



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FLORESTAIS E DA MADEIRA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

**CAROLINE PALACIO DE ARAUJO**

**CONSERVAÇÃO *EX SITU* E TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO EM SEMENTES  
DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.**

JERÔNIMO MONTEIRO – ES

2024

CAROLINE PALACIO DE ARAUJO

**CONSERVAÇÃO *EX SITU* E TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO EM SEMENTES  
DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais, do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Florestais, na Área de Concentração Ciências Florestais.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre

JERÔNIMO MONTEIRO – ES

2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de  
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

P153c      Palacio de Araujo, Caroline, 1995-  
             CONSERVAÇÃO EX SITU E TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO  
             EM SEMENTES DE *Lecythis pisonis* CAMBESS. / Caroline  
             Palacio de Araujo. - 2024.  
             152 f. : il.

             Orientador: Rodrigo Sobreira Alexandre.  
             Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade  
             Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e  
             Engenharias.

             1. Sementes. 2. Germinação. 3. Plantas Oleaginosas. 4.  
             Sementes - Armazenamento. 5. Tecnologia de sementes. 6.  
             Sementes - Fisiologia. I. Sobreira Alexandre, Rodrigo. II.  
             Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
             Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 630\*38

---

**CONSERVAÇÃO *EX SITU* E TOLERÂNCIA A DESSECAÇÃO EM SEMENTES  
DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.**

**Caroline Palacio de Araujo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Aprovada em 23 de fevereiro de 2024.

Documento assinado digitalmente



**KHETRIN SILVA MACIEL**

Data: 24/02/2024 11:11:16-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Khétrin Silva Maciel** (Examinadora externa)  
Universidade Federal do Sul da Bahia

Documento assinado digitalmente



**HELOISA OLIVEIRA DOS SANTOS**

Data: 26/02/2024 11:41:30-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Heloisa Oliveira dos Santos** (Examinadora externa)  
Universidade Federal de Lavras

Documento assinado digitalmente



**WILSON VICENTE SOUZA PEREIRA**

Data: 26/02/2024 12:32:27-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Wilson Vicente Souza Pereira** (Examinador externo)  
Universidade Federal de Lavras

Documento assinado digitalmente



**JOSE CARLOS LOPES**

Data: 23/02/2024 16:03:29-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. José Carlos Lopes** (Examinador externo)  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

**Prof. Dr. Rodrigo Alexandre Sobreira** (Orientador)  
Universidade Federal do Espírito Santo



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

**PROTOCOLO DE ASSINATURA**



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por  
RODRIGO SOBREIRA ALEXANDRE - SIAPE 1569540  
Departamento de Ciências Florestais e da Madeira - DCFM/CCAE Em  
23/02/2024 às 12:50

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:  
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/882035?tipoArquivo=O>

Dedico ao meu bondoso Deus  
À minha Mãe Lucélia Vidal Palacio de Araujo  
Ao meu Pai André de Araujo

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelas bênçãos imerecidas, por sempre estar ao meu lado e por não me abandonar em meio as dificuldades.

Aos meus pais Lucélia e André por todo apoio, carinho, incentivo e paciência em todos estes anos de estudo.

Ao meu irmão Eduardo, aos meus avós Santinha e Maurilio, e às minhas tias Fernanda e Josélia pelo carinho e apoio.

A minha amiga Neia, ao seu esposo David, ao senhor Valdir e ao senhor Matias por realizarem a colheita dos frutos de *L. pisonis* em todos esses anos, contribuindo de forma significativa para a realização deste e de outros estudos. Também agradeço por todo carinho e gentileza que recebi de vocês.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre pela orientação. Também agradeço aos meus colegas do Laboratório de Sementes Florestais e Laboratório de Cultura de Tecidos pelo apoio na montagem dos experimentos, em especial a Ingridh Medeiros Simões, Débora Pellanda Fagundes, Joana Silva Costa, Eduardo Santos Cade, Emanuel Bizareli de Moraes, Mariana Ribeiro de Almeida, João Pedro Vieira Fraga de Assis e Taísa de Fátima Rodrigues de Almeida.

Ao Prof. Dr. Edilson Romais Schmildt pelo apoio nas análises estatísticas e pela disponibilidade em estar me ajudando sempre quando necessário.

Ao Prof. Dr. José Carlos Lopes pela parceria nos trabalhos realizados e por sempre me incentivar durante a minha trajetória.

À Profa. Dra. Heloisa Oliveira dos Santos e ao Dr. Wilson Vicente Souza Pereira pela parceria para a realização das análises enzimáticas e pela gentileza em nos receber no Laboratório de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Ao Prof. Dr. José Eduardo Macedo Pezzopane por disponibilizar a estrutura física e os equipamentos do Laboratório de Meteorologia e Ecofisiologia Florestal para a realização das análises.

À prefeitura de Jerônimo Monteiro pelo fornecimento do transporte para a UFLA, visando a realização das análises enzimáticas deste trabalho.

À UFES e ao Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais, pertencente ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) (EDITAL FAPES/CNPq N° 05/2017 - PRONEm - PROGRAMA DE APOIO A NÚCLEOS EMERGENTES. Convênio registrado no SICONV sob o n° 794009/2013, Processo FAPES (n° 72660945) e EDITAL FAPES N° 03/2021 - UNIVERSAL, Protocolo: 45216.706.19068.28042021) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Código de Finanças 308365/2019-4); Chamada CNPq N° 09/2022 - Bolsas de Produtividade em Pesquisa.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa.

*Aquele que sai chorando enquanto lança a semente,  
voltará com cantos de alegria, trazendo os seus feixes.  
(Salmos 126:6)*

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I – CHOQUE TÉRMICO EM TEMPERATURA ELEVADA POR UM CURTO PERÍODO DE TEMPO AUMENTA O SUCESSO GERMINATIVO DA CASTANHEIRA *Lecythis pisonis* CAMBESS.....39

**Figura 1.** Coordenadas geográficas das árvores de *L. pisonis* onde foram realizadas as colheitas das sementes e mapa de temperatura do município de Laranja da Terra, ES, Brasil, evidenciando a média anual em um período histórico de 30 anos (1984-2014). Fonte dos dados: (INCAPER, 2023).....45

**Figura 2.** (A) temperaturas fixas (30; 35; 40; 45 e 50 °C) e (B) choques térmicos 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40; 35-45; 35-50; 40-45; 40-50; 45-50 °C nos tempos de exposição 20 h/4 h e 21 h/3 h na emergência e crescimento de plântulas de *L. pisonis*.....47

**Figura 3.** (A) temperaturas fixas (30 e 45 °C) e (B) choque térmico 30-45 °C nos tempos de exposição 23,05 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h na emergência e crescimento de plântulas de *L. pisonis*.....48

**Figura 4.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30, 35, 40, 45 e 50 °C) e choques térmicos nas temperaturas (30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40; 35-45; 35-50; 40-45; 40-50; 45-50 °C) em dois tempos de exposição (12 h/12 h e 20 h/4 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....53

**Figura 5.** (A) comprimento de parte aérea (cm), (B) comprimento da raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (g) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30 e 35 °C) e choques térmicos nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45 e 35-40 °C no tempo de exposição 12 h/12 h e choques térmicos 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40 e 35-45 °C no tempo de exposição 20 h/4 h. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....54

**Figura 6.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b* e (C) rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ), em plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30 e 35 °C) e choques térmicos nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45 e 35-40 °C no tempo de exposição 12 h/12 h e nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40 e 35-45 °C no tempo de exposição 20 h/4 h. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem

entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....55

**Figura 7.** (A) catalase (CAT), (B) ascorbato peroxidase (APX), (C) superóxido dismutase (SOD), (D) malondialdeído (MDA) e (E) peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30 e 35 °C) e choque térmico 30-35; 30-45; 35-45 °C nos tempos de exposição 12 h/12 h e 20 h/4 h. <sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....56

**Figura 8.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....58

**Figura 9.** (A) comprimento da parte aérea (cm), (B) comprimento de raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (g) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....59

**Figura 10.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b* (C) e rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....60

**Figura 11.** (A) catalase (CAT), (B) ascorbato peroxidase (APX), (C) superóxido dismutase (SOD), (D) metilação global do DNA (5 mC, 5-metilcitosina), (E) malondialdeído (MDA) e (F) peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....62

**CAPÍTULO II – O TAMANHO DAS SEMENTES E A INTENSIDADE LUMINOSA AFETAM A EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS E O CRESCIMENTO DE MUDAS DA CASTANHEIRA *Lecythis pisonis* CAMBESS.....74**

**Figura 1.** Esquema evidenciando a disposição do experimento de emergência de plântulas de *L. pisonis* em casa de vegetação com condições climáticas controladas, cujos tratamentos foram a ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%) e os tamanhos das sementes, sendo estes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g).....81

**Figura 2.** (A) temperatura e umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação e (B) temperatura interna nos tratamentos com presença e ausência de sombreamento, referentes aos meses de dezembro/2022 a fevereiro/2023.....82

**Figura 3.** (A) caracterização da irradiância por meio do comprimento de ondas de luz visível e infravermelho-próximo (nm) e (B) média diária da radiação fotossinteticamente ativa dentro de cada tratamento com ausência e presença de sombreamento nos meses de dezembro/2022 a fevereiro/2023.....83

**Figura 4.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis*, oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%). \*p<0,1; \*\*p<0,05; \*\*\*p<0,001, <sup>ns</sup>não significativo.....86

**Figura 5.** Características de crescimento de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%). \*p<0,1; \*\*p<0,05; \*\*\*p<0,001; <sup>ns</sup>não significativo.....87

**Figura 6.** Características fisiológicas de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%). \*p<0,1; \*\*p<0,05; \*\*\*p<0,001; <sup>ns</sup>não significativo.....89

**Figura 7.** (A) assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (B) condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (C) concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e (E) transpiração foliar ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas em diferentes condições de sombreamentos (0; 30; 50; 70 e 80%). \*p<0,1; \*\*p<0,05; \*\*\*p<0,001, <sup>ns</sup>não significativo.....89

**Figura 8.** Imagens termográficas das mudas de *L. pisonis* em cada ambiente com ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%) em três horários do dia (10, 12 e 14 h).....94

**Figura 9.** Gráficos de superfície de respostas para as características de trocas gasosas em diferentes horas do dia (8; 10; 12; 14 e 16 h) evidenciando a (A) taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (B) condutância estomática (*gs*,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (C) concentração interna de CO<sub>2</sub> (*Ci*,  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e (D) transpiração foliar (*E*,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

Equações: A ( $Z=2,0156^{\text{ns}}-0,0330^{\text{ns}}X+0,9038^*Y+0,004^*XY-0,00033^*X^2-0,055^{**}Y^2$ ); *gs* ( $Z=0,2544^{***}+0,0011^*X-0,0310^{**}Y-0,00003^{\text{ns}}XY-0,0000057^{\text{ns}}X^2+0,0011Y^2$ ); *Ci* ( $Z=584,0574^{***}+0,9706^{\text{ns}}X-60,4296^{***}Y-0,0032^{\text{ns}}XY-0,0038^{\text{ns}}X^2+2,3800^{***}Y^2$ ); *E* ( $Z=-3,5489^{***}+0,0041^{\text{ns}}X+0,8329^{***}Y+0,00023^{\text{ns}}XY-0,00005X^2-0,0364Y^2$ ). \*\*\* $p>0,001$ ; \*\* $p<0,01$ ; \* $p<0,05$ ;  $p<0,1$  e  $^{\text{ns}}$ não significativo.....94

### CAPÍTULO III – TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO DE SEMENTES DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.....104

**Figura 1.** Protocolo para determinar o grau de tolerância à dessecação de sementes de *L. pisonis* após secagem em 15, 10 e 4% de água, com posterior armazenamento das sementes com teor de água de 4% em recipientes de alumínio nas temperaturas de -20 °C e -86 °C, sendo estes procedimentos adaptados de Hong e Ellis (1996).....110

**Figura 2.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes com diferentes teores de água (30, 15, 10, 4%) e de sementes com 4% de água armazenadas durante três meses em recipientes de alumínio nas temperaturas de -20 °C e -86 °C. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p<0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....112

**Figura 3.** Características de crescimento de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes com diferentes teores de água (30, 15, 10, 4%) e de sementes com 4% de água armazenadas durante três meses em recipientes de alumínio nas temperaturas de -20 e -86 °C. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p<0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....115

**CAPÍTULO IV – CONSERVAÇÃO *EX SITU* DE SEMENTES DE *Lecythis pisonis* CAMBESS. EM DIFERENTES TEMPERATURAS E TEMPOS DE ARMAZENAMENTO.....123**

**Figura 1.** (A) árvore de *L. pisonis* com folhas jovens de coloração rósea, (B) colheita de frutos, (C) retirada das sementes dos frutos para o beneficiamento das sementes, (D-E) fruto recém colhido e (F) sementes com arilos na região do hilo. Escala: (A) 4 m; (B) 28 cm; (C) escala preta: 20 cm; escala branca: 30 cm e (D, E, F) 4 cm.....128

**Figura 2.** Médias diárias referentes a temperatura máxima (T<sub>máx</sub>, °C), média (T<sub>méd</sub>, °C) e mínima (T<sub>mín</sub>, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) do ambiente de semeadura em casa de vegetação.....130

**Figura 3.** (A) germinação (%), (B) emergência de plântulas (%), (C) teor de água (%), (D) índice de velocidade de emergência (IVE) e (E) tempo médio de emergência (TME, dias) de sementes de *L. pisonis* submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em BOD. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....133

**Figura 4.** (A) comprimento de parte aérea (cm), (B) comprimento de raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (G) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em BOD. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....135

**Figura 5.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b*, e (C) rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) em mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas de armazenamento (25, 6, 2 e -6 °C) e semeadas em BOD. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....136

**Figura 6.** (A) germinação (%), (B) emergência de plântulas (%), (C) teor de água em sementes, (D) índice de velocidade de emergência (IVE) e (E) tempo médio de emergência (TME, dias) de *L. pisonis* submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em casa de vegetação. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....138

**Figura 7.** (A) comprimento de parte aérea (cm), (B) comprimento de raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (g) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em casa de vegetação. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p<0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....140

**Figura 8.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b* e (C) rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) em mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em casa de vegetação. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p<0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.....141

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO II – O TAMANHO DAS SEMENTES E A INTENSIDADE LUMINOSA AFETAM A EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS E O CRESCIMENTO DE MUDAS DA CASTANHEIRA *Lecythis pisonis* CAMBESS.....74**

**Tabela 1.** Dados de temperatura e radiação de um dia ensolarado (11/01/2023, Jerônimo Monteiro, ES, Brasil) dentro de cada tratamento com ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%), utilizados para calibrar o equipamento IRGA para a realização das trocas gasosas em mudas de *L. pisonis*.....85

**Tabela 2.** Emergência de plântulas (E, %), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME, dias), comprimento de parte aérea (CPA, cm), comprimento de raiz (CR, cm), diâmetro de coleto (DC, mm), área foliar (cm<sup>2</sup>), massa seca da parte aérea (MSPA, g), massa seca da raiz (MSR, g) e massa seca total (MST, g) para mudas de *L. pisonis* crescidas na ausência (0%) e presença (30; 50; 70 e 80%) de sombreamento.....90

**Tabela 3.** Índice de clorofila (Chl) *a* e *b* e rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) analisados nos horários de 7 e 12 h, assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), concentração interna de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e transpiração foliar ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%).....92

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO GERAL .....                                                                                                                                             | 20 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                   | 23 |
| 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....                                                                                                                                     | 26 |
| 1.1 <i>Lecythis pisonis</i> Cambess. ....                                                                                                                          | 26 |
| 1.2 Qualidade fisiológica de sementes no armazenamento associada as condições de temperatura e umidade relativa do ar.....                                         | 27 |
| 1.3 Sementes intermediárias .....                                                                                                                                  | 29 |
| 1.4 Qualidade fisiológica de sementes durante o envelhecimento .....                                                                                               | 29 |
| 1.5 Mudanças fisiológicas e bioquímicas associadas à viabilidade. ....                                                                                             | 30 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                   | 33 |
| CAPÍTULO I – CHOQUE TÉRMICO EM TEMPERATURA ELEVADA POR UM CURTO PERÍODO DE TEMPO AUMENTA O SUCESSO GERMINATIVO DA CASTANHEIRA <i>Lecythis pisonis</i> CAMBESS..... | 39 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                       | 40 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                     | 42 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                 | 43 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                         | 44 |
| 2.1 Caracterização da área de estudo e beneficiamento das sementes.....                                                                                            | 44 |
| 2.2 Experimento 1: Temperaturas fixas 30, 35, 40, 45 e 50 °C e choques térmicos na qualidade fisiológica de sementes e mudas de <i>L. pisonis</i> . ....           | 46 |
| 2.3 Experimento 2: Temperaturas fixas 30 e 45 °C e choque térmico (30-45 °C) na qualidade fisiológica de sementes e mudas de <i>L. pisonis</i> .....               | 47 |
| 2.4 Emergência, vigor e crescimento de mudas.....                                                                                                                  | 48 |
| 2.5 Índice de clorofilas.....                                                                                                                                      | 49 |
| 2.6 Fluorescência da clorofila .....                                                                                                                               | 49 |
| 2.7 Análises bioquímicas .....                                                                                                                                     | 49 |
| 2.7.1 Enzimas do estresse oxidativo .....                                                                                                                          | 49 |
| 2.7.2 Peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio.....                                                                                                           | 50 |
| 2.8 Metilação global de DNA .....                                                                                                                                  | 51 |
| 2.9 Delineamento experimental e análise estatística.....                                                                                                           | 52 |
| 3. RESULTADOS .....                                                                                                                                                | 52 |
| 3.1 Experimento 1: Temperaturas fixas 30, 35, 40, 45 e 50 °C e choques térmicos na qualidade fisiológica de sementes e plântulas de <i>L. pisonis</i> . ....       | 52 |

|                                                                                                                                                                             |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.2 Experimento 2: Temperaturas fixas 30 e 45 °C e choque térmico na qualidade fisiológica de sementes e plântulas de <i>L. pisonis</i> .....                               | 57  |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                                                                                                           | 62  |
| 5. CONCLUSÕES.....                                                                                                                                                          | 66  |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                         | 67  |
| CAPÍTULO II – O TAMANHO DAS SEMENTES E A INTENSIDADE LUMINOSA AFETAM A EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS E O CRESCIMENTO DE MUDAS DA CASTANHEIRA <i>Lecythis pisonis</i> CAMBESS..... | 74  |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                | 75  |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                              | 77  |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                          | 78  |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                                  | 79  |
| 2.1 Condições climáticas .....                                                                                                                                              | 81  |
| 2.2 Emergência, vigor e crescimento de mudas.....                                                                                                                           | 83  |
| 2.3 Índice de clorofilas.....                                                                                                                                               | 84  |
| 2.4 Fluorescência da clorofila.....                                                                                                                                         | 87  |
| 2.5 Trocas gasosas em mudas .....                                                                                                                                           | 84  |
| 2.6 Delineamento experimental e análise estatística.....                                                                                                                    | 85  |
| 3. RESULTADOS .....                                                                                                                                                         | 85  |
| 4. DISCUSSÃO.....                                                                                                                                                           | 95  |
| 5. CONCLUSÕES.....                                                                                                                                                          | 98  |
| 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                         | 99  |
| CAPÍTULO III – TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Lecythis pisonis</i> CAMBESS. ....                                                                                 | 104 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                                | 105 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                              | 106 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                          | 107 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                                  | 109 |
| 2.1 Colheita e coordenadas geográficas.....                                                                                                                                 | 109 |
| 2.2 Teor de água nas sementes.....                                                                                                                                          | 109 |
| 2.3 Emergência, vigor e crescimento de mudas.....                                                                                                                           | 110 |
| 2.4 Índice de clorofilas e fluorescência da clorofila .....                                                                                                                 | 111 |
| 2.5 Delineamento experimental e análise estatística.....                                                                                                                    | 111 |
| 3. RESULTADOS .....                                                                                                                                                         | 111 |

|                                                                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4. DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                 | 115 |
| 5. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                | 118 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                | 119 |
| CAPÍTULO IV – CONSERVAÇÃO <i>EX SITU</i> DE SEMENTES DE <i>Lecythis pisonis</i><br>CAMBESS. EM DIFERENTES TEMPERATURAS E TEMPOS DE ARMAZENAMENTO<br>.....          | 123 |
| RESUMO .....                                                                                                                                                       | 124 |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                     | 125 |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                                                                 | 126 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                                                                         | 127 |
| 2.1 Colheita, beneficiamento e coordenadas geográficas .....                                                                                                       | 127 |
| 2.2 Armazenamento de sementes.....                                                                                                                                 | 129 |
| 2.3 Teor de água nas sementes.....                                                                                                                                 | 130 |
| 2.4 Germinação, emergência, vigor e crescimento de mudas.....                                                                                                      | 130 |
| 2.5 Índice de clorofilas e fluorescência da clorofila <i>a</i> .....                                                                                               | 130 |
| 2.6 Delineamento experimental e análise estatística.....                                                                                                           | 131 |
| 3. RESULTADOS .....                                                                                                                                                | 131 |
| 3.1 Experimento 1. Conservação <i>ex situ</i> de sementes de <i>L. pisonis</i> em diferentes temperaturas<br>de armazenamento: semeadura em BOD. ....              | 131 |
| 3.2 Experimento 2. Conservação <i>ex situ</i> de sementes de <i>L. pisonis</i> em diferentes temperaturas<br>de armazenamento: semeadura em casa de vegetação..... | 136 |
| 4. DISCUSSÃO .....                                                                                                                                                 | 141 |
| 5. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                                | 145 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                                | 146 |
| CONCLUSÕES GERAIS .....                                                                                                                                            | 152 |

## INTRODUÇÃO GERAL

A floresta Amazônica e o hotspot da biodiversidade Floresta Atlântica abrigam inúmeras espécies de plantas e animais, os quais, diariamente, sofrem com distúrbios ambientais, tais como, desmatamento, queimadas e variações abruptas de temperaturas (SCARANO; CEOTTO, 2015; NUNES et al., 2023). Em função disto, muitas espécies de plantas podem se tornar ameaçadas, devido às perturbações em seu ambiente natural (EVANGELISTA-VALE et al., 2021). Isto acarreta em prejuízos à humanidade, já que as florestas oferecem serviços ecossistêmicos importantes, os quais influenciam desde a regulação climática, estoque de carbono, manutenção dos efluentes, mitigação do aquecimento global, até o fornecimento de madeira, alimentos e matéria-prima para produtos farmacêuticos (RAIHAN, 2023; MARDIYANTO et al., 2024; STEEL et al., 2024).

A castanheira *Lecythis pisonis* Cambess. (Lecythidaceae) encontra-se nestes biomas de alta vulnerabilidade, sendo atualmente considerada uma espécie não convencional, mas com grande potencial produtivo de castanhas ricas em compostos bioativos, as quais podem ser utilizadas como matéria-prima na produção de remédios, cosméticos, produtos alimentícios *in natura* ou processados (ex.: leite e farinha) (DEMOLINER et al., 2018a, b; TEIXEIRA et al., 2018; ROSA et al., 2020; POLMANN et al., 2021; KINUPP; LORENZI, 2021; ARAUJO et al., 2023). Pertence a mesma família da castanheira *Bertholletia excelsa* Bonpl., cuja área de ocorrência na Amazônia poderá reduzir cerca de 25% até o ano de 2050 em decorrência das variações de temperaturas, e influenciará na economia de aproximadamente 2239 famílias que vivem do extrativismo sustentável de suas castanhas (EVANGELISTA-VALE et al., 2021).

