. 79-85, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 4. ed. v. 1, 2002. 351 p.

LUGAN, R. *et al.* Metabolome and water homeostasis analysis of *Thellungiella salsuginea* suggests that dehydration tolerance is a key response to osmotic stress in this halophyte. **The Plant Journal** v. 64, p. 215-229, 2010.

MA, L. *et al.* Oxidase AtrbohD and AtrbohF function in ROS-dependent regulation of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> homeostasis in Arabidopsis under salt stress. **Journal of Experimental Botany**, n. 63, n. 1, p. 305-317, 2012.

MAGALHÃES, S. R.; BORGES, E. E. L.; BERGER, A. P. A. Alterações nas atividades das enzimas alfa-galactosidase e poligalacturonase e nas reservas de carboidratos de sementes de *schizolobium parahyba* (vell.) blake (guapuruvú) durante a germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 2 p. 253-261, 2009.

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

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 1989. 201 p.

MARANGON, L. C. *et al.* Relações florísticas, estrutura diamétrica e hipsométrica de um fragmento de floresta estacional semidecidual em viçosa (mg). **Revista Floresta**, v. 38, n. 4, p. 699-709, 2008.

MARCOS FILHO, J. *et al.* Effect of harvesting time on seed physiological quality, chemical composition and storability of soybeans. **Ciência Agrícola**, v. 51, n. 2, p. 298-304, 1994.

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

MARQUES, E. C. 2009. **Estresse salino e mobilização de reservas cotiledonares durante a germinação e estabelecimento da plântula de cajueiro anão-precoce**. 117f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

MARQUES, E. C. *et al.* Efeito do estresse salino na germinação, emergência e estabelecimento de plântula de cajueiro anão precoce. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 4, p. 993-999, 2011.

MARTINS, C. C. *et al.* Métodos de superação de dormência de sementes de barbatimão. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 381-385, 2008.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 4.ed. Great Britain: Pergamon Press, 1989. 270p.

MELO, M. G. G. *et al.* Superação de dormência de três espécies de *Parkia* spp. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 533-542, 2011.

MELONI, D. A.; GULOTTA, M .R.; MARTINEZ, C. A. Salinity tolerance in *Schinopsis quebracho colorado*: Seed germination, growth, ion relations and metabolic responses. **Journal of Arid Environments**, v. 72, p. 1785-1792, 2008.

MORAES, G. A. F.; MENEZES, N. L. Desempenho de sementes de soja sob condições diferentes de potencial osmótico. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 219-226, 2003.

MORAES, G. A. F.; MENEZES, N. L.; PASQUALLI, L. L. Comportamento de sementes de feijão sob diferentes potenciais osmóticos. **Ciência Rural**, v. 35, n. 4, p. 776-780, 2005.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

MORAES, G. *et al.* Comportamento de sementes de feijão sob diferentes potenciais osmóticos. **Ciência Rural**, Santa Maria v. 35,n. 4, p. 776-780, 2005.

MUNOZ, G. E.; MARIN, K.; GONZALEZ, C. Polipeptide profile in prosopis seedlings growing in saline conditions. **Phyton**, v. 61, p. 17-24, 1997.

MUNNS, R.; TERMAAT, A. Whole plant responses to salinity. **Australian Journal of Plant Physiology**, Melbourne, v. 13, p. 143-160, 1986.

MUNNS, R.; SCHACHTMAN, D. P.; CONDON, A. G. The significance of a two-phase response to salinity in wheat and barley. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p. 561-569, 1995.

MUNNS, R. Comparative physiology of salt and water stress. **Plant, Cell and Environment**, v. 25, p. 239, 250, 2002.

MUNNS, R. TESTER M. Mechanisms of salinity tolerance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 651-681, 2008.

MURATA, N *et al.* Significant improvement of salt tolerance with 2-day acclimatization treatment in *Elaeagnus oxycarpa* seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 77, p. 170-174, 2012.