Nesses ecossistemas florestais, a ocorrência de variações de temperaturas que ultrapassem as necessidades específicas de germinação de cada espécie, acarreta na perda da viabilidade de sementes presentes no solo (SCARANO; CEOTTO, 2015; EVANGELISTA-VALE et al., 2021). No ambiente natural, o banco de sementes do solo atua na restauração e resiliência das florestas após perturbações. Contudo, dependendo da intensidade dos distúrbios ambientais, a viabilidade das sementes de muitas espécies é perdida, sendo observado que algumas características como dormência, massa e tamanho das sementes contribuem para a sobrevivência destes recursos genéticos frente as adversidades (BEKKER et al., 1998; MORO et al., 2024).

A diversidade arbórea desses biomas carece de mais estudos relacionados com a capacidade germinativa de sementes e crescimento de mudas. A escassez destas informações dificulta a conservação dos seus recursos genéticos em bancos de germoplasma, e a sua utilização na restauração florestal em áreas impactadas (MACIEL et al., 2022). Visando

facilitar os processos de conservação destes materiais genéticos no armazenamento, as sementes podem ser classificadas quanto a sua longevidade em ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes. Sementes ortodoxas possuem alta longevidade, pois, são capazes de tolerar a dessecação do embrião a baixos conteúdos de água e resistem ao armazenamento em baixas temperaturas. As sementes recalcitrantes, não toleram a dessecação do embrião, sendo liberadas da planta-mãe com conteúdo interno de água elevado, o que contribui para aumentos na deterioração e perda da viabilidade (ROBERTS, 1973; SILVA, 2019). Já as sementes intermediárias, possuem características pertencentes as duas classificações (ortodoxas e recalcitrantes), contudo, são sensíveis ao armazenamento em baixas temperaturas (ELLIS et al., 1990; YULIANTI et al., 2020).

A capacidade de tolerar a dessecação a baixos conteúdos de água, é adquirida na maturação das sementes, sendo comum observar em sementes ortodoxas o acúmulo de proteínas abundantes na embriogênese tardia (LEAs), proteínas do choque térmico, acúmulo de oligossacarídeos da série rafínosica, redução vacuolar e ativação do sistema antioxidante enzimático. Isto não é observado em sementes recalcitrantes, que à medida que a desidratação ocorre, o metabolismo aquoso continua de maneira desequilibrada, causando um desbalanço por meio da produção acentuada de radicais livres, espécies reativas de oxigênio (EROs) e a diminuição de enzimas antioxidantes, ocorrendo o aumento dos processos oxidativos, danos celulares e a deterioração das sementes (BERJAK; PAMENTER, 2013; LI et al., 2022). Já em sementes intermediárias, também é observado a presença de compostos que atuam na tolerância a dessecação, a exemplo dos açúcares da série rafínosica, contudo, estes mecanismos não são tão eficientes quanto os encontrados em sementes ortodoxas (STEADMAN et al., 1996).

Em projetos de conservação e reflorestamento também é necessário compreender o comportamento sucessional das espécies para a distribuição adequada das mudas e/ou sementes no ambiente. A espécie *L. pisonis* foi classificada por Anjos et al. (2015) como secundária tardia, indicando a necessidade de ambientes sombreados nos estádios iniciais de desenvolvimento. Em função disto, é necessário compreender o comportamento germinativo e fotossintético desta espécie frente a diferentes níveis de sombreamento, possibilitando encontrar as formas mais adequadas na produção de mudas de qualidade, a considerar que espécies tolerantes a sombra, são mais sensíveis ao estresse térmico decorrentes de ambientes ensolarados (BITA; GERATS, 2013; AHMAD et al., 2021).

Esta pesquisa responde perguntas importantes relacionadas à propagação seminífera da espécie *Lecythis pisonis* Cambess., cujos objetivos foram a) capítulo I – estudar temperaturas fixas e choques térmicos em diferentes tempos de exposição na fisiologia de sementes e

crescimento inicial de plântulas de *L. pisonis*; b) capítulo II – analisar a influência do tamanho das sementes e o sombreamento na emergência de plântulas e na plasticidade fenotípica e fotossintética de mudas de *L. pisonis*; c) capítulo III – analisar a tolerância à dessecação e a manutenção da viabilidade de sementes da castanheira *L. pisonis*; e d) capítulo IV – analisar a qualidade fisiológica de sementes de *L. pisonis* durante o armazenamento *ex situ* em diferentes condições de temperaturas e variações de tempo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, M.; WARAICH, E. A.; SKALICKY, M.; HUSSAIN, S.; ZULFIQAR, U.; ANJUM, M. Z.; RAHMAN, M. H. U.; BRESTIC, M.; RATNASEKERA, D.; LAMILLA-TAMAYO, L.; AL-ASHKAR, I.; SABAGH, A. Adaptation strategies to improve the resistance of oilseed crops to heat stress under a changing climate: an overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 767150, 2021.

ANJOS, L.; OLIVA, M. A.; KUKI, K. N.; MIELKE, M. S.; VENTRELLA, M. C.; GALVÃO, M. F.; PINTO, L. R. Key leaf traits indicative of photosynthetic plasticity in tropical tree species. **Trees**, v. 29, p. 247-258, 2015.

ARAUJO, C. P.; SIMÕES, I. M.; ROSA, T. L.; MELLO, T.; CANL, G. B.; FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; SOUZA, T. S.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, P. F.; NOVAES, F. J. M.; GONÇALVES, F. G.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Functional fruit trees from the Atlantic and Amazon Forests: selection of potential chestnut trees rich in antioxidants, nutrients, and fatty acids. **Foods**, v. 12, p. 4422, 2023.

BEKKER, R. M.; BAKKER, J. P.; GRANDIN, U.; KALAMEES, R.; THOMPSON, K.; MILBERG, P.; POSCHLOD, P.; WILLEMS, J. H. Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. **Functional Ecology**, v. 12, p. 834-842, 1998.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 478, 2013.

BITA, C. E.; GERATS, T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 273, 2013.

DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**, v. 108, p. 27-34, 2018a.

DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile. **Food Research International**, v. 112, p. 434-442, 2018b.

ELLIS R. H.; HONG T. D.; ROBERTS E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v. 41, p. 1167-1174, 1990.

EVANGELISTA-VALE, J. C.; WEIHS, M.; JOSÉ-SILVA, L.; ARRUDA, R.; SANDER, N. L.; GOMIDES, S. C.; MACHADO, T. M.; PIRES-OLIVEIRA, J. C.; BARROS-ROSA, L.; CASTUERA-OLIVEIRA, L.; MATIAS, R. A. M.; MARTINS-OLIVEIRA, A. T.; SÃO BERNARDO, C. S.; SILVA-PEREIRA, S.; CARNICER, C.; CARPANEDO, R. S.; EISENLOHR, P. V. Climate change may affect the future of extractivism in the Brazilian Amazon. **Biological Conservation**, v. 257, p. 109093, 2021.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil:** guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2021. 768p.

LI, W.; NIU, Y.; ZHENG, Y.; WANG, Z. Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 826809, 2022.

MACIEL, G. P.; CALDEIRA, C. F.; GASTAUER, M.; RIBEIRO, P. G.; DA SILVA, G. M.; RAMOS, S. J. Morphological characteristics and germination of native species seeds for mineland rehabilitation in the Eastern Amazon. **New Forests**, v. 54, p. 769-787, 2023.

MARDIYANTO, A.; RIYANTO, R.; SIANIPAR, C. P.; SHIBATA, S. Forest ecosystem services and local communities neighboring Biha Resort in Bukit Barisan Selatan National Park, Southern Sumatra, Indonesia. **Asian Journal of Forestry**, v. 8, p. 18-30, 2024.

MORO, A. V. I.; BORGHETTI, F.; GALETTO, L.; CELLINI, J. M.; BRAVO, S. J. The influence of seed functional traits and anthropogenic disturbances on persistence and size of the soil seed bank from dry subtropical forest species. **Forest Ecology and Management**, v. 551, p. 121524, 2024.

NUNES, R. S. C.; SOUZA, A.; VILLAR-HERNÁNDEZ, B. J.; OLIVEIRA JÚNIOR, J. F.; ABREU, M. C.; OLIVEIRA, A. P. G.; FAKHRUDDIN, M. Fires in brazilian biomes. **Mercator**, v. 22, p. e22023, 2023.

POLMANN, G.; BADIA, V.; DANIELSKI, R.; FERREIRA, S. R. S.; BLOCK, J. M. Non-conventional nuts: An overview of reported composition and bioactivity and new approaches for its consumption and valorization of co-products. **Future Foods**, v. 4, p. 100099, 2021.

RAIHAN, A. The dynamic nexus between economic growth, renewable energy use, urbanization, industrialization, tourism, agricultural productivity, forest area, and carbon dioxide emissions in the Philippines. **Energy Nexus**, v. 9, p. 100180, 2023.

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

ROSA, T. L. M.; DE ARAUJO, C. P.; KAMKE, C.; FERREIRA, A.; DA SILVA FERREIRA, M. F.; DE OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; OTONI, W. C.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Sapucaia nut: Morphophysiology, minerals content, methodological validation in image analysis, phenotypic and molecular diversity in *Lecythis pisonis* Cambess. **Food Research International**, v. 137, p. 109383, 2020.

SCARANO, F.; CEOTTO, P. Brazilian Atlantic Forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. **Biodiversity and Conservation**, v. 24, p. 2319-2331, 2015.

SILVA, G. R. **Produção, tecnologia e armazenamento de sementes**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2019, 192 p.

STEADMAN, K. J.; PRITCHARD, H. W.; DEY, P. M. Tissue-specific soluble sugars in seeds as indicators of storage category. **Annals of Botany**, v. 77, p. 667-674, 1996.

STEEL, E. A.; HINCKLEY, T. M.; RICHARDS, W. H.; D'AMORE, D. V. Forests then and now: Managing for ecosystem benefits, services to humans, and healthy forests across scales. In **Future Forests**, Elsevier, 2024. p. 49-64.

TEIXEIRA, G. L.; AVILA, S.; SILVEIRA, J. L. M.; RIBANI, M.; RIBANI, R. H. Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils: A potential source of vegetable oil in industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, p. 2105-2121, 2018.

YULIANTI, B.; PUTRI, K. P.; YUNIARTI, N.; AMINAH, A.; SUITA, E.; DANU; SUDRAJAT, D. J.; NURHASBYBI; SYAMSUWIDA, D.; SYAMSUWIDA, D. Seed handling of specific forest tree species: Recalcitrant and intermediate seed. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 522, p. 012015, 2020.

## 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 *Lecythis pisonis* Cambess.

A espécie *L. pisonis* (Lecythidaceae) é uma castanheira conhecida popularmente como sapucaia, sendo descrita em 1829 no estado do Espírito Santo (CAMBESSEDES, 1829). São árvores de grande porte, podendo atingir 20-30 m de altura e diâmetro de tronco de 90 cm. Produzem frutos do tipo pixídio, os quais se abrem naturalmente para a dispersão de suas sementes, sendo estas dotadas de um arilo carnoso na região do hilo, o que as tornam atrativas para morcegos e macacos (MORI; PRANCE, 1990; LORENZI, 2002; SOUZA et al., 2014). Suas castanhas são nutritivas, ricas em ácidos graxos insaturados e compostos antioxidantes, a exemplo do selênio (ROSA et al., 2020; ARAUJO et al., 2023).

A *L. pisonis* ocorre frequentemente nas Florestas Amazônica e Atlântica, sendo frequentemente observadas nos estados do Ceará, Rio de Janeiro, Bahia, Espírito Santo, Amazonas e Pará (LORENZI, 2002; SOUZA et al., 2014). Seu plantio é indicado em área com pouca luminosidade por ser classificada como secundária tardia (ANJOS et al., 2015). Suas sementes demoram aproximadamente 30 dias para começarem a emergir plântulas, sendo esta emergência desuniforme (ARAUJO, 2020). Atualmente, foi inserida dentro do grupo das plantas alimentícias não convencionais (PANC), cujas castanhas podem ser utilizadas como matéria-prima na produção de alimentos, a exemplo, do leite de sapucaia, farinhas e doces (KINUPP; LORENZI, 2021).

A castanheira *L. pisonis* possui dificuldade em ser propagada vegetativamente (ex.: alporquia), sendo as suas sementes a principal fonte de propágulo. As sementes desta espécie possuem tegumento duro, dificultando a germinação e emergência de plântulas. Estes autores também observaram que técnicas de escarificação na região lateral e adjacente ao hilo são eficientes para a superação da dormência física, alcançando emergência de plântulas de 74% (ARAUJO et al., 2020). Possuem cotilédones de reserva não fotossintetizantes e a emergência de suas plântulas é do tipo criptocotiledonar (SOUZA et al., 2014). O embrião compreende principalmente o hipocótilo e o tecido cotiledonar, podendo exibir pequenas escamas em sua extremidade (PRANCE; MORI, 1978).

As sementes dessa espécie apresentam variações em termos de tamanho e massa (ARAUJO, 2020; ROSA et al., 2020), sendo indicado a temperatura alternada 30-35 °C para a sua emergência em ambiente controlado (ROSA, 2022). Rosa (2022), indica,

portanto, a semeadura de *L. pisonis* nas florestas Atlântica e Amazônica nos meses de agosto a dezembro, levando em consideração as temperaturas máximas e mínimas destes locais.

### **1.2 Qualidade fisiológica de sementes no armazenamento associada as condições de temperatura e umidade relativa do ar.**

A conservação de sementes por meio do armazenamento permite que esses recursos genéticos sejam preservados durante centenas de anos (SOLBERG et al., 2020). Contudo, o tempo que uma semente permanece viável irá depender de características genéticas associadas às condições do ambiente externo a que estão expostas. Também é importante que durante a colheita, a maturidade fisiológica das sementes já tenha sido atingida, pois, isto irá influenciar na qualidade e viabilidade das sementes no armazenamento (BEWLEY; BLACK, 1994). Sementes ortodoxas mantêm a sua viabilidade por um maior período de tempo quando expostas a condições de armazenamento seco e fresco, deteriorando-se rapidamente com o aumento da temperatura e umidade relativa do ar (ZHANG et al., 2021).

Uma série de mecanismos encontrados em sementes ortodoxas permitem que o seu embrião adquira tolerância a dessecação (2 a 5%), a exemplo do baixo conteúdo de água das sementes após o desligamento da planta-mãe, o que permite que essas permaneçam em um estado de quiescência e sobrevivam a longos períodos de tempo. Já as sementes recalcitrantes, não toleram a dessecação do embrião (<10%), pois são liberadas da planta-mãe com altos teores de água, com metabolismo ativo e com alta sensibilidade a dessecação. Essas características permitem que sementes ortodoxas fiquem viáveis por longos períodos de tempo no armazenamento, diferente das sementes recalcitrantes, que perdem a sua viabilidade rapidamente (ROBERTS 1973; HONG; ELLIS, 1996; SUBBIAH et al., 2019).

Sementes recalcitrantes não toleram a dessecação do embrião, e o seu armazenamento deve ser realizado em condições que evitem que suas sementes percam água, contudo, isso pode dar origem a contaminações fúngicas, devido ao alto teor de água em seus tecidos (BERJAK; PAMENTER, 2008). Em função disso, o armazenamento é dificultado, como observado para a espécie *Ginkgo biloba* L., que apresentou a perda da viabilidade de suas sementes após seis meses nas temperaturas de armazenamento de 25 e 4 °C, sendo observada peroxidação lipídica no embrião e

endosperma devido à baixa eficiência do sistema antioxidante a longos períodos de armazenamento (TOMMASI et al., 2006).

O teor de água é um dos maiores responsáveis pela perda da viabilidade em sementes, sendo os seus efeitos mais acentuados em sementes recalcitrantes. Isso pode ser observado para a espécie *Madhuca latifolia* (Roxb.), cuja viabilidade das sementes foi perdida aos 35 dias devido a dessecação do embrião a conteúdos de água inferiores a 0,48 g g<sup>-1</sup> MF, quando comparado ao controle, com 100% de germinação e 0,59 g g<sup>-1</sup> MF. A dessecação das sementes ocasionou uma maior lixiviação de íons e acúmulo de radicais livres e EROs (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e OH<sup>•</sup>) nos cotilédones e no eixo embrionário, promovendo também um aumento dos processos de peroxidação lipídica e uma alta atividade de enzimas lipases e lipoxigenases (CHANDRA; KESHAVKANT, 2018). Para a espécie *Moringa oleifera* Lam. foi observado que o alto teor de água de suas sementes é o fator que mais contribuiu para os processos de deterioração (AFZAL et al., 2020).

A temperatura de armazenamento também influencia na qualidade de sementes ao longo do tempo, como observado em sementes de vegetais armazenadas por 20 anos, que mantiveram altas taxas de viabilidade, quando acondicionadas em sacos selados, em temperatura de -4 °C, observando-se também que na temperatura de 4 °C a viabilidade era praticamente perdida ou inexistente (BARTON, 1953). Muitas espécies florestais possuem características recalcitrantes, a exemplo de *Fagus sylvatica* L., sendo observado que em temperaturas e umidades mais elevadas, a perda de viabilidade é maior, correlacionando-se positivamente com a produção de EROs (PUKACKA; RATAJCZAK, 2005).

A manutenção da viabilidade de sementes de *Moringa oleifera* armazenadas por 24 meses foi decorrente do tipo de acondicionamento utilizado. Quando as sementes foram submetidas a altas condições de temperatura (30 °C) e acondicionadas em sacos aluminizados houve um aumento do teor de água das sementes (8%) e aumento da produção de malondialdeído, indicando processos de peroxidação lipídica e a perda da viabilidade. No entanto, o oposto foi observado ao utilizar sacos de papel, permitindo um menor teor de água (5%) e a manutenção da viabilidade das suas sementes (FOTOUO et al., 2020).

### **1.3 Sementes intermediárias**

Algumas espécies possuem sementes intermediárias por não se encaixarem nas classificações ortodoxas e recalcitrantes (ELLIS et al., 1990 e 1991). Sementes intermediárias resistem a desidratação a baixos conteúdos de água (10-20%) (ROBERT, 1973), contudo, em condições de baixas temperaturas a sua capacidade germinativa é afetada ou perdida (ELLIS et al., 1990; YULIANTI et al., 2020). O armazenamento em baixas temperaturas de sementes intermediárias é prejudicado, principalmente, devido a cristalização dos triacilgliceróis, sendo observado que a hidratação de sementes com triacilgliceróis cristalizados é fatal (CRANE et al., 2006). Alguns exemplos de espécies intermediárias são *Carica papaya* L. (mamão), *Coffea arabica* L. (café) e *Elaeis guineensis* Jacq. (palmeira-de-dendê), observando-se para as duas últimas citadas altas concentrações de sacarose, rafinose e estaquiose no embrião quando comparado ao endosperma. Neste mesmo estudo, as sementes recalcitrantes apresentaram baixas concentrações de oligossacarídeos (STEADMAN et al., 1996).

Alguns autores afirmam que a sensibilidade de sementes intermediárias desidratadas ao armazenamento em baixas temperaturas é devido a transição de fase das membranas do estado vítreo para o estado cristalino líquido, como observado em sementes de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim), cujos danos nas membranas foram minimizados com a embebição em água morna, evidenciando também que os danos por embebição aumentam com o envelhecimento das sementes ao longo do tempo de armazenamento (NEYA et al., 2004). Sementes intermediárias ou dormentes podem ser estimuladas por meio de tratamentos térmicos, principalmente quando estas são oriundas de regiões cujo clima é quente (CRANE et al., 2006).

### **1.4 Qualidade fisiológica de sementes durante o envelhecimento**

O envelhecimento de sementes é um processo natural e irreversível, que ocorre principalmente devido a liberação de radicais livres e EROs, responsáveis por causar danos em membranas plasmáticas, organelas, proteínas, lipídios e no próprio DNA (ZHANG et al., 2021). Danos oxidativos nas células aumentam a lixiviação de solutos e formação de malondialdeído, podendo inibir a germinação (EBONE et al., 2019). O vigor de sementes está estritamente relacionado com a sua capacidade em resistir aos danos do envelhecimento, sendo necessária a compreensão do potencial fisiológico durante a

seleção de lotes que terão um maior desempenho no campo e no armazenamento (HUANG et al., 2020).

Durante o envelhecimento de sementes algumas moléculas tornam-se mais sensíveis a oxidação por EROs, a exemplo de mRNA, principalmente devido a sua forma estrutural (fita simples) e ausência de um sistema eficiente de reparo, podendo influenciar na síntese de proteínas aberrantes e na sua posterior degradação no proteassoma (KONG; LIN, 2010; EL-MAAROUF-BOUTEAU et al., 2013). O DNA também pode sofrer danos oxidativos pela quebra da fita dupla, e se essas lesões forem de origem mutagênica, podem impedir a transcrição e replicação do DNA. Sementes envelhecidas com perda de vigor possuem um sistema de reparação de DNA prolongado, causando uma demora na síntese de novas moléculas (WATERWORTH et al., 2015).

Durante o envelhecimento controlado, a proteína  $\beta$ -mercaptopiruvato sulfotransferase é abundante em sementes de *Arabidopsis* com alto vigor e baixa em sementes deterioradas, sendo importante em mecanismos de superação de dormência, metabolismo do enxofre e homeostase em sementes. Também foi observado que uma isoforma da desidrinas RAB18, pertencente à família das proteínas LEA, diminuiu a sua concentração em sementes deterioradas, após o envelhecimento controlado. O aumento da deterioração das sementes com o envelhecimento também aumentou a concentração de proteínas carboniladas em detrimento de danos oxidativos e a mobilização de lipídios, observando-se que a enzima chave isocitrato liase (via glioxilato) aumentou em sementes controle e diminuiu em sementes deterioradas (RAJJOU et al., 2008).

### **1.5 Mudanças fisiológicas e bioquímicas associadas à viabilidade.**

Muitas alterações fisiológicas e bioquímicas ocorrem durante o processo de formação de uma semente viável. A semente madura é constituída pelo embrião, tegumento e tecido de reserva, sabendo-se que o endosperma pode ou não estar presente, já que algumas sementes armazenam suas reservas nos cotilédones. As monocotiledôneas apresentam um cotilédone e normalmente possuem endosperma como tecido de reserva, o qual será utilizado para nutrir o embrião durante a germinação (a exemplo da família Poaceae e da espécie *Ricinus communis* L. - mamona), sendo também conhecidas como albuminosas ou endospermadas. Já as eudicotiledôneas, possuem dois cotilédones, os quais normalmente são responsáveis pelo armazenamento de reservas e o endosperma é consumido durante a formação do embrião, sendo chamadas de exalbuminosas (a

exemplo da espécie *Glycine max* L. - soja e *Pisum sativum* L. - ervilha) (AGUIRRE et al., 2018; SILVA et al., 2019).

Em condições ambientais adequadas, a semente irá iniciar os processos de embebição, aumentando os processos respiratórios e reparo celular. Posteriormente, a absorção de água permanece constante, iniciando a ativação metabólica e enzimática, ocorrendo a quebra de substâncias de reserva que serão utilizadas para nutrir o embrião. Em seguida ocorrerá a fase de germinação com a protrusão da raiz primária, caracterizada por uma intensa taxa respiratória, mobilização de reservas e aumento na absorção de água pela semente (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS FILHO, 2015). As principais reservas encontradas em sementes são os carboidratos, lipídios, proteínas e a fitina (armazena íons P, Ca e Mg). Em relação ao principal tipo de reserva, as sementes podem ser classificadas em amiláceas, oleaginosas e proteicas, as quais possuem em sua composição principal amido, lipídios e proteínas, respectivamente (BAUD; LEPINIEC, 2010).

Em sementes os carboidratos são encontrados na forma de monossacarídeos (glicose e frutose), dissacarídeos (sacarose) e polissacarídeos (amido). O amido é formado por moléculas de glicose, sendo este classificado em amilose e amilopectina. Os lipídios em sementes estão na forma de ácidos graxos e triacilgliceróis, e são ricas fontes de energia durante a germinação (TAIZ et al., 2017). A diminuição de ácidos graxos em sementes está associada com o aumento dos processos de deterioração, podendo ser uma característica indicada para análises da qualidade fisiológica no armazenamento (BELLANI et al., 2012).

Sementes oleaginosas possuem aproximadamente 50% de lipídios em sua composição, o que dificulta o seu armazenamento em baixas temperaturas (-20 °C), provavelmente, em decorrência da cristalização das moléculas de lipídios (BALLESTEROS et al., 2019). Durante o transporte de sementes oleaginosas também deve-se evitar o aumento da temperatura e umidade relativa do ar, visando a evitar a proliferação de microrganismos patogênicos (MILTON; PAWSEY, 1988).

Dentro da família Poaceae já foi observado que durante o período de dessecação das sementes ocorre um acúmulo de açúcares rafinose e sacarose, e uma maior relação rafinose/sacarose (LEHNER et al., 2006). Sementes ortodoxas, a exemplo da *Vicia hirsuta* (L.) Gray, têm a sua tolerância a dessecação associada a um aumento da concentração da enzima galactinol sintase, a qual é responsável pela catalização de

oligossacarídeos da série rafínosica (GOJŁO et al., 2015). Estes oligossacarídeos são de extrema importância em sementes ortodoxas, pois, conferem maior resistência à dessecação do embrião devido a fatores abióticos, e podem diminuir danos causados pelo estresse oxidativo (JING et al., 2018).

As proteínas são formadas por aminoácidos unidos por ligações peptídicas, sendo ricas fontes de nitrogênio e carbono. Podem ser encontradas na forma de enzimas, atuando em reações enzimáticas, ou na forma de reserva. Durante a maturação ocorre a fase de dessecação do embrião, o que permite a sua sobrevivência a condições ambientais desfavoráveis. Durante este processo, muitos mecanismos de proteção incluem a síntese de proteínas do choque térmico e proteínas LEA (BEWLEY, BLACK, 1994; WANG et al., 2015; WATERWORTH et al., 2015). Também já foi observado que a dormência de sementes de cevada está associada a uma diminuição de proteínas envolvidas na tolerância à dessecação, apresentando uma atividade bioquímica distinta de sementes não dormentes (OSAMA et al., 2021).

Proteínas LEA são aminoácidos hidrofílicos, resistentes a altas temperaturas, importantes para a manutenção da conformação das membranas celulares, e conferem uma vantagem em ambientes estressantes, sendo mais abundantes em sementes ortodoxas. Normalmente ocorrem nas etapas finais da embriogênese, e têm como precursor o ácido abscísico (ABA). A expressão de genes para a síntese de LEA aumenta em função da seca, frio ou salinidade, e a sua expressão é superior em sementes, quando comparada a outros tecidos vegetais (HUNDERTMARK; HINCHA, 2008).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFZAL, I.; JAFFAR, I.; ZAHID, S.; REHMAN, H. U.; BASRA, S. M. A. Physiological and biochemical changes during hermetic storage of *Moringa oleifera* seeds. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 435-441, 2020.
- AGUIRRE, M.; KIEGLE, E.; LEO, G.; EZQUER, I. Carbohydrate reserves and seed development: An overview. **Plant Reproduction**, v. 31, p. 263-290, 2018.
- ANJOS, L.; OLIVA, M. A.; KUKI, K. N.; MIELKE, M. S.; VENTRELLA, M. C.; GALVÃO, M. F.; PINTO, L. R. Key leaf traits indicative of photosynthetic plasticity in tropical tree species. **Trees**, v. 29, p. 247-258, 2015.
- ARAUJO, C. P. **Árvores frutíferas funcionais da Floresta Atlântica: diversidade fenotípica e molecular, composição hormonal, nutricional e antioxidante em *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata***. 2020. 104 fls. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, Espírito Santo. 2020.
- ARAUJO, C. P.; ALEXANDRE, R. S.; ROSA, T. L. M.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MACEDO PEZZOPANE, J. E. Overcoming seed dormancy and rooting in air-layering polyembryonic seedlings of sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, p. 816-821, 2020.
- ARAUJO, C. P.; SIMÕES, I. M.; ROSA, T. L.; MELLO, T.; CANL, G. B.; FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; SOUZA, T. S.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, P. F.; NOVAES, F. J. M.; GONÇALVES, F. G.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Functional fruit trees from the Atlantic and Amazon Forests: selection of potential chestnut trees rich in antioxidants, nutrients, and fatty acids. **Foods**, v. 12, p. 4422, 2023.
- BALLESTEROS, D.; HILL, L. M.; LYNCH, R. T.; PRITCHARD, H. W.; WALTERS, C. Longevity of preserved germplasm: the temperature dependency of aging reactions in glassy matrices of dried fern spores. **Plant and Cell Physiology**, v. 60, p. 376-392, 2019.
- BARTON, L. V. Seed storage and viability. **Contributions from Boyce Thompson Institute**, v. 17, p. 87-103, 1953.
- BAUD, S.; LEPINIEC, L. Physiological and developmental regulation of seed oil production. **Progress in Lipid Research**, v. 3, p. 235-249, 2010.

- BELLANI, L. M.; SALVINI, L.; DELL'AQUILA, A.; SCIALABBA, A. Reactive oxygen species release, vitamin E, fatty acid and phytosterol contents of artificially aged radish (*Raphanus sativus* L.) seeds during germination. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 34, p. 1789-1799, 2012.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. From Avicennia to Zizania: seed recalcitrance in perspective. **Annals of Botany**, v. 101, p. 213-228, 2008.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. Plenum Press, New York. Google Scholar. 1994.
- CAMBESSEDES, J. *Lecythis pisonis*. In: SAINT-HILAIRE, A. de; CAMBESSÈDES, J.; JUSSIEU, A. de. *Flora Brasiliae Meridionalis*, v. 2, n. 20, p. 377, 1829.
- CHANDRA, J.; KESHAVKANT, S. Desiccation-induced ROS accumulation and lipid catabolism in recalcitrant *Madhuca latifolia* seeds. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 24, p. 75-87, 2018.
- CRANE, J.; KOVACH, D.; GARDNER, C.; WALTERS, C. Triacylglycerol phase and 'intermediate' seed storage physiology: a study of *Cuphea carthagenensis*. **Planta**, v. 223, p. 1081-1089, 2006.
- EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 145, p. 34-42, 2019.
- ELLIS R. H.; HONG T. D.; ROBERTS E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v. 41, p. 1167-1174, 1990.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, Y. E. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, v. 1, p. 69-72, 1991
- EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; MEIMOUN, P.; JOB, C.; JOB, D.; BAILLY, C. Role of protein and mRNA oxidation in seed dormancy and germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 77, 2013.
- FOTOUO-M, H.; VORSTER, J.; DU TOIT, E. S.; ROBBERTSE, P. J. The effect of natural long-term packaging methods on antioxidant components and malondialdehyde

content and seed viability *Moringa oleifera* oilseed. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 17-24, 2020.

GOJŁO, E.; PUPEL, P.; LAHUTA, L. B.; PODLIŃSKI, P.; KUCEWICZ, M.; GÓRECKI, R. J. The acquisition of desiccation tolerance in developing *Vicia hirsuta* seeds coincides with an increase in galactinol synthase expression and soluble  $\alpha$ -D-galactosides accumulation. **Journal of Plant Physiology**, v. 184, p. 37-48, 2015.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Bioversity International, 1996.

HUANG, F.; LI, J.; LI, H.; LIU, L.; SHI, W.; LI, Z. Assessment of genetic integrity of Siberian wild rye (*Elymus sibiricus* L.) germplasm conserved *ex situ* and under accelerated aging using microsatellite markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 67, p. 367-379, 2020.

HUNDERTMARK, M.; HINCHA, D. K. LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. **BMC Genomics**, v. 9, p. 1-22, 2008.

JING, Y.; LANG, S.; WANG, D.; XUE, H.; WANG, X. F. Functional characterization of galactinol synthase and raffinose synthase in desiccation tolerance acquisition in developing *Arabidopsis* seeds. **Journal of Plant Physiology**, v. 230, p. 109-121, 2018.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2021. 768p.

KONG, Q. M.; LIN, C. L. G. Oxidative damage to RNA: mechanisms, consequences, and diseases. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, p. 1817-1829, 2010.

LEHNER, A.; BAILLY, C.; FLECHEL, B.; POELS, P.; CÔME, D.; CORBINEAU, F. Changes in wheat seed germination ability, soluble carbohydrate and antioxidant enzyme activities in the embryo during the desiccation phase of maturation. **Journal of Cereal Science**, v. 43, p. 175-182, 2006.

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

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas**. Londrina: Abrates, 2015.

MILTON, R. F.; PAWSEY, R. K. Spoilage relating to the storage and transport of cereals and oil seeds. **International Journal of Food Microbiology**, v. 7, p. 211-217, 1988.

MORI, S. A.; PRANCE, G. T. **Lecythidaceae - Part II: The zygomorphic-flowered New World genera (Bertholletia, Corythophora, Couratari, Couroupita, Eschweilera, and Lecythis)**. Flora Neotropica Monographs, v. 21, n. 2, p. 1-376, 1990.

NEYA, O.; GOLOVINA, E. A.; NIJSSE, J.; HOEKSTRA, F. A. Ageing increases the sensitivity of neem (*Azadirachta indica*) seeds to imbibitional stress. **Seed Science Research**, v. 14, p. 205-217, 2004.

OSAMA, S. K.; KERR, E. D.; YOUSIF, A. M.; PHUNG, T. K.; KELLY, A. M.; FOX, G. P.; SCHULZ, B. L. Proteomics reveals commitment to germination in barley seeds is marked by loss of stress response proteins and mobilisation of nutrient reservoirs. **Journal of Proteomics**, v. 242, p. 104221, 2021.

PRANCE, G. T.; MORI, S. A. Observations on the fruits and seeds of neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, v. 30, p. 21-33, 1978.

PUKACKA, S.; RATAJCZAK, E. Production and scavenging of reactive oxygen species in *Fagus sylvatica* seeds during storage at varied temperature and humidity. **Journal of Plant Physiology**, v. 162, p. 873-885, 2005.

RAJJOU, L.; LOVIGNY, Y.; GROOT, S. P.; BELGHAZI, M.; JOB, C.; JOB, D. Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: a comparison between artificial and natural aging protocols. **Plant Physiology**, v. 148, p. 620-641, 2008.

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

ROSA, T. L. M. **Fisiologia de sementes e metabolismo antioxidativo na emergência de *Lecythis pisonis* Cambess.: inferências sobre temperatura ótima e aptidão climática para a semeadura**. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. 47 f.

ROSA, T. L. M.; DE ARAUJO, C. P.; KAMKE, C.; FERREIRA, A.; DA SILVA FERREIRA, M. F.; DE OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; OTONI, W. C.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Sapucaia nut: Morphophysiology, minerals content, methodological validation in image analysis,

phenotypic and molecular diversity in *Lecythis pisonis* Cambess. **Food Research International**, v. 137, p. 109383, 2020.

SILVA, G. R. **Produção, tecnologia e armazenamento de sementes**. Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 2019, 192 p.

SOLBERG, S. Ø.; YNDGAARD, F.; ANDREASEN, C.; VON BOTHMER, R.; LOSKUTOV, I. G.; ASDAL, Å. Long-term storage and longevity of orthodox seeds: A systematic review. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1007, 2020.

SOUZA, A. S.; MARGALHO, L.; PRANCE, G. T.; GURGEL, E. S. C.; GOMES, J. I.; DE CARVALHO, L. T.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V. Conhecendo espécies de plantas da Amazônia: Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess. Lecythidaceae). p. 1-5, 2014. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/999043/1/COM250.pdf>>. acesso em: 24 de janeiro de 2024.

STEADMAN, K. J.; PRITCHARD, H. W.; DEY, P. M. Tissue-specific soluble sugars in seeds as indicators of storage category. **Annals of Botany**, v. 77, p. 667-674, 1996.

SUBBIAH, A.; RAMDHANI, S.; PAMMENTER, N. W.; MACDONALD, A. H. Towards understanding the incidence and evolutionary history of seed recalcitrance: an analytical review. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 37, p. 11-19, 2019.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TOMMASI, F.; PACIOLLA, C.; DE PINTO, M. C.; GARA, L. Effects of storage temperature on viability, germination and antioxidant metabolism in *Ginkgo biloba* L. seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 359-368, 2006.

WANG, W. Q.; LIU, S. J.; SONG, S. Q.; MØLLER, I. M. Proteomics of seed development, desiccation tolerance, germination and vigor. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 86, p. 1-15, 2015.

WATERWORTH, W. M.; BRAY, C. M.; WEST, C. E. The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, p. 3549-3558, 2015.

YULIANTI, B.; PUTRI, K. P.; YUNIARTI, N.; AMINAH, A.; SUTA, E.; DANU; SUDRAJAT, D. J.; NURHASYBI; SYAMSUWIDA, D.; SYAMSUWIDA, D. Seed handling of specific forest tree species: Recalcitrant and intermediate seed. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 522, p. 012015, 2020.

ZHANG, K.; ZHANG, Y.; SUN, J.; MENG, J.; TAO, J. Deterioration of orthodox seeds during ageing: influencing factors, physiological alterations, and the role of reactive oxygen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 158, p. 475-485, 2021.

**CAPÍTULO I – CHOQUE TÉRMICO EM TEMPERATURA ELEVADA POR  
UM CURTO PERÍODO DE TEMPO AUMENTA O SUCESSO GERMINATIVO  
DA CASTANHEIRA *Lecythis pisonis* CAMBESS.**

## RESUMO

ARAUJO, Caroline Palacio de. **Choque térmico em temperatura elevada por um curto período de tempo aumenta o sucesso germinativo da castanheira *Lecythis pisonis* Cambess.** 2024. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

As plantas são formas de vida sésseis, o que as tornam mais suscetíveis às variações de temperaturas do ambiente, principalmente, durante a sua reprodução e adaptação. A germinação é uma etapa sensível e crucial no ciclo de vida das plantas produtoras de sementes e ocorre dentro de faixas de temperaturas adequadas para a espécie. Objetivou-se estudar temperaturas fixas e choques térmicos em diferentes tempos de exposição na fisiologia de sementes e crescimento inicial de plântulas de *L. pisonis*. Avaliou-se o vigor, emergência, crescimento de plântulas, fluorescência da clorofila, índice de clorofila *a* e *b*, rendimento quântico máximo do PS II, enzimas do estresse oxidativo, peroxidação lipídica, peróxido de hidrogênio e metilação do DNA nas plântulas. No experimento 1, as sementes de *L. pisonis* expostas ao choque térmico 30-45 °C (20 h/4 h), apresentaram alta emergência de plântulas (88%), vigor e um sistema antioxidante eficiente, com o aumento da atividade das enzimas SOD, CAT e APX. Este mesmo tratamento apresentou altas concentrações de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, indicando que este pode ter atuado como uma molécula sinalizadora favorecendo a emergência de plântulas. Também observou-se no experimento 1 que as temperaturas fixas 40, 45 e 50 °C acarretam a perda da viabilidade das sementes e que temperaturas elevadas por longos períodos de tempo causam a diminuição do vigor, deterioração das sementes, danos no aparelho fotossintético (PS II) e formação de plântulas com ausência de sistema radicular. No experimento 2, observou-se que o tratamento 30-45 °C (21 h/3 h) alcançou altas porcentagens de emergência (84%) e vigor em um curto período de tempo (23 dias), corroborando com os resultados do experimento 1. Este tratamento também proporcionou alta atividade de SOD, CAT e APX, evidenciando um sistema antioxidante eficiente. No experimento 2, observou-se que a qualidade das plântulas foi afetada no choque térmico 30-45 °C quando expostas na temperatura de 45 °C por 5, 6 e 7 h. Conclui-se com este estudo que sementes de *L. pisonis* não toleram limites longos de exposição a temperaturas elevadas, entretanto, expressam maior vigor e emergência de plântulas quando submetidas por um curto

período de tempo a essas condições. Sugere-se o choque térmico 30-45 °C nos tempos de exposição 20 h/4 h e 21 h/3 h como ótimas para a emergência de plântulas de *L. pisonis*.

**Palavras-chave:** choque térmico, estresse oxidativo, vigor de sementes, enzimas antioxidantes, fluorescência da clorofila.

## ABSTRACT

ARAUJO, Caroline Palacio de. **Thermal shock at high temperature for a short period of time increases the germination success of the *Lecythis pisonis* Cambess chestnut tree.** 2024. Thesis (Doctorate in Forestry Sciences) - Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Advisor: Prof. DSc. Rodrigo Sobreira Alexandre.

Plants are sessile life forms, which makes them more susceptible to environmental temperature variations, especially during their reproduction and adaptation. Germination is a sensitive and crucial stage in the life cycle of seed-producing plants and occurs within temperature ranges suitable for the species. The objective of this study was to investigate fixed temperatures and thermal shocks at different exposure times on the physiology of seeds and initial growth of *L. pisonis* seedlings. Vigor, emergence, seedling growth, chlorophyll fluorescence, chlorophyll *a* and *b* index, maximum PS II quantum yield, oxidative stress enzymes, lipid peroxidation, hydrogen peroxide, and DNA methylation in seedlings were evaluated. In experiment 1, *L. pisonis* seeds exposed to thermal shock 30-45 °C (20 h/4 h) showed high seedling emergence (88%), vigor, and an efficient antioxidant system, with increased activity of SOD, CAT, and APX enzymes. This same treatment showed high concentrations of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, indicating that it may have acted as a signaling molecule favoring seedling emergence. It was also observed in experiment 1 that fixed temperatures of 40, 45, and 50 °C led to loss of seed viability, and that high temperatures for long periods caused decreased vigor, seed deterioration, damage to the photosynthetic apparatus (PS II), and formation of seedlings with absent root systems. In experiment 2, it was observed that the treatment 30-45 °C (21 h/3 h) achieved high percentages of emergence (84%) and vigor in a short period of time (23 days), corroborating with the results of experiment 1. This treatment also provided high activity of SOD, CAT, and APX, evidencing an efficient antioxidant system. In experiment 2, it was observed that the quality of seedlings was affected in the thermal shock 30-45 °C when exposed at a temperature of 45 °C for 5, 6, and 7 hours. It is concluded from this study that *L. pisonis* seeds do not tolerate long exposure to high temperatures, however, they express greater vigor and seedling emergence when subjected to short periods of time under these conditions. Thermal shock 30-45 °C at exposure times 20 h/4 h and 21 h/3 h are suggested as optimal for the emergence of *L. pisonis* seedlings.

**Keywords:** thermal shock, oxidative stress, seed vigor, antioxidant enzymes, chlorophyll fluorescence.

## 1. INTRODUÇÃO

Toda biosfera depende do sistema climático e variações abruptas de temperaturas podem afetar a sobrevivência e distribuição geográfica de muitas espécies de plantas e animais, principalmente, em ecossistemas vulneráveis como a Floresta Atlântica e Amazônica (SCARANO; CEOTTO, 2015; EVANGELISTA-VALE et al., 2021). Temperaturas que ultrapassem os limites máximo e mínimo tolerável durante a germinação, induzem a perda de viabilidade das sementes, sendo estes limites específicos dentro de cada espécie (DÜRR et al., 2015). A temperatura influencia diretamente na germinação e expressão do vigor em sementes, pois afeta a velocidade das taxas respiratórias, da absorção de água, da atividade enzimática, das reações bioquímicas necessárias para o transporte de compostos de reservas para o embrião e também pode atuar na superação da dormência (BORGHETTI, 2004).

Algumas espécies necessitam de um choque térmico em temperaturas elevadas por um curto período de tempo para estimular a germinação das suas sementes, contudo, por longos períodos de exposição a viabilidade tende a decrescer, sendo a sobrevivência favorecida nas espécies com sementes grandes e tegumento espesso (BELL; WILLIAMS, 1998). Sementes de *Lecythis pisonis* Cambess. possuem tegumento duro e espesso (ARAUJO, 2020), constituído por 60% de lignina (ROSA et al., 2020). Essas características são comuns em sementes com dormência física, dificultando a embebição de água e germinação (NIKOLAEVA; 1969; BASKIN; BASKIN, 2004). A utilização de choques térmicos em temperatura elevada, de forma alternada, ao invés de constantes, pode atuar na superação da dormência física em espécies lenhosas (VILLALOBOS et al., 2002). O contato das sementes com a água, após o choque térmico, promove aberturas no tegumento e favorece a embebição das sementes (JAYASURIYA et al., 2009).

A espécie *L. pisonis* é propagada exclusivamente por sementes (ARAUJO et al., 2020; ARAUJO, 2020; ROSA et al., 2020; ROSA, 2022), possuindo dificuldade na propagação vegetativa (MELLO et al., 2020; ARAUJO et al., 2020; BERNARDES et al., 2020). Contudo, as sementes de *L. pisonis* apresentam emergência de plântulas lenta e desuniforme, carecendo de longos períodos de tempo para a produção de mudas (ARAUJO, 2020). Atualmente, a temperatura mais indicada para a emergência de plântulas desta espécie é a alternância 30-35 °C, no entanto, este tratamento apresentou tempo médio de emergência superior a 30 dias (ROSA, 2022). Brasil (2013) sugere a utilização de temperaturas alternadas de 20-30 °C e temperaturas fixas de 25 e 30 °C, mas estas não alcançaram taxas satisfatórias de emergência de plântulas. Ainda não existem

estudos cuja temperatura possibilitou uma maior expressão do vigor em sementes de *L. pisonis*, permitindo a produção de mudas em um menor tempo. Além disso, também é necessário compreender o comportamento fisiológico e epigenético de suas plântulas em relação a temperatura utilizada.

Esta espécie possui grande importância como produtora de castanhas funcionais, as quais são indicadas para a substituição de outros alimentos como fonte de selênio, nutrientes e compostos antioxidantes (DEMOLINER et al., 2018a, b; ROSA et al., 2020; POLMANN et al., 2021; ARAUJO et al., 2023). Em função disso, o sucesso para a sua conservação (ARAUJO, 2024) e utilização em programas de reflorestamento necessita da compreensão das condições ótimas de temperaturas para sua germinação, como observado por Rosa (2022), a qual recomenda os meses de agosto a dezembro como ideais para semeadura de *L. pisonis* nas florestas Atlântica e Amazônica, levando em consideração as temperaturas máximas e mínimas destes biomas, coincidindo com a época de abertura dos frutos e liberação das sementes.

Sementes vigorosas possuem um sistema antioxidante enzimático eficiente, sendo isso uma das estratégias para minimizar danos oxidativos ocasionados por radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) durante a germinação (KUMAR et al., 2021). A formação de radicais livres e EROs em plantas pode ocorrer por inúmeras formas, podendo citar os fatores externos do ambiente (ex.: salinidade do solo, altas temperaturas e seca) ou por fatores internos decorrentes de processos metabólicos (ex.: respiração e fotossíntese). Dentre as enzimas antioxidantes, a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) são responsáveis pela manutenção da viabilidade, impedindo processos de peroxidação lipídica, oxidação de DNA, mRNA e proteínas (LI et al., 2022).

Em função disto, objetivou-se estudar temperaturas fixas e choques térmicos em diferentes tempos de exposição na fisiologia de sementes e crescimento inicial de plântulas de *L. pisonis*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização da área de estudo e beneficiamento das sementes**

Foram colhidas sementes de *L. pisonis* em árvores localizadas no município de Laranja da Terra, Espírito Santo, Brasil (Figura 1), o qual abrange 458,37 km<sup>2</sup> e possui clima tropical chuvoso e inverno seco. Dados históricos de 30 anos (1984-2014) relatam uma temperatura média anual que varia entre 20,9 e 23,8 °C (Figura 1), contudo, alguns

meses do ano possuem temperaturas mais elevadas, chegando a 33,2 °C para o mês de fevereiro. Essa região passa por períodos de seca entre os meses de maio a setembro e a sua precipitação anual é de 1.050,1 mm (INCAPER, 2023). Também possui altitude média em relação ao nível do mar de 190 metros (PMLT, 2023).