NASCIMENTO, J. R. O *et al.* Beta-amylase expression and starch degradation during banana ripening. **Postharvest Biology. Technol.** In press, 2006.

NASCIMENTO, I. L. *et al.* Superação da dormência em sementes de faveira (*Parkia platycephala* Benth). **Revista. Árvore**, v. 33, n. 1, p. 35-45, 2009.

NASSIF, S. M. L.; PEREZ, S. C. J. G. A. Germinação de sementes de amendoim-do-campo (*Pterogyne nitens* Tul. - Fabaceae-Caesalpinoideae) submetidas a diferentes condições de estresse hídrico e salino. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 143- 150, 1997.

NATH, S., COOLBEAR, P.; HAMPTON, J. G., Hydration-dehydration treatments to protect or repair stored Karamu wheat seeds. **Crop Science**, v. 31, p. 822-826. 1991.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger: Princípios de Bioquímica**. 4 ed. São Paulo: Servier, 2006. 1232 p.

NEVES, O. S. C; CARVALHO, J. G.; RODRIGUES, C. R. Crescimento e nutrição mineral de mudas de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr.Cam.) submetidas a níveis de salinidade em solução nutritiva. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, p. 997-1006, 2004.

NIKNAM, V *et al.* Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents, and antioxidante enzymes in seedlings and calli of two *trigonella* species. **Biology Plant**, v. 50, p. 591-596, 2006.

NISHIZAWA A, YABUTA Y, SHIGEOKA S. Galactinol and raffinose constitute a novel function to protect plants from oxidative damage. **Plant Physiology**, v.147, p. 1251-1263. . 2008.

NIU, X. *et al.* ion homeostasis in NaCl stress environments. **Plant Physiology**, v. 109, p. 735-742, 1995.

NIZAM, I. Effects of salinity stress on water uptake, germination and early seedling growth of perennial ryegrass. **African Journal of Biotechnology**, v. 10 n. 5 1, p. 10418-10424, 2011.

NOGUEIRA, R. J. M. C. **Expressões fisiológicas em aceroleiras (*malpighia emarginata* D.C.) em condições adversas**. São Carlos - SP, 1997. 207f. Tese (Doutorado em Ciências) Curso de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal de São Carlos, 1997.

NOLETO, L. G.; PEREIRA, M. F. R.; AMARAL, L. I. V. Alterações estruturais e fisiológicas em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. - Leguminosae-Caesalpinioideae submetidas ao tratamento com hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n 1 p. 045-052, 2010.

OLIVEIRA, D. A *et al.* Potencial germinativo de sementes de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth. – Fabaceae: Mimosoideae) sob diferentes procedências, datas de coleta e tratamentos de escarificação. **Revista Árvore**, v. 32, n. 6, p. 1001-1009, 2008.

ORTEGA-GALISTEO, A. P *et al.* Romero-Puertas M. C. S-Nitrosylated proteins in pea (*Pisum sativum* L.) leaf peroxisomes: changes under abiotic stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 5, p. 2089-2103, 2012.

ORSINI F. *et al.* Low stomatal density and reduced transpiration facilitate strawberry adaptation to salinity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 81, p. 1-10 2012.

PEREZ, S .C. J. G. A.; TAMBELINI, M. Efeito dos estresses salino e hídrico e do envelhecimento precoce na germinação de algarobeira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 11, p. 1289-1295, 1995.

PEREZ, S. C. J. G. A. Envoltórios In: FERREIRA, A.G., BORGHETTI, F. (Org.). **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 125-134.

PETRIDIS, A. *et al.* Salinity-induced changes in phenolic compounds in leaves and roots of four olive cultivars (*Olea europaea* L.) and their relationship to antioxidant activity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 79, p. 37-43, 2012.

PONTES, C. A. *et al.* Mobilização de reservas em sementes de *apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr. (garapa) durante a germinação. **Revista Árvore**, v. 26, n. 5, p. 593-601.

POLO, M.; PAES, J. P. A. Compostos cumarínicos em sementes imaturas de copaíba vermelha (*Copaifera langsdorffii* Desf.). **Revista da Universidade de Alfenas**, v. 1, n. 5, p. 26-29, 1994.