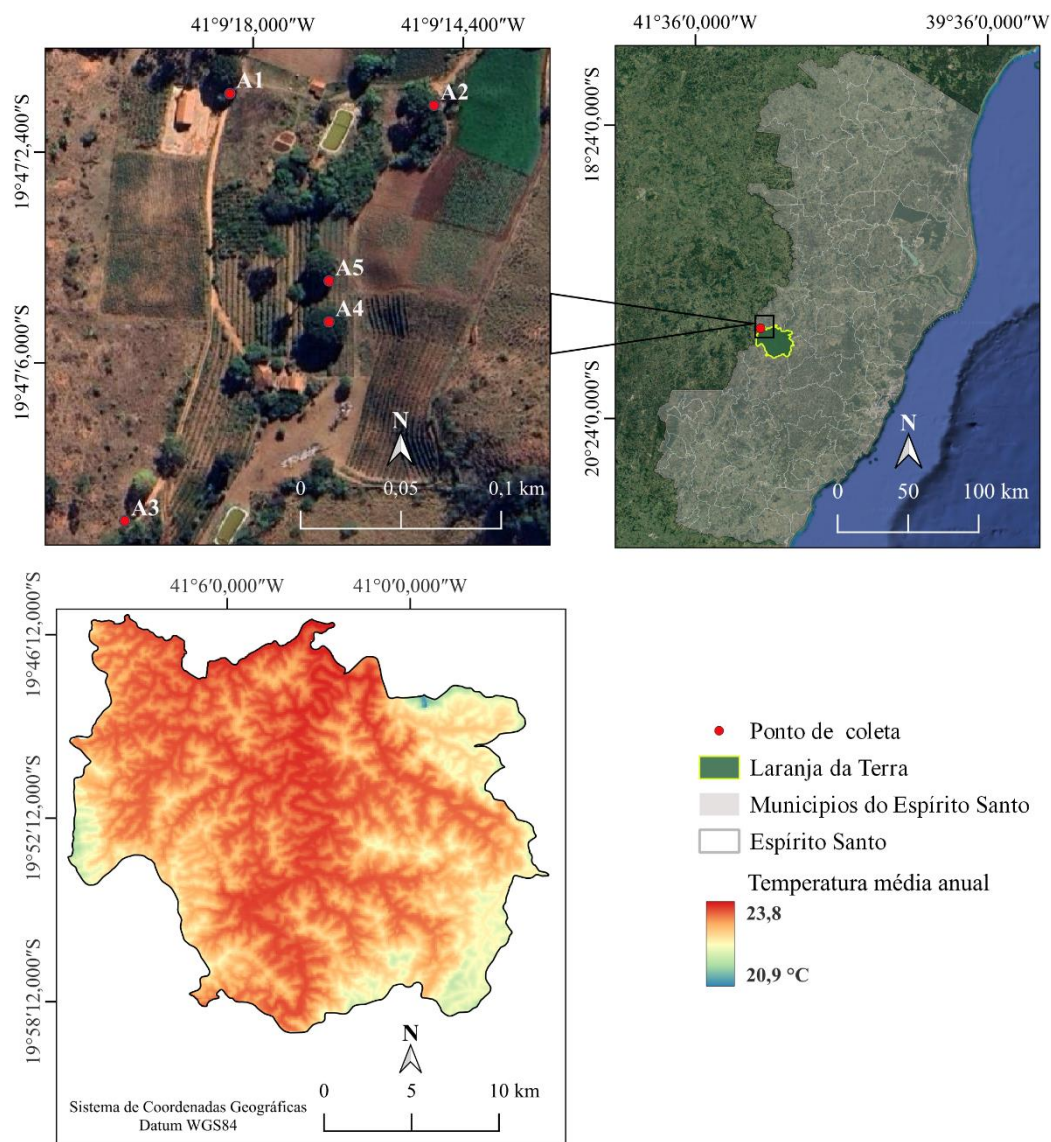


**Figura 1.** Coordenadas geográficas das árvores de *L. pisonis* onde foram realizadas as colheitas das sementes e mapa de temperatura do município de Laranja da Terra, ES, Brasil, evidenciando a média anual em um período histórico de 30 anos (1984-2014). Fonte dos dados: (INCAPER, 2023).

Após a colheita, as sementes foram levadas para o Laboratório de Sementes Florestais, pertencente ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) para a realização do beneficiamento. Inicialmente retirou-se o arilo carnososo localizado na região do hilo, seguido da limpeza superficial do tegumento das sementes (uma por vez) com o auxílio de um borrifador, utilizando-se álcool 70° e hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5%. Também foi realizado o descarte de sementes leves (ausência de endosperma), contaminadas e trincadas.

## ***2.2 Experimento 1: Temperaturas fixas 30, 35, 40, 45 e 50 °C e choques térmicos na qualidade fisiológica de sementes e mudas de *L. pisonis*.***

O experimento 1 foi baseado em estudos com a espécie *L. pisonis* realizado por Rosa (2022). Após o beneficiamento, as sementes de uma amostra composta de todas as árvores, foram semeadas em bandejas de polipropileno (30,3 x 22,1 x 7,5 cm), com capacidade para 3 L, contendo substrato orgânico Terra Nutri®. Em seguida, as bandejas foram dispostas em câmaras de germinação do tipo demanda bioquímica de oxigênio (BOD) e foram expostas a temperaturas fixas (30; 35; 40; 45 e 50 °C) (Figura 2A) e choques térmicos nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40; 35-45; 35-50; 40-45; 40-50; 45-50 °C nos tempos de exposição 20 h/4 h e 21 h/3 h (Figura 2B). Todos os tratamentos foram expostos a um fotoperíodo de 8 h/16 h (escuro/luz).

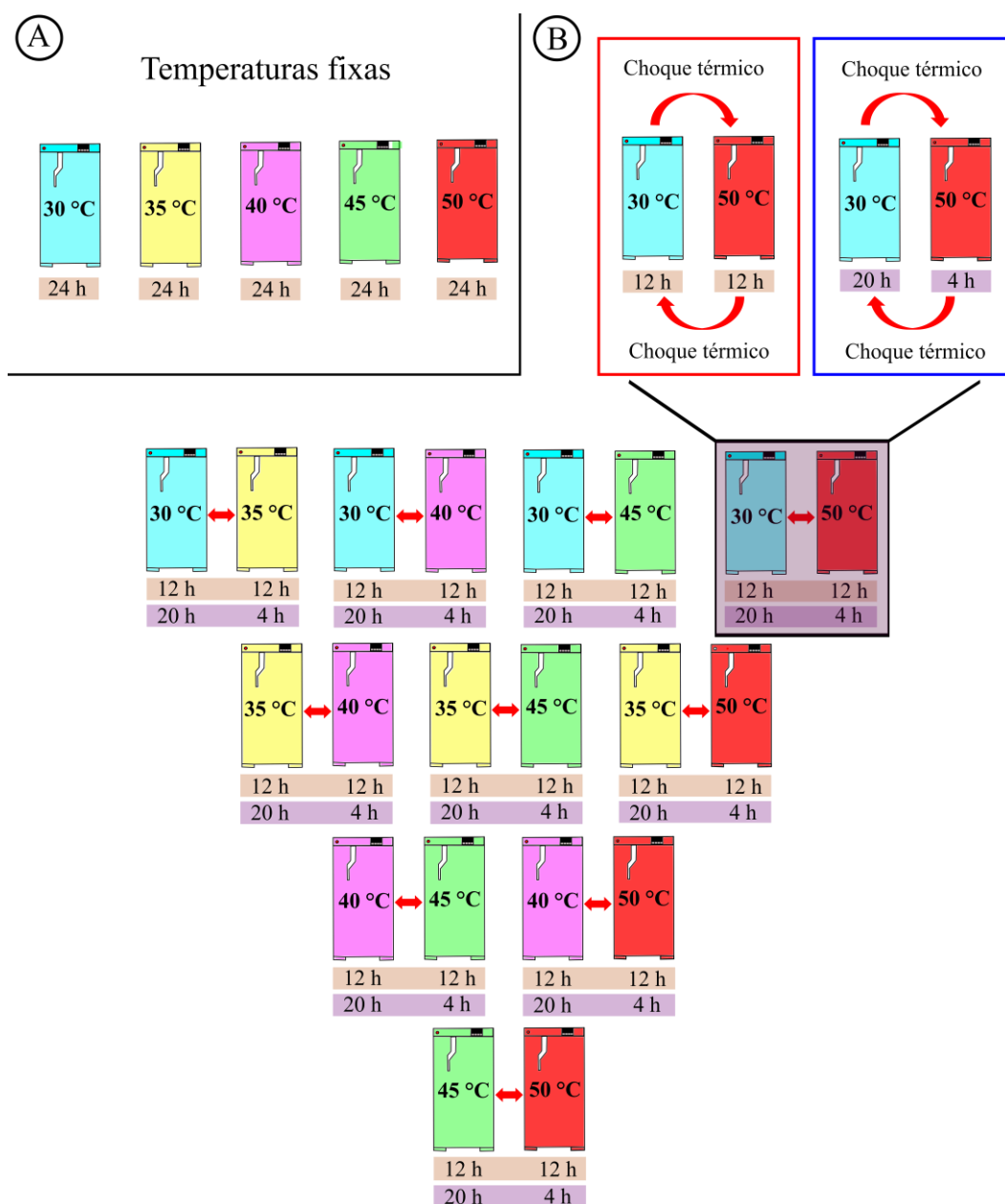


**Figura 2.** (A) temperaturas fixas (30; 35; 40; 45 e 50 °C) e (B) choques térmicos 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40; 35-45; 35-50; 40-45; 40-50; 45-50 °C nos tempos de exposição 20 h/4 h e 21 h/3 h na emergência e crescimento de plântulas de *L. pisonis*.

### 2.3 Experimento 2: Temperaturas fixas 30 e 45 °C e choque térmico (30-45 °C) na qualidade fisiológica de sementes e mudas de *L. pisonis*.

Com base no experimento 1, conduziu-se o experimento 2 com temperaturas fixas (30 e 45 °C) (Figura 3A) e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,05 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h) (Figura 3B).

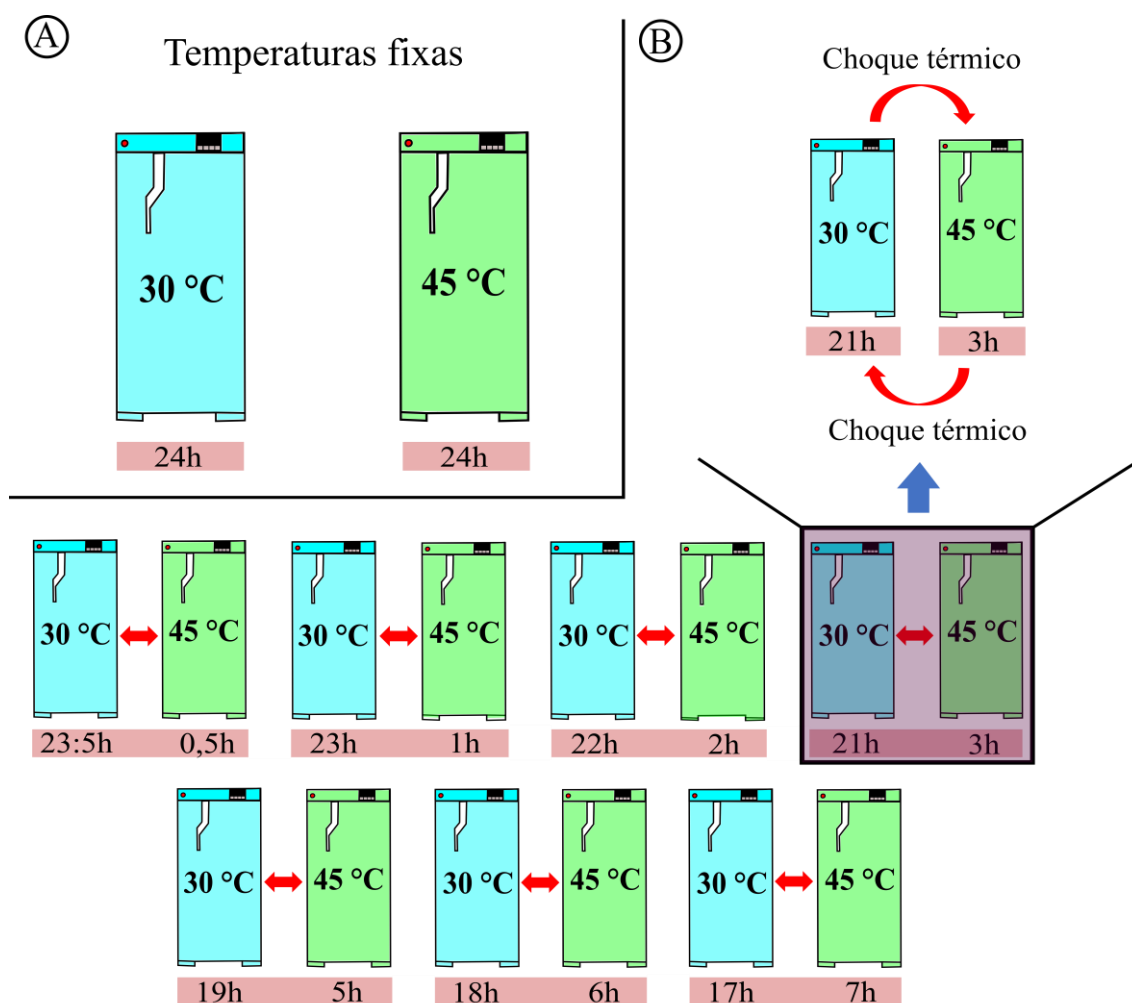


**Figura 3.** (A) temperaturas fixas (30 e 45 °C) e (B) choque térmico 30-45 °C nos tempos de exposição 23,05 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h na emergência e crescimento de plântulas de *L. pisonis*.

#### 2.4 Emergência, vigor e crescimento de mudas

Durante um período de 90 dias avaliou-se a emergência (%) (BRASIL, 2009), o índice de velocidade de emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962) e o tempo médio de emergência (TME, dias) das plântulas (LABOURIAU, 1983). Posteriormente, foram analisados manualmente o comprimento de parte aérea (cm) e o comprimento de raiz (cm) com o auxílio de uma régua com escala centimétrica (cm) e milimétrica (mm). O diâmetro de coleto (mm) foi avaliado por meio de um paquímetro digital (Snauzer<sup>®</sup>, precisão 0,01 mm). Para a realização da massa seca da parte aérea (g), massa seca da raiz (g) e massa seca total (g) as amostras foram secas em estufa de ar quente (Adamo<sup>®</sup>) regulada a 60 °C

até os materiais atingirem peso constante, sendo em seguida pesadas em balança analítica de precisão 0,0001.

## **2.5 Índice de clorofilas**

Foram avaliados o índice de clorofila *a* e *b* (ChlorofiLOG<sup>®</sup>, modelo CFL 1030, Falker) das folhas referentes das mudas de cada tratamento, sendo os dados obtidos em unidades adimensionais pelo equipamento ClorofiLOG<sup>®</sup> (FALKER, 2008).

## **2.6 Fluorescência da clorofila**

Foi analisado o rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) em folhas expostas ao escuro durante um período de 30 min por meio do equipamento fluorímetro (modelo FluorPen FP 100), sendo  $F_v$  = fluorescência variável e  $F_m$  = fluorescência máxima. Em ambas as análises utilizaram-se quatro repetições de cinco mudas, totalizando 20 mudas por tratamento.

## **2.7 Análises bioquímicas**

Com base nos resultados morfológicos e fisiológicos, selecionou-se alguns tratamentos para a realização das análises bioquímicas. Para o experimento 1, foram selecionados os tratamentos referentes as temperaturas fixas de 30 e 35 °C, e os choques térmicos de 30-35; 30-45 e 35-45 nos tempos de exposição 12 h/12 h e 20 h/4 h. Para o experimento 2, selecionou-se a temperatura fixa de 30 °C e o choque térmico 30-45 °C nos tempos de exposição 23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h. Todas as leituras foram realizadas em espectrofotômetro nos comprimentos de ondas apropriados.

### **2.7.1 Enzimas do estresse oxidativo**

Para a extração das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e ascorbato peroxidase (APX), um mix de plântulas foram maceradas em moinho (IKA A11 basic, modelo A11 B 532) juntamente com nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e 0,5 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) para evitar oxidação dos tecidos. Posteriormente, pesou-se 200 mg de massa fresca referentes a cada tratamento em Eppendorfs<sup>®</sup> e acrescentou-se 1500 µL de solução tampão por reação, constituída de 375 µL de fosfato de potássio 400 mM (pH 7,8), 15 µL de EDTA 10 mM, 75 µL de ácido ascórbico 200 mM e 1035

$\mu\text{L}$  de água de osmose reversa. As amostras foram centrifugadas por 10 min a 12000 rpm a 4 °C, sendo em seguida coletado o sobrenadante (BIEMELT et al., 1998).

As enzimas SOD, CAT e APX foram incubadas em placa Elisa, pipetando-se 10  $\mu\text{L}$  de água de osmose reversa nos três primeiros poços (branco) e triplicatas das amostras referentes a cada tratamento realizado. Para a incubação da enzima SOD foi adicionado 190  $\mu\text{L}$  da solução tampão que constou por reação um mix contendo 100  $\mu\text{L}$  de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), 40  $\mu\text{L}$  de metionina 70 mM, 3  $\mu\text{L}$  de EDTA 10  $\mu\text{M}$ , 30  $\mu\text{L}$  de água, 15  $\mu\text{L}$  de NBT 1 mM e 2  $\mu\text{L}$  de riboflavina 0,2 mM. Em seguida, a placa Elisa ficou exposta a luz durante 7 min, para posterior leitura a 560 nm (GIANNOPOLITIS; REIS, 1977).

Para a incubação da CAT preparou-se uma solução tampão de volume final de 180  $\mu\text{L}$ , contendo um mix de 90  $\mu\text{L}$  de fosfato de potássio 200 mM (pH 7) e 72  $\mu\text{L}$  de água, a qual foi incubada em banho-Maria a 30 °C. Em seguida, pipetou-se na placa Elisa 9  $\mu\text{L}$  da amostra e 162  $\mu\text{L}$  da solução tampão para cada reação, sendo acrescentado 9  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 250 mM na hora da realização da leitura, utilizando-se o comprimento de ondas de 240 nm e coeficiente de extinção molar de 36  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  (HAVIR; MCHALE, 1987).

Para a enzima APX foi utilizada a solução tampão contendo 90  $\mu\text{L}$  de fosfato de potássio 200 mM (pH 7), 9  $\mu\text{L}$  de ácido ascórbico 10 mM e 63  $\mu\text{L}$  de água de osmose reversa, sendo esta solução tampão incubada em banho-Maria a 30 °C. Em seguida, adicionou-se na placa Elisa 9  $\mu\text{L}$  das amostras e 9  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 2 mM na hora da realização da leitura, a qual foi realizada no comprimento de ondas 290 nm, com coeficiente de extinção molar de 2,8  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ . As leituras de CAT e APX são feitas leituras a cada 15 segundos por 3 minutos

### **2.7.2 Peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio**

Pesou-se em Eppendofs® 200 mg das amostras maceradas em  $\text{N}_2$  líquido e PVPP, acrescentando 1500  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético (TCA) 1%. As amostras foram centrifugadas a 12000 g por 15 min a 4 °C, sendo o sobrenadante coletado.

Para a quantificação da peroxidação lipídica (MDA - malondialdeído) utilizou-se triplicatas contendo 125  $\mu\text{L}$  do sobrenadante e 250  $\mu\text{L}$  do meio de reação contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. As amostras foram levadas em seguida para o banho-Maria na temperatura de 95 °C por 30 min. A reação foi paralisada por resfriamento em gelo, sendo pipetado 180  $\mu\text{L}$  da reação em placa Elisa

contendo branco nos três primeiros poços, sendo a leitura feita nos comprimentos de ondas 535 e 600 nm. A equação utilizada para a realização dos cálculos foi  $[MDA] = (A_{535} - A_{600}) / E \times b$ , sendo  $E$  = coeficiente de extinção molar ( $1,56 \times 10^5$ ) e  $b$  = comprimento ótico (1), sendo expressa em  $\mu\text{mol}$  de MDA  $\text{g}^{-1}\text{MF}$  (BUEGE; AUST, 1978).

Para a análise de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foram coletados 45  $\mu\text{L}$  do sobrenadante e 135  $\mu\text{L}$  da solução tampão contendo 45  $\mu\text{L}$  de fosfato de potássio 10 mM (pH 7) e 90  $\mu\text{L}$  de iodeto de potássio 1 M para cada reação. A leitura foi feita no comprimento de ondas de 390 nm, em triplicata (VELIKOVA et al., 2000).

## 2.8 Metilação global de DNA

Para análise de metilação global de DNA foi necessário inicialmente extrair o DNA genômico. Com esse intuito macerou-se 200 mg de plântulas de *L. pisonis* cultivadas na temperatura fixa de 30 °C e no choque térmico 30-45 °C em diferentes tempos de exposição (experimento 2), com auxílio de nitrogênio líquido (-196 °C). Essas amostras foram submetidas ao tampão de extração (Tris-HCl 100 mM pH 8,0, brometo de cetil trimetil amônio - CTAB 2% (p/v), NaCl 1,4 M, EDTA 20 mM pH 8,0,  $\beta$ -mercapto 0,2% (p/v) e proteinase K 0,1 mg  $\text{mL}^{-1}$ ), sendo encubadas por 30 min a 65 °C. Após exposição ao tampão de extração adicionou-se juntamente as amostras, 650  $\mu\text{L}$  da solução CIA (96% (v/v) de clorofórmio e 4% (v/v) de álcool isoamílico, em seguida as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 12000 rpm por 10 min. O sobrenadante obtido nesse processo foi transferido para microtubos, nos quais adicionou-se 650  $\mu\text{L}$  da solução CIA, e novamente centrifugou (12000 rpm por 10 min).

Para que o DNA precipitasse adicionou-se um volume de isopropanol a 4 °C, a solução obtida no processo anterior, e centrifugou-se a 12000 rpm por 15 min, descartou-se o sobrenadante desse processo e lavou-se o precipitado duas vezes com etanol 70%. Após lavagem o precipitado foi seco em Concentrator plus/Vacufuge® Plus por 10 min. Ao final da extração ressuspendeu-se as amostras em 40  $\mu\text{L}$  de solução TE (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, EDTA 1 mM pH 8,0, RNAase 40  $\mu\text{g}$   $\text{mL}^{-1}$ ), e encubou-as por 30 min a 37 °C, para degradação do RNA.

Depois de extraído o DNA genômico coletou-se 30  $\mu\text{g}$  desse material de cada tratamento e adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de água ultrapura e 50  $\mu\text{L}$  de ácido perclórico 70% (v  $\text{v}^{-1}$ ), pré-aquecido por 60 min a 100 °C. O pH das soluções geradas anteriormente foi ajustado entre 3 e 5 com o acréscimo da solução de hidróxido de potássio (1,0 M), após o ajuste as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm por 5 min. Coletou-se o

sobrenadante resultante do processo anterior e transferiu-o para um novo microtubo (M1), já com o precipitado foi realizada duas eluições do DNA utilizando 200 µL de água ultrapura e centrifugações sucessivas a 10000 rpm por 5 min. Os sobrenadantes gerados nas duas eluições foram transferidos para o microtubo (M1) e secos no Concentrator Plus/Vacufuge® Plus, no vácuo por 5 h.