PRISCO, J. T.; ENÉAS-FILHO, J.; GOMES-FILHO, E. Effects of NaCl salinity on cotyledons on starch mobilization during germination of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. seeds. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 4 p. 63-71, 1981.

PRISCO, J. T.; GOMES-FILHO, E. Fisiologia e bioquímica do estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. **Manejo da salinidade na agricultura**. Fortaleza, INCTSal, p. 472, 2010.

RAO, V. S *et al.* Pesquisa descobre novas propriedades medicinais do óleo de copaíba. Pesquisas FUNCAP. **Revista de Ciência e Tecnologia**, Fortaleza, ano 3, nº 1, p. 21-23, 2001.

RAVEN, P. H; EVERT, R. F; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 755 p.

REICHARDT, K. **Dinâmica da matéria e da energia em ecossistemas**. Piracicaba, USP/ESALQ. Departamento de Física e Meteorologia. 1993, 505 p.

RIBEIRO, M. C. C *et al.* Tolerância do sabiá (*Mimosa caesalpinifolia* Benth.) à salinidade durante a germinação e o desenvolvimento de plântulas. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 5, p. 123-126, 2008.

RHODES, D.; HANDA, S.; BRESSAN, R. A.; Metabolic changes associated with adaptation of plant-cells to water-stress. **Plant Physiology**, v. 82, p. 890-903, 1986.

RODRIGUES, A. P. A. C. *et al.* Tratamentos para superar a dormência de sementes de *Acacia mangium* Willd. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 279-283, 2008.

RODRIGUES, A. P. D. C. *et al.* Tratamentos para superação da dormência de sementes de *Adenanthera pavonina* L. **Revista Árvore**, v. 33, n. 4, p. 617-623, 2009.

ROLSTON, M. P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 44, n. 3, p. 365-396, 1978.

ROSA, L. S *et al.* Avaliação da germinação sob diferentes potenciais osmóticos e caracterização morfológica da semente e plântula de *Ateleia glazioviana* BAILL (TIMBÓ). **Revista Cerne**, Lavras, v. 11, n. 3, p. 306-314, 2005.

ROSA, J. C.; GOMES, A. M. S. Os aspectos etnobotânicos da copaíba. **Revista Geografar**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 59-77, 2009.

SAATKAMP, A. *et al.* Germination traits explain soil seed persistence across species: the case of Mediterranean annual plants in cereal fields. **Annals of Botany**, v. 107, p. 415-426, 2011.

SADEGHIPOUR, H. R.; BAHTLA, S. C. Differential sensitivity of oleosins to proteolysis during oil body mobilization in sunflower seedlings. **Plant Cell and Physiology**, v. 43, p. 1117-1126, 2002.

SAEED, M.; DUCK, S.H. Amylases in pea tissues with reduced density and/or function, **Plant Physiology**, v. 94, p. 1813-1819, 1990.

SALISBURY, F. B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. Belmont: Weids Wort Publishing Company, 540 p, 1992.

SALVADOR, V.; **História do Brasil: 1500-1627**, 6 ed. Melhoramentos, São Paulo – SP, 1975, 65 p.

SANCHEZ, D. H *et al.* Plant metabolomics reveals conserved and divergent metabolic responses to salinity. **Physiologia Plantarum**, v. 132, p. 209-219, 2008.

SANTOS, A. R. F. **Desenvolvimento inicial de *Moringa aleifera* Lam. sob condições de estresse**. 2010. 77 f. Dissertação (Mestrado em recursos naturais). Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão.

SANTOS, A. R. F.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Restrição hídrica em sementes de jenipapo (*genipa americana* l.) **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v. 35, n. 2, p. 213-220, 2011.

SARIKAYA, E. *et al.* Comparison of degradation abilities of  $\alpha$ - and  $\beta$ -amylases on raw starch granules. **Process Biochem.** v. 35, n. 7, p. 711-715, 2000.