Para analisar as amostras em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizou-se 100 µL de água ultrapura para ressuspende-las e centrifugou-as a 10000 rpm por 5 min. O sobrenadante gerado foi transferido para *vials* contendo *inserts*, e analisados no aparelho de CLAE com coluna de aço inox Zorbax Eclipse XDBC18 (4,6 × 250 mm, e 5 µm de tamanho de partícula; Agilent), em comprimento de ondas monitorado de 270 nm e fluxo de 0,5 mL min<sup>-1</sup>. A quantidade de citosina metilada presente nas amostras, foi determinada em percentagem de 5-metilcitosina no DNA, segundo a equação:  $\%(5mC) = (A5mC / (A5mC + AC)) \times 100$ , em que A5mC é o valor de área referente ao pico de 5-metilcitosina e AC é o valor de área referente ao pico de citosina.

## 2.9 Delineamento experimental e análise estatística

Os experimentos 1 e 2 foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 sementes cada, totalizando 100 sementes/tratamento e fotoperíodo de 8 h/16 h (escuro/luz).

As características de emergência, vigor e crescimento de mudas foram analisadas pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa R Core Team (2021) e o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2018). As análises enzimáticas e a metilação global de DNA foram processadas pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ) utilizando o programa R Core Team (2021).

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Experimento 1: Temperaturas fixas 30, 35, 40, 45 e 50 °C e choques térmicos na qualidade fisiológica de sementes e plântulas de *L. pisonis*.

Sementes de *L. pisonis* apresentaram maior porcentagem de emergência de plântulas (88 e 83%) e IVE (0,55 e 0,49) quando expostas a choques térmicos nas temperaturas 30-45 e 35-45 °C (20 h/4 h), com TME de 42 e 45 dias, respectivamente. As temperaturas fixas 40, 45 e 50 °C foram letais para as sementes de *L. pisonis*, não ocorrendo emergência de plântulas. O tratamento 35-45 °C (12 h/12 h) apresentou

emergência de 28%, contudo, não houve formação de raiz em suas plântulas, indicando anormalidade (Figura 4A, B, C).

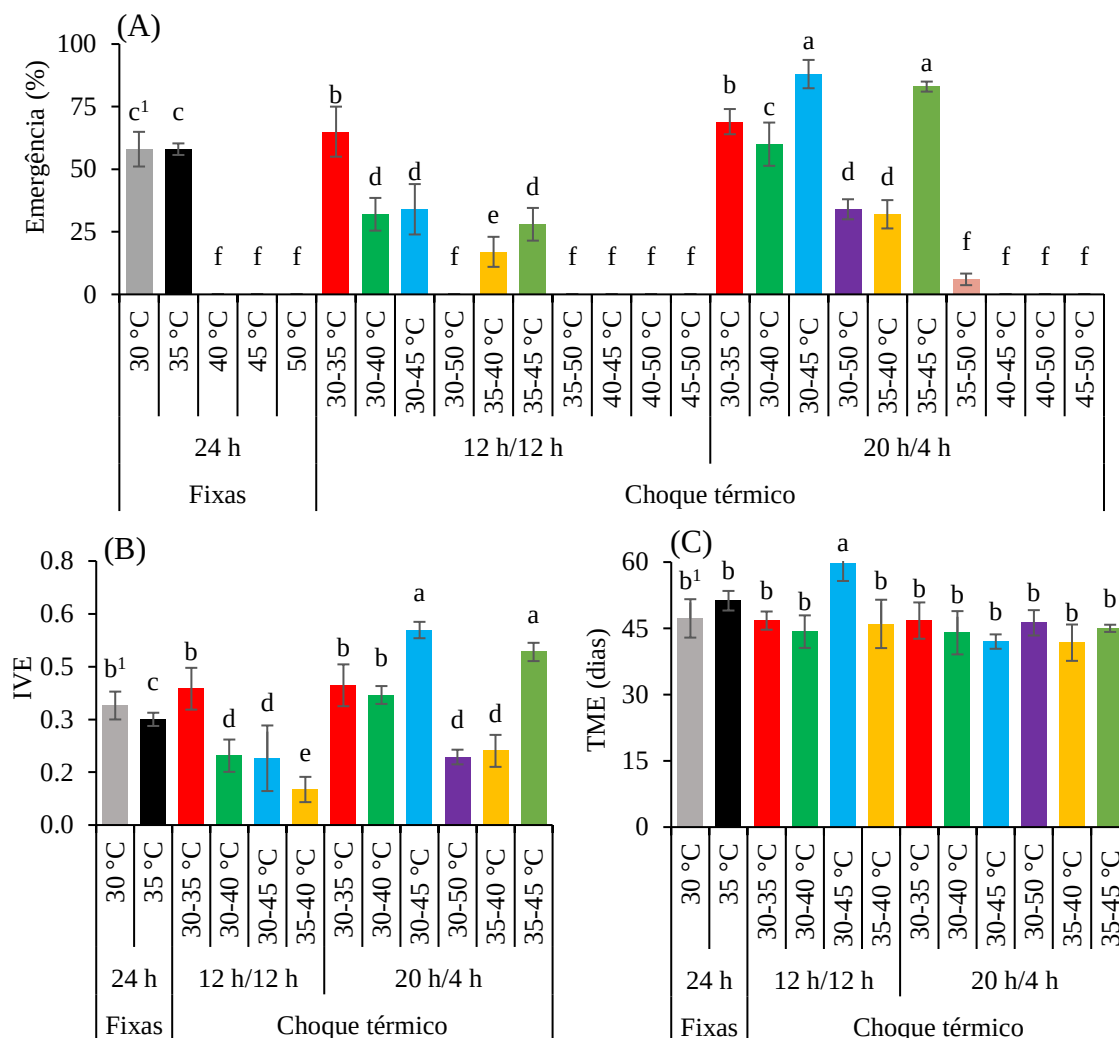


**Figura 4.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30, 35, 40, 45 e 50 °C) e choques térmicos nas temperaturas (30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40; 35-45; 35-50; 40-45; 40-50; 45-50 °C) em dois tempos de exposição (12 h/12 h e 20 h/4 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

A temperatura fixa de 30 °C permitiu um maior crescimento de parte aérea em plântulas de *L. pisonis* (Figura 5A). Os maiores comprimentos de raízes foram observados

na temperatura fixa de 30 °C e nos tratamentos de choque térmico 30-35 (12 h/12 h e 20 h/4 h) e 30-40 (20 h/4 h) (Figura 5B). Os maiores diâmetros de coleto ocorreram na temperatura fixa de 30 °C e nos choques térmicos 30-35 (12 h/12 h), 30-45 (12 h/12 h e 20 h/4 h) e 30-50 °C (20 h/4 h) (Figura 5C). Também foi observado que a alternância das temperaturas 30-45 °C (20 h/4 h) contribuiu para um maior acúmulo de massa seca na parte aérea, raiz e total (Figura 5D-E).

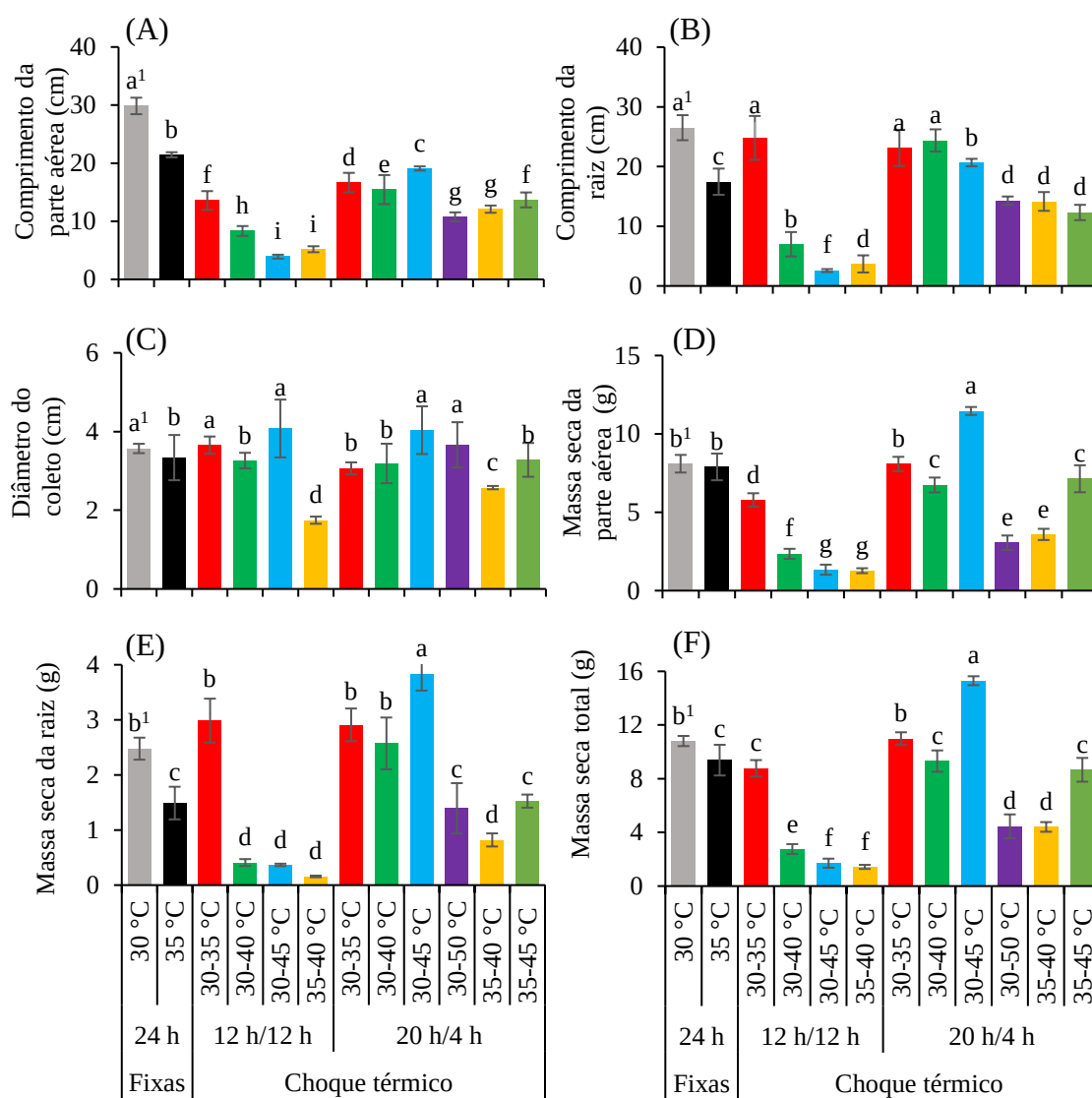


**Figura 5.** (A) comprimento de parte aérea (cm), (B) comprimento da raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (g) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30 e 35 °C) e choques térmicos nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45 e 35-40 °C no tempo de exposição 12 h/12 h e nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40 e 35-45 °C no tempo de exposição 20 h/4 h. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais,

nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O índice de clorofila (Chl) *a* e *b* em plântulas de *L. pisonis* foram superiores no tratamento 30-40 °C (20 h/4 h). Os rendimentos quânticos máximos do PS II ( $F_v/F_m$ ) com variações entre 0,75 a 0,85 foram encontrados nos tratamentos de 30, 30-45 °C (12 h/12 h e 20 h/4 h, respectivamente) e 30-50 °C (20 h/4 h) (Figura 6A, B, C).

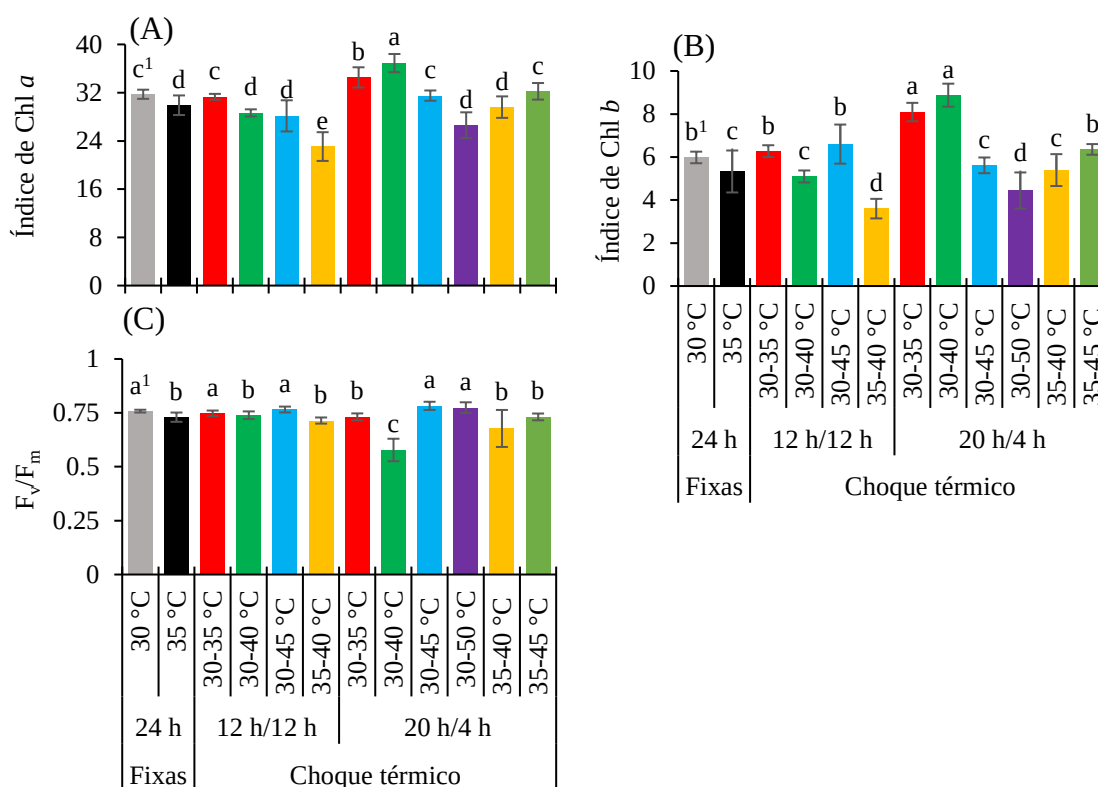


**Figura 6.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b* e (C) rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ), em plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30 e 35 °C) e choques térmicos nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45 e 35-40 °C no tempo de exposição 12 h/12 h e nas temperaturas 30-35; 30-40; 30-45; 30-50; 35-40 e 35-45 °C no tempo de exposição 20 h/4 h. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

Com base nos resultados morfológicos e fisiológicos do experimento 1, selecionou-se as temperaturas fixas 30 e 35 °C, e os choques térmicos 30-35; 30-45 e 35-

45 °C nos tempos de exposição 12 h/12 h e 20 h/4 h para a realização das análises enzimáticas, peroxidação lipídica e peróxido de hidrogênio.

No choque térmico 30-45 °C (20 h/4 h) houve o aumento da atividade das enzimas CAT, APX e SOD (Figura 7A, B, C), entretanto, a SOD não diferiu estatisticamente dos tratamentos 30-35 °C e 35-45 °C (20 h/4 h) e a APX não diferiu entre os tratamentos estudados. A maior concentração de MDA ocorreu no tratamento 30-45 °C (12 h/12 h), contudo, não houve diferença estatística entre os demais tratamentos, à exceção do 30-35 °C (12 h/12 h) (Figura 7D). Já a maior concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi observada no tratamento 30-45 °C (20 h/4 h) (Figura 7E).

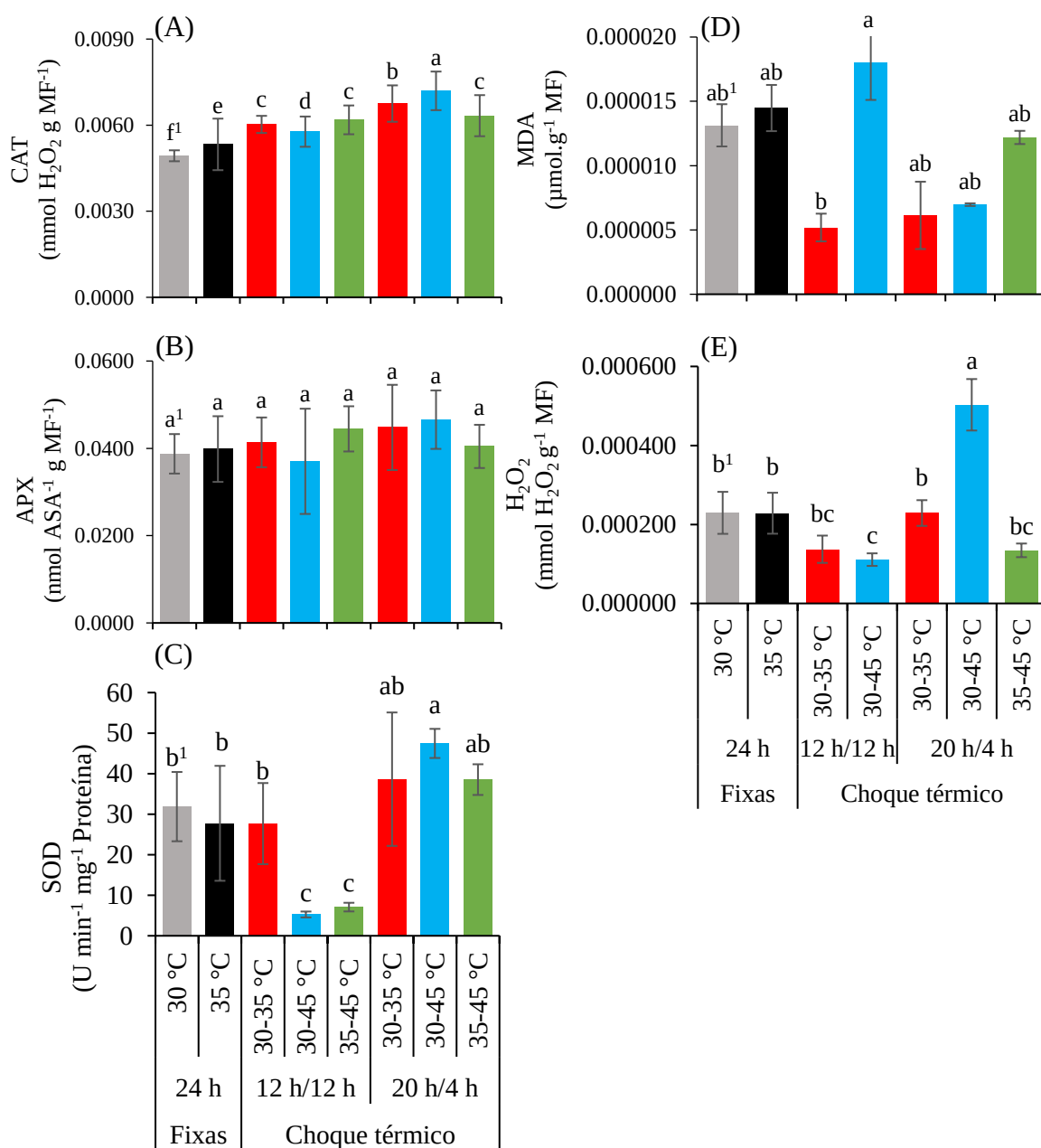


**Figura 7.** (A) catalase (CAT), (B) ascorbato peroxidase (APX), (C) superóxido dismutase (SOD), (D) malondialdeído (MDA) e (E) peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperaturas fixas (30 e 35 °C) e choque térmico 30-35; 30-45; 35-45 °C nos tempos de exposição 12 h/12 h e 20 h/4 h. <sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

### 3.2 Experimento 2: Temperaturas fixas 30 e 45 °C e choque térmico na qualidade fisiológica de sementes e plântulas de *L. pisonis*.

O choque térmico com as temperaturas 30-45 °C (20 h/4 h) foi eficiente na emergência, vigor e crescimento de plântulas de *L. pisonis* no experimento 1, apresentando também alta atividade de enzimas antioxidantes (Figura 4-7). Baseando-se nestes resultados realizou-se novos tratamentos (experimento 2) fixando o choque térmico nas temperaturas 30-45 °C em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h).

Os novos resultados evidenciaram maior emergência de plântulas nos tratamentos 30-45 °C (23,5 h/0,5 h e 21 h/3 h) e na temperatura fixa de 30 °C, sendo que com a alternância 21 h/3 h alcançou o maior IVE de plântulas em um curto período de tempo (28 dias) (Figura 8A, B, C).

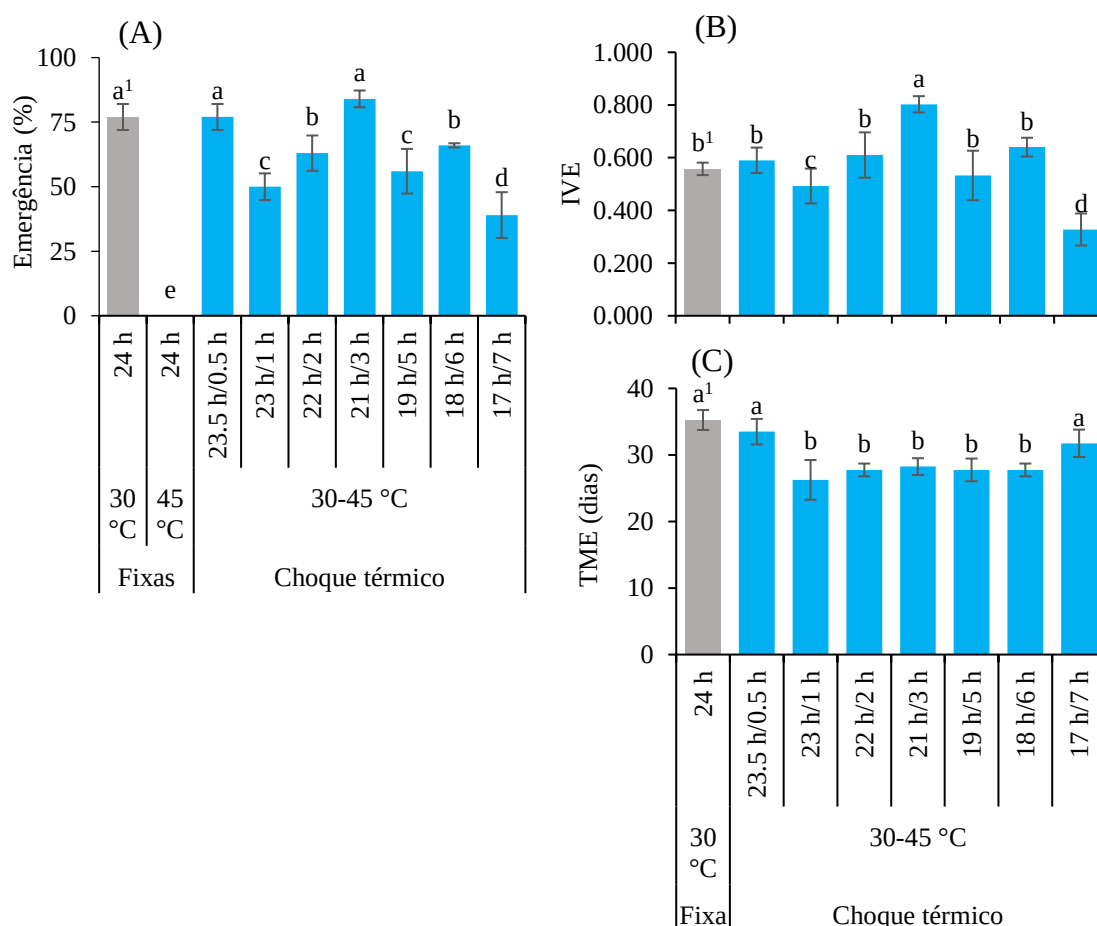


**Figura 8.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O choque térmico 30-45 °C influenciou para um menor crescimento de mudas, quando estas foram expostas a 5, 6 e 7 h na temperatura de 45 °C (Figura 9A) e um menor crescimento de raiz, quando expostas a 6 e 7 h a 45 °C (Figura 9B). O diâmetro do coleto para todos os tratamentos foi superior a 3 mm e a massa seca total não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, exetquando-se sob 30-45 °C (23,5 h/0,5 h) e 30 °C (24 h), os quais apresentaram menores massas (Figura 9C-F).