SEBEI, K *et al.* Germination Kinetics and Seed Reserve Mobilization in Two Flax (*Linum usitatissimum* L.) Cultivars under Moderate Salt Stress. **Journal of Plant Biology**, v. 50 n. 4 p. 447-454, 2007.

SEIFFERT, M. **Alguns aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação e anatomia foliar de *Protium widgrenii* Engler**. 2002. 81 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SERRANO, R. *et al.* Glimpse of the mecanismo of ion homeostasis during salt stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 50, p.1023-1036, 1999.

SERRANO, R.; RODRIGUEZ-NAVARRO, A. Ion homeostasis during salt stress in plants. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 13, p. 399-404.

SHEVTSOVA, A. *et al.* Critical periods for impact of climate warming on early seedling establishment in subarctic tundra. **Global Change Biology**, v. 15 p. 2662-2680, 2009.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. p. 221-227, 2007.

SILBERSTEIN T. B. *et al.*, Effects of longer term storage on seed germination from grass seed harvested at different seed moisture contents. **Oregon Seeds Extension Program**, v .8, p. 11-17, 2008.

SILVA, M. F.; LISBÔA, P. L. B.; LISBÔA, R. C. L.; **Nomes Vulgares de Plantas da Amazônia**; INPA: Belém, 1977, p. 72.

SILVA, L. M. M.; AGUIAR, I. B; RODRIGUES T. J. D. Seed germination of *Bowdichia virgilioides* Kunth, under water stress **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 5, n. 1, p. 115-118, 2001.

SILVA, M. B. R. *et al.* Crescimento de plantas jovens da espécie florestal favela (*Cnidoscopus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm) em diferentes níveis de salinidade da água. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, v. 5, n. 2, 2005.

SILVA, K. B *et al.* Quebra de dormência em sementes de *Erythrina velutina* Willd. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 180-182, 2007.

SILVA, N. B. *et al.* Hidratação controlada de sementes de pinhão manso. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 589-597, 2012.

SMIRDELE, O. J.; MOURÃO-JUNIOR, M.; SOUSA, R. C. P. Tratamentos pré-germinativos em sementes de acácia. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p. 78-85, 2005.

SMITH, A. M., ZEEMAN, S. C., SMITH, S. M. Starch degradation. **Annu. Plant Biology**. v. 56, p. 73-98, 2005.

SMITH, A. M.; DENYER, K.; MARTIN, C. The synthesis of the starch granule. **Journal plant physiology**, v. 48, p. 67-87, 1997.

SOUZA, S. R., **Efeito da Salinidade e da Relação N/K, em Solução sobre o Crescimento e Composição de Duas Cultivares de Batata Doce**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 1994, 84 p.

SOUZA, F. H. D.; MARCOS-FILHO, J. The seed coat as a modulator of seed-environment relationship in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 4, p. 365-375, 2001.

SOUZA, M. P. et al. Estresses hídrico e salino no processo germinativo das sementes de *Plantago ovata* Forsk. (Plantaginaceae). **Revista Árvore**, v. 32, n. 1, p. 33-38, 2008.

STONE, S. L.; GIFFORD, D. J. Structural and biochemical changes in Loblolly pine (*Pinus taeda*) seeds during germination and early seedling growth. II. Storage triacylglycerols and carbohydrates. **International Journal Plant Science**, v. 160, n. 4, p. 663-671, 1999.

STOOP, J. M. H.; PHARR, D. M. Growth substrate and nutrient salt environment alter mannitol-hexose partitioning in celery petioles. **Journal American Society Horticulture Science**, v. 119, p. 237-242, 1994.

SUTCLIFFE, J. F. **As plantas e a água**. São Paulo: E. P. U./EDUSP, 1980. 126 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TANINI, M. *et al.* Changes in non-structural carbohydrate in olive (*Olea europaea*) leaves during root zone salinity stress. **Plant Physiology**, v. 98, p. 117-124, 1996.