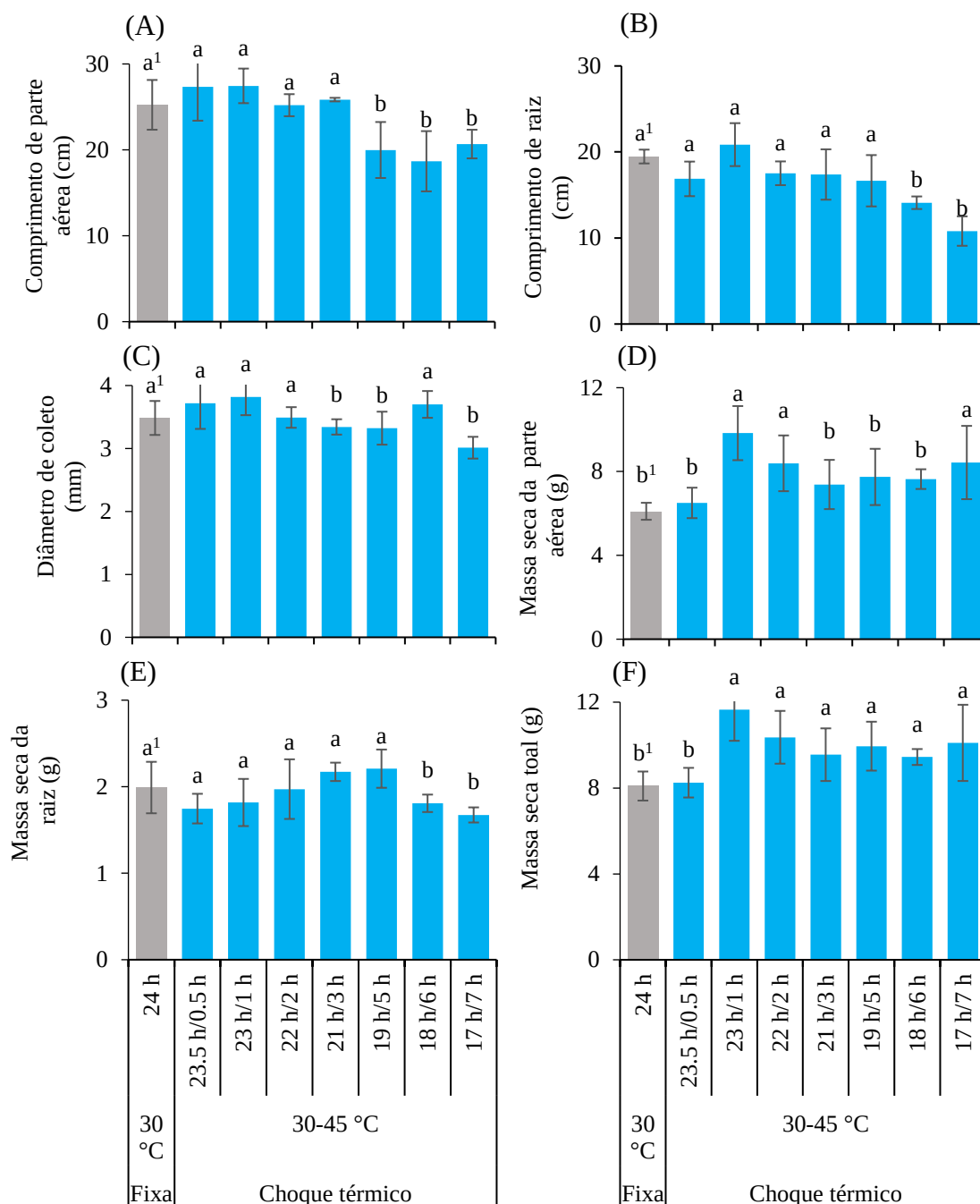


**Figura 9.** (A) comprimento da parte aérea (cm), (B) comprimento de raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (g) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O índice de Chl *a* não variou entre os tratamentos avaliados e o índice de Chl *b* foi superior na temperatura de 30 °C (Figura 10A, B). A relação  $F_v/F_m$  foi superior na temperatura fixa de 30 °C e no choque térmico nas temperaturas 30-45 °C (23 h/1 h e 21 h/3 h) (Figura 10C).

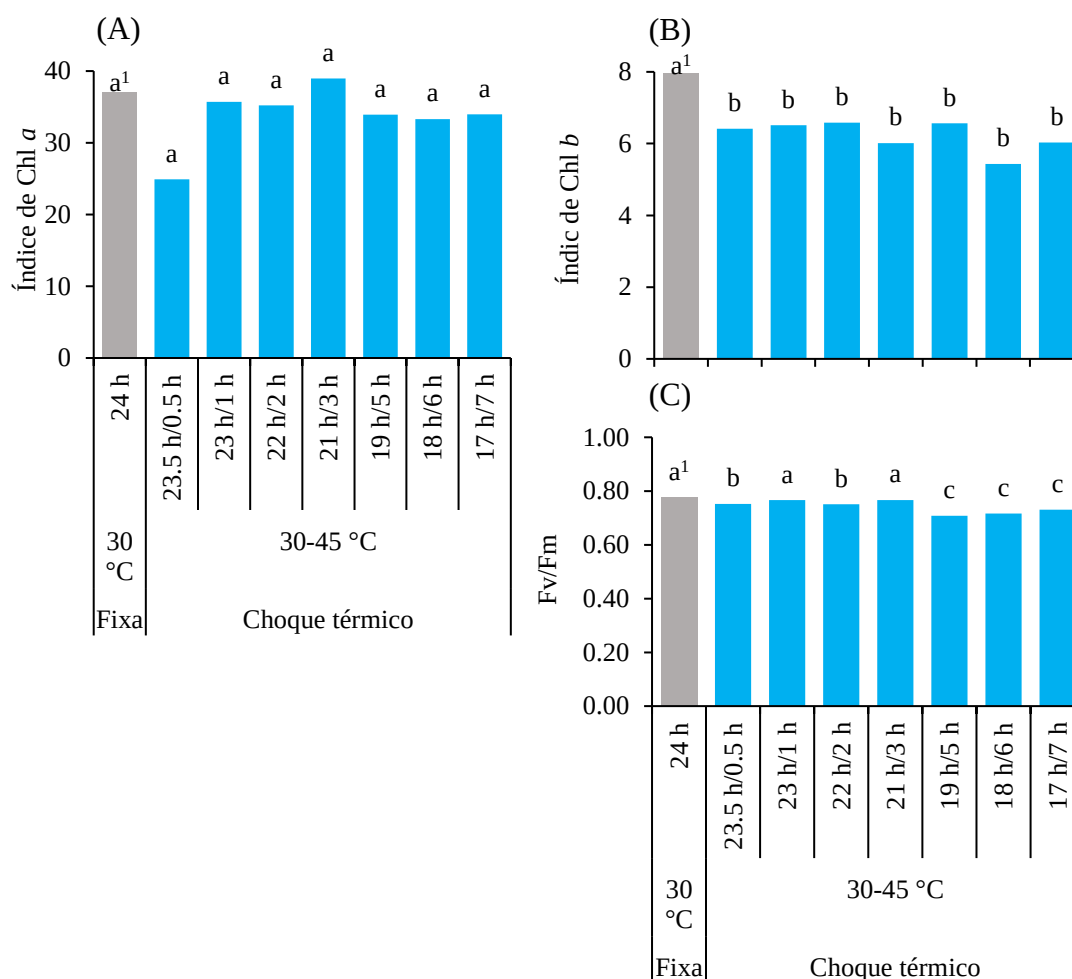


**Figura 10.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b* (C) e rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

Não houve diferença significativa para as enzimas CAT e APX entre os tratamentos, existindo diferença somente para a enzima SOD, que apresentou a maior atividade na alternância de temperaturas 30-45 °C (21 h/3 h) (Figura 11A, B, C). A

metilação do DNA não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, com média de 53,48% (Figura 11D). O MDA foi superior na temperatura de 30 °C e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no tratamento 30-45 °C (23,5 h/0,5 h), o qual não diferiu da alternância de temperatura 30-45 °C (19 h/5 h e 21 h/3 h) (Figura 11E, F).

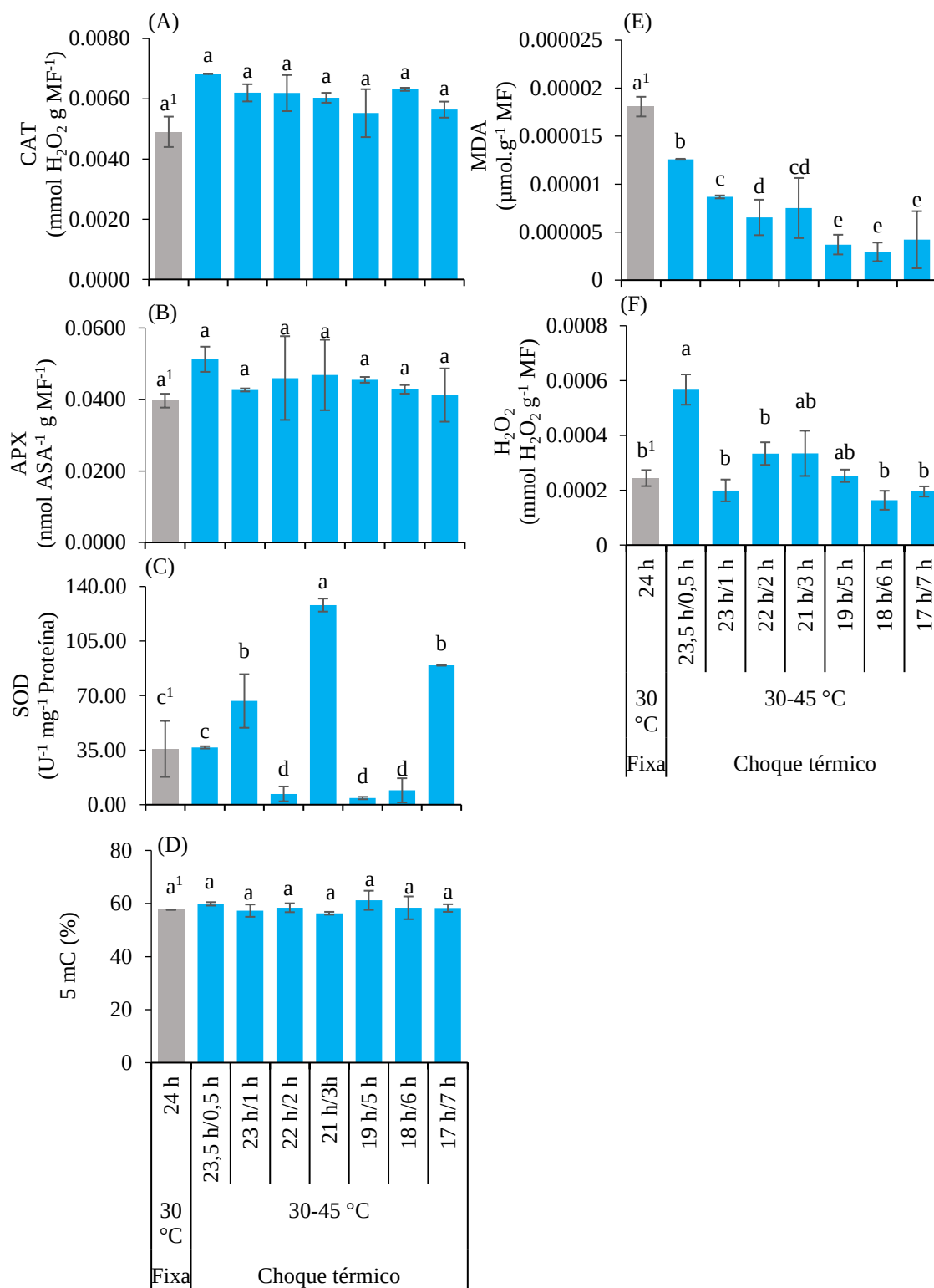


**Figura 11.** (A) catalase (CAT), (B) ascorbato peroxidase (APX), (C) superóxido dismutase (SOD), (D) metilação global do DNA (5 mC, 5-metilcitosina), (E) malondialdeído (MDA) e (F) peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas a temperatura fixa de 30 °C e choque térmico (30-45 °C) em diferentes tempos de exposição (23,5 h/0,5 h; 23 h/1 h; 22 h/2 h; 21 h/3 h; 19 h/5 h; 18 h/6 h e 17 h/7 h). <sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p>0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

#### 4. DISCUSSÃO

Sementes de *L. pisonis* alcançaram altas taxas de emergência, vigor e crescimento de plântulas ao serem expostas ao choque térmico 30-45 °C, utilizando-se os tempos de exposição 20 h/4 h e 21 h/3 h. Isto indica que as sementes de *L. pisonis* expressam um maior vigor quando expostas a temperatura intermediária (30 °C) por longos períodos de tempo (20 e 21 h) e temperatura elevada (45 °C) por um curto período de tempo (3 e 4 h). A temperatura é um dos fatores ambientais que atua diretamente sobre a expressão gênica, e faixas que ultrapassam as condições ideais para cada espécie podem induzir a codificação de proteínas com funções alteradas ou a perda da sua funcionalidade (TOGNACCA; BOTTO, 2021). Pode influenciar desde a regulação hormonal em sementes e plantas, até a arquitetura de raízes e a eficiência fotossintética (ZANDALINAS et al., 2021).

Houve alta atividade das enzimas antioxidantes CAT, SOD e APX no choque térmico 30-45 °C (20 h/4 h e 21 h/3 h). No experimento 1, o tratamento com maior emergência (30-45 °C por 20 h/4 h) também apresentou altas concentrações de  $H_2O_2$ . O aumento significativo da enzima SOD pode ser indicativo de altos níveis do ânion  $O_2^{\bullet-}$  nas células, e por meio de uma reação redox, a enzima SOD dismuta o  $O_2^{\bullet-}$  em  $H_2O_2$ , (SURESH et al., 2019), o qual é reduzido em água pela CAT ou APX (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). Isto foi fundamental para o sucesso na emergência de plântulas destes tratamentos, a considerar que o marcador utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes é o seu potencial antioxidante, o qual varia em função da espécie. Sementes com maior longevidade normalmente possuem um sistema antioxidante eficiente (KUMAR et al., 2021). As enzimas antioxidantes atuam na eliminação de EROs e são responsáveis pela manutenção da viabilidade nas sementes. A regulação da produção e inativação de EROs é fundamental para a germinação de

sementes, evitando danos celulares irreversíveis e letais (DAS; ROYCHOUDHURY, 2014).

Outra justificativa para a elevada concentração de  $H_2O_2$  no tratamento (30-45 °C por 20 h/4 h) refere-se a sua ação sinalizadora. Em concentrações adequadas, o  $H_2O_2$  pode atuar positivamente na superação da dormência e sinalização celular, estando o  $H_2O_2$  envolvido na diminuição das concentrações do hormônio ácido abscísico (ABA) em sementes devido a inativação de proteínas fosfatases (ABI1 e ABI2 tipo 2C) que atuam na sua sinalização (MEINHARD; GRILL, 2001; BAILLY et al., 2008). O  $H_2O_2$  também pode influenciar nas concentrações de ABA por meio da expressão da enzima ABA-8'-hidroxilase, que atua no catabolismo do ABA, observando-se uma ação antagônica das EROs com o ABA, regulando a dormência e germinação por meio de uma maior relação GA/ABA (ISHIBASHI et al., 2017). Alguns autores também relatam a sua participação na ativação da enzima poligalacturonase, a qual é responsável pelo afrouxamento das paredes celulares no endosperma, colaborando para a protrusão da raiz primária. Também regula a expressão das enzimas amilases e proteases no endosperma, e possui ação antimicrobiana (WOJTYLA et al., 2016).

Já o tratamento 30-45 °C (12 h/12 h), cuja emergência foi baixa, apresentou as menores concentrações de  $H_2O_2$ , SOD e CAT, contudo, altos níveis de MDA. Ao comparar o choque térmico 30-45 °C (12 h/12 h) com o 30-45 °C (20 h/4 h), a diferença de emergência entre eles é de 54%. A diminuição das enzimas SOD e CAT acarreta em processos de peroxidação lipídica nas membranas celulares, devido a ação de EROs e, consequentemente, ocorre a liberação de MDA, o qual também é prejudicial para a célula (WANG et al., 2018). A peroxidação lipídica influencia negativamente na permeabilidade das membranas, levando a oxidação dos fosfolípidios por meio do ataque às duplas ligações de ácidos graxos polinsaturados, principalmente, em sementes ricas em lipídios (OENEL et al., 2017; EBONE et al., 2019; KUMAR et al., 2021), podendo afetar negativamente espécies com sementes oleaginosas, a exemplo da *L. pisonis*.

As EROs são subprodutos que podem ser originados de processos respiratórios aeróbicos (BAILLY, 2004) e afetam negativamente a viabilidade e qualidade de sementes. Atuam lesionando as células por meio da peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, mRNA e DNA, acarretando na deterioração das sementes. Em sementes secas, observa-se a formação de radicais livres e EROs pela cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, sendo as principais o  $H_2O_2$ , o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), o radical hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ) e o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ) (ROACH et al., 2010; LI et al., 2022a). As EROs

também podem causar danos em proteínas, atuando na sua carbonilação, sendo evidenciado pelo aumento das concentrações da proteína carbonil, a qual é formada na cadeia lateral dos aminoácidos após a oxidação da proteína, afetando a sua estrutura. A carbonilação também interfere nas propriedades funcionais das proteínas e impede o fornecimento de energia para a germinação, sendo isto, associado com a diminuição do vigor de sementes (LI et al., 2022b).

Devido a ação negativa das EROs na célula, um sistema antioxidante eficiente é fundamental para a manutenção da viabilidade e maior expressão do vigor em sementes (KUMAR et al., 2021). As enzimas SOD são metaloenzimas que atuam na defesa contra o radical  $O_2^{\bullet-}$ , por meio de uma reação redox, dismutando o  $O_2^{\bullet-}$  em  $H_2O_2 + O_2$ . São classificadas em três tipos de acordo com o metal presente em seu sítio ativo, sendo elas a FeSOD (cloroplastos), MnSOD (mitocôndrias e peroxissomos) e Cu-ZnSOD (cloroplastos e citosol) (ALSCHER et al., 2002; DAS; ROYCHOUDHURY, 2014). As enzimas CAT são proteínas homotetraméricas, localizadas nos peroxissomos, e atuam na quebra do  $H_2O_2$  em  $H_2O + O_2$  por meio de um grupo prostético heme, sendo comum a expressão de genes CAT1 e CAT2 em sementes (MHAMDI et al., 2010).

As enzimas APX utilizam o ascorbato na redução do  $H_2O_2$  em  $H_2O$ , e possuem um grupo heme em sua estrutura, sendo muito comum a sua expressão em sementes quando submetidas a condições de estresse, contribuindo para a manutenção da viabilidade, e são expressas em maiores concentrações após o início da embebição das sementes (SUN et al., 2010; GEST et al., 2013). Altas concentrações de APX são observadas no endosperma de sementes de mamona (*Ricinus communis* L.), atuando na eliminação de  $H_2O_2$  produzido nos glioxissomos durante a conversão de lipídios em carboidratos (KLAPHECK et al., 1990).

Sementes com um sistema antioxidante pouco eficiente podem sofrer danos oxidativos no DNA, causando lesões denominadas 8-oxoguanina (8-oxoG), que são consideradas biomarcadores oxidativos. Essas lesões ocorrem devido ao baixo potencial redox da guanina, o que a torna sensível a processos oxidativos, permitindo uma reação de hidroxilação na posição C-8 da guanina. A 8-oxoG aumenta durante processos de deterioração ocasionados pelo envelhecimento de sementes, e pode causar mutações no genoma devido ao pareamento entre 8-oxoG com adenina e, consequentemente, a transverso de G:C→T:A (KASAI; NISHIMURA, 1984; CHEN et al., 2012).

A metilação do DNA nas plântulas de *L. pisonis* variou entre 56,32 a 61,2%, não havendo diferença estatística entre as combinações de temperaturas e tempo de exposição

no experimento 2. No ambiente natural, as plantas possuem mecanismos epigenéticos para sobreviverem ao estresse causado por fatores abióticos, como a seca, salinidade e variações de temperaturas (SUN et al., 2022). Dentre essas alterações epigenéticas, a metilação do DNA é caracterizada pela ligação de um grupo metil no carbono 5 (C5) da citosina, originando a 5-metilcitosina (5 mC) (LISTER et al., 2008). Esse mecanismo influencia na expressão gênica de genes que atuam na adaptação da planta ao estresse, atuando no sistema imune, reprimindo ou induzindo a expressão de genes em função das condições externas do ambiente (BARTELS et al., 2018). Este mecanismo está associado a “memória” da planta ao estresse, tornando as “memórias” hereditárias entre as gerações, classificadas como memórias intergeracionais (uma geração) e transgeracionais (duas gerações) (SUN et al., 2022).

As temperaturas fixas 40, 45 e 50 °C causaram a perda da viabilidade e a deterioração das sementes de *L. pisonis*. Quando as sementes e plântulas são expostas a condições de estresse térmico, cuja produção de EROs sejam superior a capacidade de ação do seu sistema antioxidante, processos de deterioração aumentam no interior das células, devido a peroxidação lipídica, oxidação de DNA, mRNA e proteínas (LI et al., 2022a). Plantas submetidas ao calor excessivo podem sofrer alterações e a perda da função biológica de suas macromoléculas termolábeis. Em função disso, a autofagia é um mecanismo de degradação muito utilizado durante o estresse térmico, sendo a produção dos autofagossomos induzida por genes do complexo ATG, cuja proteína ATG8 interage com outras proteínas relacionadas com a autofagia de componentes específicos durante eventos de estresse ambiental (GOUVEIA et al., 2023). Além disso, observou-se que a função da proteína ATG8 vai além dos processos autofágicos, e que após o estresse térmico, essa pode atuar no recrutamento da proteína Clathrin Light Chain 2 (CLC<sub>2</sub>) ao complexo de Golgi, permitindo que essa organela, cuja estrutura é afetada pelas altas temperaturas, seja remodelada após o estresse (ZHOU et al., 2023).

Temperaturas elevadas por longos períodos de tempo podem induzir a produção de plântulas anormais em *L. pisonis*, como observado nos tratamentos 35-45 °C e 35-50 °C (12 h/12 h), cuja anomalia está relacionada a não formação do sistema radicular (experimento 1). A exposição a altas temperaturas por longos períodos de tempo, também afeta o crescimento de plântulas de *L. pisonis* (experimento 1 e 2). Isto ocorre, pois, o estresse térmico prejudica o metabolismo do carbono, a translocação de compostos de reserva e a expressão gênica em plantas (HASSAN et al., 2021; SAEED et al., 2023). No ambiente natural, mudanças climáticas influenciam negativamente no funcionamento

adequado do aparato fotossintético, e uma das formas de avaliar a existência de danos fotoinibitórios nos centros de reação do PS II é por meio do rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ), o qual deve variar entre 0,75 a 0,85 (BJÖRKMAN; DEMMING, 1987; BOLHÀR-NORDENKAMPF et al., 1989).

O PS II presente nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos são sensíveis ao estresse térmico, e isto afeta vários processos relacionados ao fluxo de elétrons, produção de ATP e dissipação de energia, influenciando negativamente na fase fotoquímica e na diminuição da relação  $F_v/F_m$ . Durante o estresse térmico pode ocorrer uma reprogramação metabólica dos cloroplastos, acarretando na formação de EROs, aumento da atividade de enzimas antioxidantes, formação de proteínas e redução do crescimento das plantas. A senescência foliar também é um evento muito comum durante o estresse térmico, ocasionado devido à quebra das moléculas de clorofilas (WANG et al., 2018). Em estações do ano mais quentes, algumas espécies também dissipam calor para evitar danos fotoquímicos (LIU et al., 2023). A termoestabilidade do PS II varia entre as espécies, e características como folhas grandes e concentrações elevadas de pigmentos fotossintéticos (clorofilas e carotenoides) estão relacionados a uma maior resistência do PS II a mudanças climáticas (DREYER et al., 2001; FROUX et al., 2004; HÚDOKOVÁ et al., 2022).

## 5. CONCLUSÕES

Indica-se o choque térmico 30-45 °C e os tempos de exposição 20 h/4 h e 21 h/3 h como ótimos para a expressão de um maior vigor e emergência de plântulas da espécie *L. pisonis*. Estes tratamentos também contribuem para uma alta eficiência do sistema antioxidante enzimático.

O  $H_2O_2$  pode ter atuado como molécula sinalizadora favorecendo vias importantes na emergência de plântulas de *L. pisonis* no choque térmico 30-45 °C (20 h/4 h).

Sementes da espécie *L. pisonis* são sensíveis ao estresse térmico em altas temperaturas por longos períodos de tempo, o qual afeta a viabilidade, o crescimento de plântulas e o funcionamento do PSII.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1331-1341, 2002.
- ARAUJO, C. P. **Árvores frutíferas funcionais da Floresta Atlântica: diversidade fenotípica e molecular, composição hormonal, nutricional e antioxidante em *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata***. 2020. 104 fls. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, Espírito Santo. 2020.
- ARAUJO, C. P.; ALEXANDRE, R. S.; ROSA, T. L. M.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; PEZZOPANE, J. E. M. Overcoming seed dormancy and rooting in air-layering polyembryonic seedlings of sapucaia ('*Lecythis pisonis*' Cambess.). **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, p. 816-821, 2020.
- ARAUJO, C. P.; SIMÕES, I. M.; ROSA, T. L.; MELLO, T.; CANL, G. B.; FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; SOUZA, T. S.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, P. F.; NOVAES, F. J. M.; GONÇALVES, F. G.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Functional fruit trees from the Atlantic and Amazon Forests: selection of potential chestnut trees rich in antioxidants, nutrients, and fatty acids. **Foods**, v. 12, p. 4422, 2023.
- BAILLY, C. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. **Seed Science Research**, v. 14, p. 93-107, 2004.
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 806-814, 2008.
- BARTELS, A.; HAN, Q.; NAIR, P.; STACEY, L.; GAYNIER, H.; MOSLEY, M.; HUANG, Q. Q.; PEARSON, J. K.; HSIEH, T-F.; AN, Y. Q. C.; XIAO, W. Dynamic DNA methylation in plant growth and development. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 2144, 2018.
- BELL, D. T.; WILLIAMS, D. S. Tolerance of thermal shock in seeds. **Australian Journal of Botany**, v. 46, p. 221-233, 1998.

- BERNARDES, V. P.; GONÇALVES, E. D. O.; SANT'ANA, B. T.; ALEXANDRE, R. S.; WENDLING, I. Vegetative rescue and clonal propagation of *Lecythis pisonis* Cambess. **Floresta e Ambiente**, v. 27, p. e20180261, 2020.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, p. 651-658, 1998.
- BJÖRKMAN, O.; DEMMING, B. Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 k among vascular plants of diverse origins. **Planta**, v. 170, p. 61-66, 1987.
- BOLHÀR-NORDENKAMPF, H. R.; LONG, S. P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G. Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. **Functional Ecology**, v. 3, p. 497-514, 1989.
- BORGHETTI, F.; FERREIRA, A. G. **Germinação**: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed, v. 323, 2004.
- BRASIL. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília: MAPA. 2013. 98 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. methods in enzymology. **Methods in Enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.
- CHEN, H.; CHU, P.; ZHOU, Y.; LI, Y.; LIU, J.; DING, Y.; TSANG, E. W. T.; JIANG, L.; WU, K.; HUANG, S. Overexpression of AtOGG1, a DNA glycosylase/AP lyase, enhances seed longevity and abiotic stress tolerance in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 4107-4121, 2012.
- DAS, K.; ROYCHOUDHURY, A. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. **Frontiers in Environmental Science**, v. 2, p. 1-13, 2014.
- DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**, v. 108, p. 27-34, 2018a.
- DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A

promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile. **Food Research International**, v. 112, p. 434-442, 2018b.

DREYER, E.; LE ROUX, X.; MONTPIED, P.; DAUDET, F. A.; MASSON, A. Temperature response of leaf photosynthetic capacity in seedlings from seven temperate tree species. **Tree Physiology**, v. 21, p. 223-232, 2001.

DÜRR, C.; DICKIE, J. B.; YANG, X. Y.; PRITCHARD, H. W. Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: contribution to a seed trait database. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 200, p. 222-232, 2015.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 145, p. 34-42, 2019.

EVANGELISTA-VALE, J. C.; WEIHS, M.; JOSÉ-SILVA, L.; ARRUDA, R.; SANDER, N. L.; GOMIDES, S. C.; MACHADO, T. M.; PIRES-OLIVEIRA, J. C.; BARROS-ROSA, L.; CASTUERA-OLIVEIRA, L.; MATIAS, R. A. M.; MARTINS-OLIVEIRA, A. T.; SÃO BERNARDO, C. S.; SILVA-PEREIRA, S.; CARNICER, C.; CARPANEDO, R. S.; EISENLOHR, P. V. Climate change may affect the future of extractivism in the Brazilian Amazon. **Biological Conservation**, v. 257, p. 109093, 2021.

FALKER. 2008. **Automação agrícola**. Manual do medidor eletrônico de teor clorofila (ClorofiLOG/CFL 1030). Porto Alegre, p. 33

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. 2018. Package 'ExpDes.pt'.

FROUX, F.; DUCREY, M.; EPRON, D.; DREYER, E. Seasonal variations and acclimation potential of the thermostability of photochemistry in four Mediterranean conifers **Annals of Forest Science**, v. 61, p. 235-241, 2004.

GEST, N.; GAUTIER, H.; STEVENS, R. Ascorbate as seen through plant evolution: the rise of a successful molecule? **Journal of Experimental Botany**, v. 64, p. 33-53, 2013.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, p. 309-314, 1977.

GOUVEIA, D. G.; SIQUEIRA, J. A.; NUNES-NESI, A.; ARAÚJO, W. L. Memories of heat: autophagy and Golgi recovery. **Trends in Plant Science**, v. 23, S1360-1385, 2023.

HASSAN, M. U.; CHATTHA, M. U.; KHAN, I.; CHATTHA, M. B.; BARBANTI, L.; AAMER, M.; IQBAL, M. M.; NAWAZ, M.; MAHMOOD, A.; ALI, A.; ASLAM, M. T. Heat stress in cultivated plants: Nature, impact, mechanisms, and mitigation strategies—

A review. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 155, p. 211-234, 2021

HAVIR, E.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, p. 450-455, 1987.

HÚDOKOVÁ, H.; PETRIK, P.; PETEK-PETRIK, A.; KONÔPKOVÁ, A.; LEŠTIANSKA, A.; STŘELCOVÁ, K.; KMET', J.; KURJAK, D. Heat-stress response of photosystem II in five ecologically important tree species of European temperate forests. **Biologia**, v. 77, p. 671-680, 2022.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL (INCAPER). Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural-PROATER 2020-2023: Vitória-ES: Disponível em: <<https://incaper.es.gov.br/proater>>. acessado em 15 dez de 2023.

ISHIBASHI, Y.; AOKI, N.; KASA, S.; SAKAMOTO, M.; KAI, K.; TOMOKIYO, R.; WATABE, G.; YUASA, T.; IWAYA-INOUE, M. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 275, 2017.

JAYASURIYA, K. G.; BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. Sensitivity cycling and its ecological role in seeds with physical dormancy. **Seed Science Research**, v. 19, p. 3-13, 2009.

KASAI, H.; NISHIMURA, S. Hydroxylation of deoxyguanosine at the C-8 position by ascorbic acid and other reducing agents. **Nucleic Acids Research**, v. 12, p. 2137-2145, 1984.

KLAPHECK, S.; ZIMMER, I.; COSSE, H. Scavenging of hydrogen peroxide in the endosperm of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase. **Plant and Cell Physiology**, v. 31, p. 1005-1013, 1990.

KUMAR, S. J.; CHINTAGUNTA, A. D.; REDDY, Y. M.; RAJJOU, L.; GARLAPATI, V. K.; AGARWAL, D. K.; PRASAD, S. R.; SIMAL-GANDARA, J. Implications of reactive oxygen and nitrogen species in seed physiology for sustainable crop productivity under changing climate conditions. **Current Plant Biology**, v. 26, p. 100197, 2021.

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

LI, B. B.; ZHANG, S. B.; LV, Y. Y.; WEI, S.; HU, Y. S. Reactive oxygen species-induced protein carbonylation promotes deterioration of physiological activity of wheat seeds. **Plos One**, v. 17, p. e0263553, 2022b.

- LI, W.; NIU, Y.; ZHENG, Y.; WANG, Z. Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 826809, 2022a.
- LISTER, R.; O'MALLEY, R. C.; TONTI-FILIPPINI, J.; GREGORY, B. D.; BERRY, C. C.; MILLAR, A. H.; ECKER, J. R. Highly integrated single-base resolution maps of the epigenome in Arabidopsis. **Cell**, v. 133, p. 523-536, 2008.
- LIU, X.; DONG, T.; ZHANG, S. Adaptation responses of Dioecious and Hermaphroditic tree species to abiotic stress. **Forests**, v. 14, p. 383, 2023
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.
- MEINHARD, M.; GRILL, E. Hydrogen peroxide is a regulator of ABI1, a protein phosphatase 2C from Arabidopsis. **Febs Letters**, v. 508, p. 443-446, 2001.
- MELLO, T.; DE OLIVEIRA GONÇALVES, E.; ALEXANDRE, R. S.; SCHMILDT, E. R.; OTONI, W. C. Establishment and in vitro morphogenesis of sapucaia explants (Lecythidaceae). **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 56, p. 882-893, 2020.
- MHAMDI, A.; QUEVAL, G.; CHAOUCH, S.; VANDERAUWERA, S.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. **Journal of Experimental Botany**, v. 61, p. 4197-4220, 2010.
- OENEL, A.; FEKETE, A.; KRISCHKE, M.; FAUL, S. C.; GRESSER, G.; HAVAUX, M.; MUELLER, M. J.; BERGER, S. Enzymatic and non-enzymatic mechanisms contribute to lipid oxidation during seed aging. **Plant and Cell Physiology**, v. 58, p. 925-933, 2017.
- PMLT. Prefeitura Municipal de Laranja da Terra: Localidades, 2023. Disponível em: <<https://www.laranjadaterra.es.gov.br/pagina/localidades>>. Acesso em 15 de dez de 2023.
- POLMANN, G.; BADIA, V.; DANIELSKI, R.; FERREIRA, S. R. S.; BLOCK, J. M. Non-conventional nuts: An overview of reported composition and bioactivity and new approaches for its consumption and valorization of co-products. **Future Foods**, v. 4, p. 100099, 2021.
- R CORE TEAM. 2021. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>, Acesso: 16 de fevereiro de 2023.

ROACH, T.; BECKETT, R. P.; MINIBAYEVA, F. V.; COLVILLE, L.; WHITAKER, C.; CHEN, H.; BAILLY, C.; KRANNER, I. Extracellular superoxide production, viability and redox poise in response to desiccation in recalcitrant *Castanea sativa* seeds. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 59-75, 2010.

ROSA, T. L. M. **Fisiologia de sementes e metabolismo antioxidativo na emergência de *Lecythis pisonis* Cambess.: inferências sobre temperatura ótima e aptidão climática para a semeadura**. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. 47 f.

ROSA, T. L. M.; DE ARAUJO, C. P.; KAMKE, C.; FERREIRA, A.; DA SILVA FERREIRA, M. F.; DE OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; OTONI, W. C.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Sapucaia nut: Morphophysiology, minerals content, methodological validation in image analysis, phenotypic and molecular diversity in *Lecythis pisonis* Cambess. **Food Research International**, v. 137, p. 109383, 2020.

SAEED, F.; CHAUDHRY, U. K.; RAZA, A.; CHARAGH, S.; BAKHSH, A.; BOHRA, A.; ALI, S.; CHITIKINENI, A.; SAEED, Y.; VISSER, R. G. F.; SIDDIQUE, K. H. M.; VARSHNEY, R. K. Developing future heat-resilient vegetable crops. **Functional & Integrative Genomics**, v. 23, p. 47, 2023.

SCARANO, F.; CEOTTO, P. Brazilian Atlantic Forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. **Biodiversity and Conservation**, v. 24, p. 2319-2331, 2015.

SUN, M.; YANG, Z.; LIU, L.; DUAN, L. DNA Methylation in plant responses and adaption to abiotic stresses. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, p. 6910, 2022.

SUN, W. H.; DUAN, M.; SHU, D. F.; YANG, S.; MENG, Q. W. Over-expression of StAPX in tobacco improves seed germination and increases early seedling tolerance to salinity and osmotic stresses. **Plant Cell Reports**, v. 29, p. 917-926, 2010.

SURESH, A.; SHAH, N.; KOTTECHA, M.; ROBIN, P. Evaluation of biochemical and physiological changes in seeds of *Jatropha curcas* L. under natural aging, accelerated aging and saturated salt accelerated aging. **Scientia Horticulturae**, v. 255, p. 21-29, 2019.

TOGNACCA, R. S.; BOTTO, J. F. Post-transcriptional regulation of seed dormancy and germination: current understanding and future directions. **Plant Communications**, v. 2, p. 100169, 2021.

- VELIKOVA, V.; YORDANOV, I.; EDREVA, A. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. **Plant Science**, v. 151 p. 59-66, 2000.
- VILLALOBOS, A. E.; PELÁEZ, D. V.; BÓO, R. M.; MAYOR, M. D.; ELIA, O. R. Effect of high temperatures on seed germination of *Prosopis caldenia* Burk. **Journal of Arid Environments**, v. 52, p. 371-378, 2002.
- WANG, Q. L.; CHEN, J. H.; HE, N. Y.; GUO, F. Q. Metabolic reprogramming in chloroplasts under heat stress in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, p. 849, 2018.
- WOJTYLA, Ł.; LECHOWSKA, K.; KUBALA, S.; GARNCZARSKA, M. Different modes of hydrogen peroxide action during seed germination. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 66, 2016.
- ZANDALINAS, S. I.; FRITSCHI, F. B.; MITTLER, R. Global warming, climate change, and environmental pollution: recipe for a multifactorial stress combination disaster. **Trends in Plant Science**, v. 26, p. 588-599, 2021.
- ZHOU, J.; MA, J.; YANG, C.; ZHU, X.; LI, J.; ZHENG, X.; LI, X.; CHEN, S. Y.; FENG, L.; WANG, P. F.; HO, H. I.; MA, W.; LIAO, J.; LI, F.; WANG, C.; ZHUANG, X.; JIANG, L.; KANG, B. H.; GAO, C. A non-canonical role of ATG8 in Golgi recovery from heat stress in plants. **Nature Plants**, v. 9, 749-765, 2023.

**CAPÍTULO II – O TAMANHO DAS SEMENTES E A INTENSIDADE  
LUMINOSA AFETAM A EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS E O  
CRESCIMENTO DE MUDAS DA CASTANHEIRA *Lecythis pisonis* CAMBESS.**

## RESUMO

ARAUJO, Caroline Palacio de. **O tamanho das sementes e a intensidade luminosa afetam a emergência de plântulas e o crescimento de mudas da castanheira *Lecythis pisonis* Cambess.** 2024. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

A fragmentação florestal é um dos fatores que afeta a diversidade de plantas nos biomas Floresta Atlântica e Amazônica, principalmente, por acarretar alterações climáticas nesses locais. Sendo assim, estudos de restauração florestal, devem levar em consideração fatores relacionados ao estágio sucessional, germinação de sementes e estabelecimento de mudas em ambientes a sol pleno e em diferentes graus de sombreamento. Em função disto, objetivou-se estudar se o tamanho das sementes e o sombreamento influenciam na emergência de plântulas e na plasticidade fenotípica e fotossintética de mudas da espécie *L. pisonis*. As características analisadas foram emergência, vigor, crescimento de mudas, índice de clorofilas *a* e *b*, rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ), trocas gasosas em mudas por meio da taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub> e transpiração foliar. Sementes grandes apresentaram a maior emergência de plântulas (83,9%) ao serem expostas a um sombreamento de 49,32% (~50%). As sementes pequenas apresentaram uma baixa emergência de plântulas (25,2%), independente do sombreamento. O comprimento de parte aérea das mudas foi maior, quando oriundas de sementes grandes>médias>pequenas. As sementes grandes também originaram mudas com a maior área foliar, massa seca da parte aérea e massa seca total, com um comportamento linear crescente até o sombreamento de 80%. Sombreamentos com altas porcentagens de redução da capacidade luminosa, apresentaram em sua maioria, altas concentrações de clorofilas *a* e *b*. A relação  $F_v/F_m$  no período da manhã (7 h) não diferiu estatisticamente em função do sombreamento ou tamanho da semente, contudo, no horário de 12 h aumentou linearmente até o sombreamento de 80%. Mudas crescidas na ausência de sombreamento tiveram uma maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, contudo, apresentaram um menor conteúdo interno de CO<sub>2</sub> disponível para a fotossíntese, indicando a perda de CO<sub>2</sub> pela fotorrespiração. Conclui-se que para a espécie *L. pisonis* o tamanho da semente e a intensidade luminosa influenciam nas características de vigor e emergência de plântulas,

e também no crescimento e trocas gasosas de mudas. Indica-se a utilização de sementes grandes (8 a 9,9 g) em um ambiente com 50% de redução da capacidade luminosa.

**Palavras-chave:** sapucaia, qualidade de mudas, estado sucessional, fotossíntese, restauração florestal.

## ABSTRACT

ARAUJO, Caroline Palacio de. **Seed size and light intensity affect seedling emergence and seedling growth of the chestnut tree *Lecythis pisonis* Cambess.** 2024. Thesis (Doctorate in Forestry Sciences) - Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Advisor: Prof. DSc. Rodrigo Sobreira Alexandre.

Forest fragmentation is one of the factors that affects plant diversity in the Atlantic Forest and Amazon biomes, mainly because it causes climate change in these places. Therefore, forest restoration studies must take into account factors related to the successional stage, seed germination and seedling establishment in environments with full sun and different degrees of shading. Because of this, the objective of this work was to understand whether seed size and shading influence the emergence of seedlings and the phenotypic and photosynthetic plasticity of seedlings of the species *L. pisonis*. The characteristics analyzed were emergence, vigor, seedling growth, chlorophyll *a* and *b* index, maximum quantum yield of PS II ( $F_v/F_m$ ), gas exchange in seedlings through the net CO<sub>2</sub> assimilation rate, stomatal conductance, internal CO<sub>2</sub> concentration and leaf transpiration. Large seeds showed the highest seedling emergence (83.9%) when exposed to shade of 49.32%. Small seeds showed low seedling emergence (25.2%), regardless of shading. The length of the aerial part of the seedlings was greater when they came from large>medium>small seeds. The large seeds also gave rise to seedlings with the largest leaf area, aerial part dry mass and total dry mass, with a linear increasing behavior up to 80% shading. Shading with high percentages of reduction in luminous capacity, mostly presented high concentrations of chlorophylls *a* and *b*. The  $F_v/F_m$  relationship in the morning (7 am) did not differ statistically depending on shading or seed size, however, at 12 pm it increased linearly until 80% shading. Seedlings grown in the absence of shading had a higher net assimilation rate of CO<sub>2</sub>; however, they showed a lower internal content of available CO<sub>2</sub> for photosynthesis, indicating CO<sub>2</sub> loss through photorespiration. It is concluded that for the species *L. pisonis*, seed size and light intensity influence the vigor and emergence characteristics of seedlings, as well as the growth and gas exchange of seedlings. The use of large seeds (8 to 9.9 g) in an environment with a 50% reduction in light capacity is recommended.

**Keywords:** sapucaia, seed germination, seedling quality, successional status, photosynthesis, forest restoration.

## 1. INTRODUÇÃO

A capacidade de resiliência das florestas tropicais brasileiras vem sofrendo uma drástica redução devido ao desmatamento descontrolado e exploração dos recursos florestais, acarretando em aumento da fragmentação florestal e diminuição da biodiversidade. O desmatamento é responsável por mudanças estruturais nos fragmentos florestais, causando interferências no microclima local por meio do aumento da temperatura e radiação solar, o que irá interferir na diversidade de plantas, principalmente, daquelas tolerantes a sombra (FARIA et al., 2023). Isso ocorre devido à aclimação de cada espécie de planta em seu ambiente natural, sendo sua capacidade fotossintética sensível a mudanças ambientais, por exemplo, algumas espécies sofrem danos em seu aparato fotossintético quando expostas a alta luminosidade e a falta de luz pode limitar o seu crescimento (MATHUR et al., 2018).

Uma das maneiras de mitigar o desmatamento e adiantar os processos de sucessão ecológica do ambiente é a utilização de espécies arbóreas tolerantes a sombra, a exemplo da *Lecythis pisonis* Cambess., em programas de restauração florestal (TOLEDO-ACEVES et al., 2022). Espécies tolerantes a sombra, tendem a ter um maior sucesso quando plantadas em florestas nubladas, contudo, dependendo das suas características foliares, também são capazes de sobreviver em pastagens (ACEVES et al., 2022). Práticas de conservação e restauração florestal dependem de informações relacionadas a germinação e estabelecimento de mudas, as quais, dependendo da espécie, ainda são escassas (ZHAO et al., 2020). Estas informações permitem uma distribuição adequada dos materiais genéticos no ambiente, visando à sua conservação (WARRIER; KUNHIKANNAN, 2022; LEY-LÓPEZ et al., 2023).

Um dos fatores fundamentais para o estabelecimento e crescimento das mudas no ambiente natural é a disponibilidade de luz. Isto ocorre, pois, as espécies florestais apresentam diferentes respostas fotossintéticas a ambientes sombreados ou de pleno sol. Algumas espécies de plantas possuem alta plasticidade fenotípica quando expostas a diferentes intensidades de luz, influenciando nas concentrações dos pigmentos fotossintéticos, crescimento de raiz, alocação de biomassa, mudanças anatômicas no limbo foliar e alterações bioquímicas. O grau de plasticidade fenotípica contribui para a aclimação das espécies em condições adversas e influencia diretamente na execução e êxito de projetos que visam à conservação e restauração de áreas degradadas ou plantios de espécies em extinção (CERQUEIRA et al., 2018; FIRMINO et al., 2021).

A castanheira *L. pisonis* Cambess. (Lecythidaceae) pode ser encontrada na Floresta Amazônica e no hotspot da biodiversidade Floresta Atlântica, sendo classificada como secundária tardia. O plantio dessa espécie deve ser realizado em áreas de pouca luz, visando à diminuição da fotoinibição e o maior crescimento das mudas (ANJOS et al., 2015). Essa espécie possui grande potencial produtivo de castanhas, as quais são fontes de nutrientes e compostos antioxidantes (DEMOLINER et al., 2018a, b; ROSA et al., 2020; POLMANN et al., 2021, ARAUJO et al., 2023). Suas sementes possuem o embrião macropodial, caracterizado por não apresentar diferenciação dos seus cotilédones. O embrião é formado basicamente pelo hipocótilo e tecido cotiledonar, o qual pode apresentar formato de pequenas escamas no ápice (PRANCE; MORI, 1978). Suas sementes variam em relação ao tamanho e massa, e possuem germinação e emergência de plântulas desuniformes (ARAUJO, 2020; ROSA et al., 2020).