TESTER, M.; DAVENPORT, R. Na<sup>+</sup> tolerance and Na<sup>+</sup> transport in higher plants. **Annals of Botany**, v. 91, n. 3, p. 503-527, 2003.

USADEL, B. *et al.* Multilevel genomic analysis of the response of transcripts, enzyme activities and metabolites in Arabidopsis rosettes to a progressive decrease of temperature in the non-freezing range. **Plant, Cell and Environment**, v. 31, p. 518-547, 2008.

VALLIYODAN B.; NGUYEN H. T. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. **Curent Opinion in Plant Biology**, v. 9, p. 189-195, 2006.

VAN den BERG, M. E.; *Plantas Medicinai da Amazônia. Contribuição ao seu conhecimento sistemático*; CNPq-MPEG: Brasília, 1982, p. 145.

VEIGA JUNIOR V. F.; PINTO, A C. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CT, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, v. 21, p. 945-970, 2002.

VIANA, S. B. A. *et al.* Índices morfofisiológicos e de produção de alface sob estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 8, n. 1, p. 23-30, 2004.

VILLELA, F. A.; FILHO, L. D.; SEQUEIRA, E. L. Tabela de potencial osmótico em função da concentração de polietileno glicol 6.000 e da temperatura. *Pesquisa agropecuária Brasileira*, Brasileira, v. 26, p. 1957-1968. 1991.

VOIGT, E. L. *et al.* Source–sink regulation of cotyledonary reserve mobilization during cashew (*Anacardium occidentale*) seedling establishment under NaCl salinity. **Journal of Plant Physiology**, v. 166 p. 80-89. 2009.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, p. 209-213, 1955.

YOON, Y. *et al.* Priming with salt solutions improves germination of pansy seed at high temperatures. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 2, p. 248-250, 1997.

WALKER, R. P *et al.* Phosphoenolpyruvate carboxykinase plays a role in interactions of carbon and nitrogen metabolism during grape seed development. **Planta**, v. 210, p. 9-18, 1999.

WALCK J. L. *et al.* Climate change and plant regeneration from seed. **Global Changes Biology**, v. 17. n. 6, p. 2145-2161, 2011.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Aspectos fisiológicos do estresse salino em plantas. In: NOGUEIRA, R. J. M. C. *et al.* (eds). **Estresses ambientais: danos e benefícios em plantas**. Recife. MXM Gráfica e Editora. 2005. Parte II, cap. 10, p. 118-126.

WINKLER, U. R.; STUCKMANN, M. Glycogen, hyaluronate, and some other polysaccharides greatly enhance the formation of exolipase by *Serratia marcescens*. **Journal of Bacteriology**, v. 138, p. 663-670, 1979.

WYN JONES, R. G.; POLLARD, A. Proteins enzymes and inorganic ions. In: Lauchili, A.; BIELESKIO, R. L. (eds) **Encyclopedia of Plant Physiology**, New Series, v. 15B, p. 528-562, 1983.

ZAYED, M. A.; ZEID, I. M. Effect of water and salt stresses on growth, chlorophyll, mineral ions and organic solutes contents, and enzymes activity in mung bean seedlings. **Biologia Plantarum**, v. 40, n. 3, p. 351-356, 1997.

ZAYED, M. Effect of polyethylene glycol (PEG) and sodium chloride on growth, chlorophyll, mineral ions and organic solutes contents, and enzymes activity in *Phaseolus vulgaris* seedlings..**Acta.Botanica.Hungarica**, v. 52, n. 3, p. 429-435, 2010.

ZHU, J. K. LIU, J.; XIONG, L. Genetics analysis of salt tolerance in arabidopsis. Evidence for a critical role, of potassium nutrition. **Plant Cell**, v. 10, p. 1181-1191, 1998.

ZHU, J. *et al.* OSM1/SYP61: a syntaxin protein in arabidopsis controls abscisic-mediated and non-abscisic acid-mediate responses to abiotic stress. **Plant Cell**, v. 14, p. 3009-3028, 2002.