A germinação é um processo sensível e susceptível a variáveis ambientais como água, luz e temperatura (LAMONT; PAUSAS, 2023). Características físicas como tamanho e massa das sementes influenciam na adaptação das espécies em seu ambiente de origem ou frente a condições estressantes (VESELÁ et al., 2020). O tamanho das sementes é importante quando expostas a maiores profundidades no solo, sendo observado que plântulas oriundas de sementes grandes apresentam maior sucesso nessas condições (LAUMANN et al., 2023). Sementes grandes e médias, na maioria das vezes, possuem um alto sucesso germinativo e maior crescimento de mudas, sendo isto associado ao acúmulo de compostos de reservas em maiores concentrações. Devido ao alto sucesso germinativo de sementes grandes, muitos pesquisadores utilizam o tamanho das sementes como critério de seleção na regeneração de espécies ameaçadas de extinção (ADJI et al., 2022).

Em função disto, objetivou-se com este trabalho compreender se o tamanho das sementes e o sombreamento influenciam na emergência de plântulas e na plasticidade fenotípica e fotossintética de mudas da espécie *L. pisonis*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas sementes de *L. pisonis* em cinco árvores localizadas no município de Laranja da Terra, Espírito Santo, Brasil, com as seguintes coordenadas geográficas: árvore 1 (19°47'01.4"S e 41°09'18.4"W), árvore 2 (19°47'01.6"S e 41°09'14.9"W), árvore 3 (19°47'08.7"S e 41°09'20.2"W), árvore 4 (19°47'05.3"S e 41°09'16.7"W) e árvore 5 (19°47'04.6"S e 41°09'16.7"W). Após a colheita pesou-se individualmente cada semente

em balança analítica de precisão (0,0001 g). Em seguida foram classificadas em sementes pequenas (massa = 4 a 5,9 g), sementes médias (massa = 6 a 7,9 g) e sementes grandes (massa = 8 a 9,9 g). As sementes das cinco árvores foram homogeneizadas e distribuídas dentro dos tratamentos.

O experimento foi realizado em casa de vegetação, analisando-se diariamente as condições ambientais de temperatura, umidade relativa do ar e radiação. Os tratamentos foram dispostos em delineamento em blocos casualizados, num sistema de parcelas subdivididas: tamanho das sementes (pequenas, médias e grandes) x redução da capacidade luminosa (0; 30; 50; 70 e 80%), sendo utilizado quatro repetições de 25 sementes cada, totalizando 100 sementes/tratamento (Figura 1). As sementes de cada tratamento foram semeadas em tubetes com volume de 280 cm<sup>3</sup>, contendo substrato orgânico Terra Nutri® e os sombreamentos foram feitos com malha preta de poliolefina de alta densidade. O substrato utilizado era composto por vermiculita + pó de coco + casca de pinus + casca de arroz carbonizada, possuindo um pH de 6,3, condutividade elétrica de 0,4 mS<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, capacidade de retenção de água de 150%, densidade de 349 kg m<sup>3</sup> e umidade de 44%.

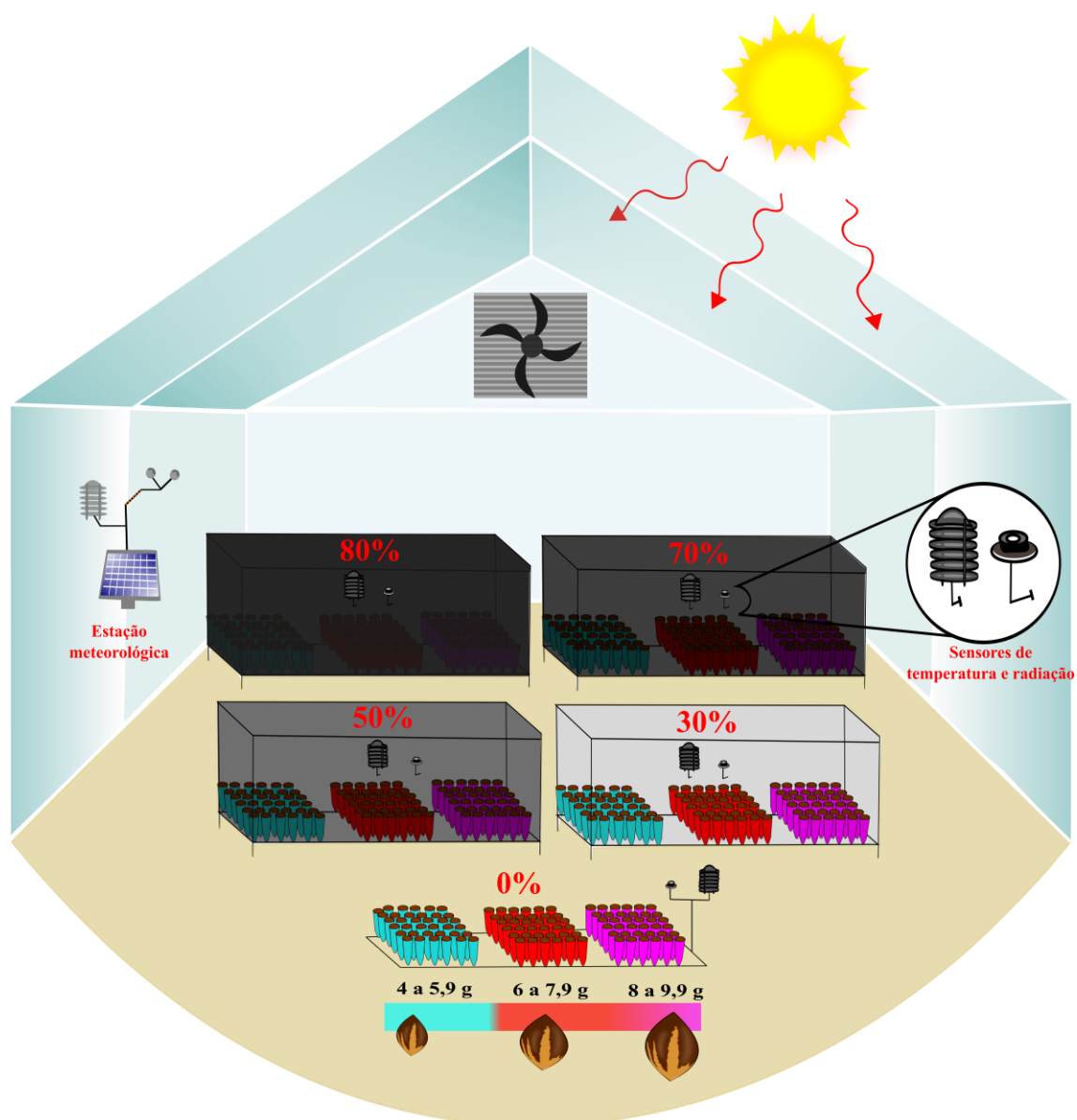


**Figura 1.** Esquema evidenciando a disposição do experimento de emergência de plântulas de *L. pisonis* em casa de vegetação com condições climáticas controladas, cujos tratamentos foram a ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%) e os tamanhos das sementes, sendo estes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g).

### 2.1 Condições climáticas

Os dados de temperatura e umidade relativa da casa de vegetação foram coletados através de uma estação meteorológica, por meio da coleta diária a cada 5 min (Figura

2A). Os dados de temperatura dentro de cada condição experimental (0; 30; 50; 70 e 80% de sombreamento) foram obtidos por sensores (Figura 2B).

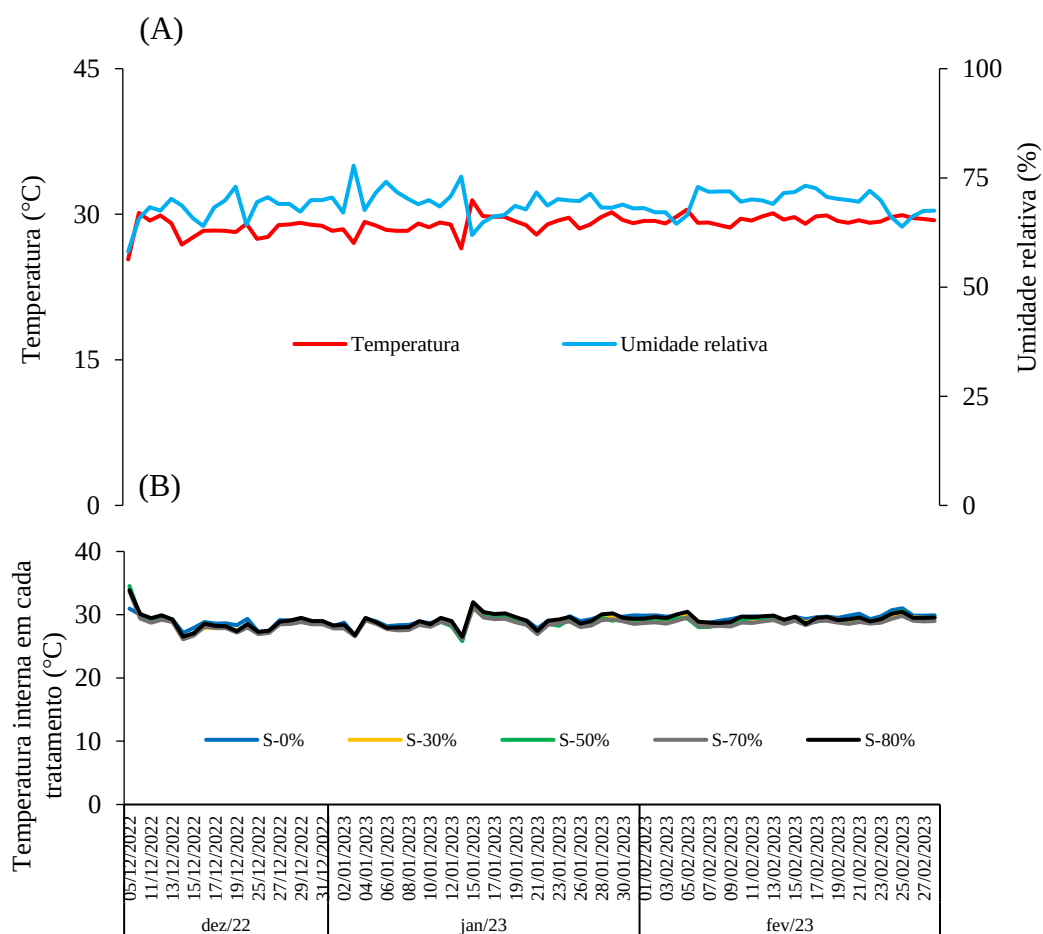


**Figura 2.** (A) temperatura e umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação e (B) temperatura interna nos tratamentos com presença e ausência de sombreamento, referentes aos meses de dezembro/2022 a fevereiro/2023.

Utilizou-se espectrorradiômetros para a obtenção da irradiância ( $\mu\text{W cm}^{-2} \text{ nm}^{-1}$ ) nos comprimentos de ondas da luz visível (SpectraPen/LM 510-H/UVIS, de 380 nm a 790 nm) e infravermelho-próximo (SpectraPen/LM 510-H/NIR, de 640 nm a 1050 nm) no tratamento com ausência e presença de sombreamento (Figura 3A). Os dados de radiação fotossinteticamente ativa ( $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) dentro de cada condição experimental (0; 30; 50; 70 e 80%) foram obtidos diariamente a cada cinco minutos através de sensores de radiação (Figura 3B).

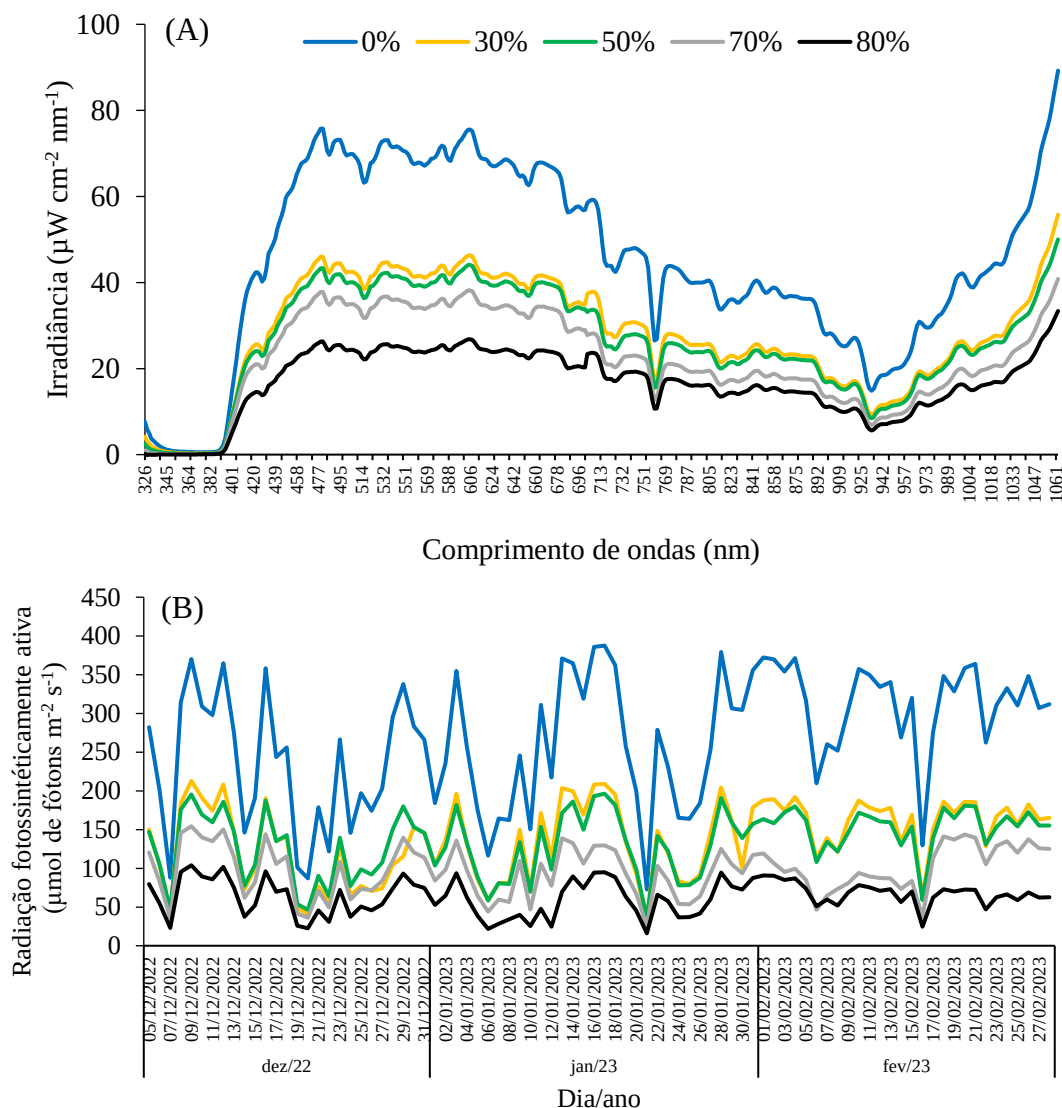


**Figura 3.** (A) caracterização da irradiância por meio do comprimento de ondas de luz visível e infravermelho-próximo (nm) e (B) média diária da radiação fotossinteticamente ativa dentro de cada tratamento com ausência e presença de sombreamento nos meses de dezembro/2022 a fevereiro/2023.

## 2.2 Emergência, vigor e crescimento de mudas

Durante um período de 90 dias avaliou-se a emergência das plântulas (%) (BRASIL, 2009), o índice de velocidade de emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962) e o tempo médio de emergência (TME, dias) (LABOURIAU, 1983). Posteriormente, foram feitas análises de comprimento de parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), área foliar ( $\text{cm}^2$ ) (LI-COR LI-3100C), diâmetro de coleto (DC), massa seca da parte aérea (g), massa seca da raiz (g) e índice de qualidade de Dickson (DICKSON, 1960). Em cada condição

experimental, com ausência e presença de sombreamento as mudas foram fotografadas com o auxílio de uma câmera termográfica de alta resolução (FLIR/T540).

### **2.3 Índice de clorofilas**

Analisou-se o índice de clorofila (Chl) *a* e *b* (ChlorofiLOG<sup>®</sup>, modelo CFL 1030, Falker) das folhas referentes as mudas de cada tratamento, sendo os dados obtidos em unidades adimensionais pelo equipamento ClorofiLOG<sup>®</sup> (FALKER, 2008). Utilizou-se quatro repetições constando de cinco mudas cada, totalizando 20 mudas por tratamento.

### **2.4 Fluorescência da clorofila**

Foram analisados o rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) em folhas expostas ao escuro durante um período de 30 min por meio do equipamento fluorímetro (FluorPen FP 100), sendo  $F_v$  = fluorescência variável e  $F_m$  = fluorescência máxima. Utilizou-se quatro repetições constando de cinco mudas cada, totalizando 20 mudas por tratamento.

### **2.5 Trocas gasosas em mudas**

Para entender o comportamento fotossintético da espécie *L. pisonis*, realizou-se inicialmente uma curva, por meio de medições de trocas gasosas durante um dia ensolarado, nos horários de 8, 10, 12, 14 e 16 h, com o auxílio do equipamento portátil de gás por infravermelho acoplado a uma fonte luminosa de  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  de intensidade de radiação fotossinteticamente ativa (IRGA, Li-Cor, LI-6400, Nebraska, EUA). Analisou-se a folha expandida localizada no terceiro nó de cinco mudas por ambiente com ausência e presença de sombreamento, com sentido ápice-base. O equipamento foi calibrado com dados de temperatura e radiação referentes as horas estipuladas das análises dentro de cada sombreamento (0; 30; 50; 70 e 80%), coletados em um dia ensolarado (Tabela 1). Em seguida realizou-se as trocas gasosas dentro de cada tratamento, no período da manhã (7 até 10 h). Em ambas as análises de trocas gasosas obteve-se as características de taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e transpiração foliar ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

**Tabela 1.** Dados de temperatura e radiação de um dia ensolarado (11/01/2023, Jerônimo Monteiro, ES, Brasil) dentro de cada tratamento com ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%), utilizados para calibrar o equipamento IRGA para a realização das trocas gasosas em mudas de *L. pisonis*.

| Fator climático                                                 | Horários<br>do dia<br>(h) | Sombreamentos (%) |      |      |      |      |
|-----------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------|------|------|------|------|
|                                                                 |                           | 0                 | 30   | 50   | 70   | 80   |
| Radiação<br>( $\mu\text{mol de fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) | 8                         | 627               | 248  | 217  | 158  | 53   |
|                                                                 | 10                        | 1114              | 697  | 562  | 513  | 106  |
|                                                                 | 12                        | 1126              | 756  | 714  | 583  | 402  |
|                                                                 | 14                        | 944               | 544  | 333  | 194  | 177  |
|                                                                 | 16                        | 300               | 146  | 107  | 83   | 67   |
| Temperatura<br>(°C)                                             | 8                         | 30,5              | 29,4 | 30,1 | 31   | 31,8 |
|                                                                 | 10                        | 34                | 34   | 34   | 34   | 34   |
|                                                                 | 12                        | 34,5              | 34,2 | 35,1 | 34,1 | 35,5 |
|                                                                 | 14                        | 35,03             | 35,3 | 32,6 | 35,6 | 33   |
|                                                                 | 16                        | 33,3              | 31,3 | 33,3 | 31,1 | 32,7 |

## 2.6 Delineamento experimental e análise estatística

Foi realizada a regressão das médias relacionadas ao tamanho das sementes (grandes, médias e pequenas) e aos sombreamentos (0, 30, 50, 70 e 80%), com significância \* $p < 0,1$ ; \*\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$  e <sup>ns</sup>não significativo. Quando a interação dos fatores foi significativa, realizou-se o teste de agrupamento de médias Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade. Para as trocas gasosas foi realizado a análise de superfície de resposta (R CORE TEAM, 2021).

## 3. RESULTADOS

A maior emergência de plântulas (83,9%) de *L. pisonis* ocorreu com sementes grandes, apresentando ponto de máxima em 49,32% de sombreamento. As sementes pequenas apresentaram baixa emergência de plântula (25,2%), independente do sombreamento utilizado (Figura 4A). Sementes grandes apresentaram o ponto de máxima para a característica IVE (0,751), quando submetidas a 69,5% de sombreamento (Figura 4B). O tamanho da semente não influenciou para um menor TME, apresentando ponto de

mínima na condição de 59,25% de sombreamento, com valor mínimo de 39,8 dias (Figura 4C).

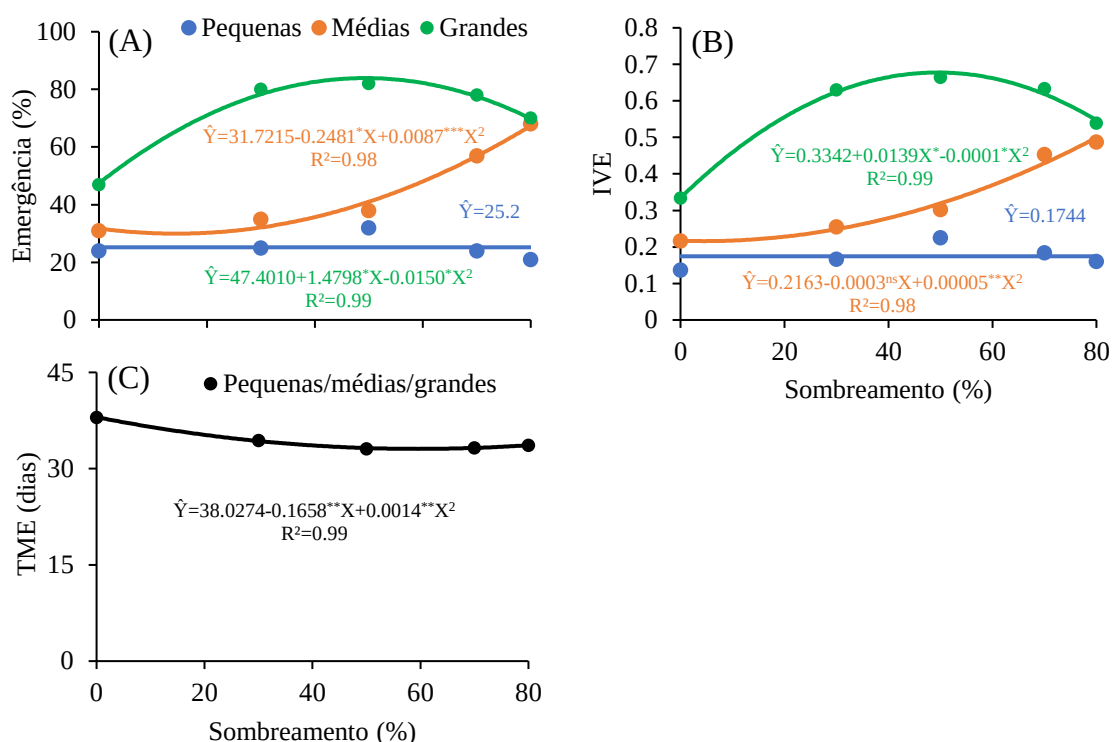


**Figura 4.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis*, oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%). \* $p < 0,1$ ; \*\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ , <sup>ns</sup> não significativo.

Para os três tamanhos de sementes, houve um comportamento linear crescente até o sombreamento de 80% para a característica de crescimento de parte aérea, com os maiores comprimentos observados em mudas oriundas de sementes grandes>médias>pequenas, com médias de 56,83; 47,54 e 33,97 cm, respectivamente (Figura 5A). O comprimento de raiz das mudas não foi influenciado pelo tamanho das sementes, cuja média foi de 13,15 cm (Figura 5B). Para as demais características de crescimento, as sementes grandes se destacaram em comparação as sementes médias e pequenas. A área foliar, massa seca da parte aérea e massa seca total (Figura 5C-G) apresentaram crescimento linear até 80% de sombreamento.

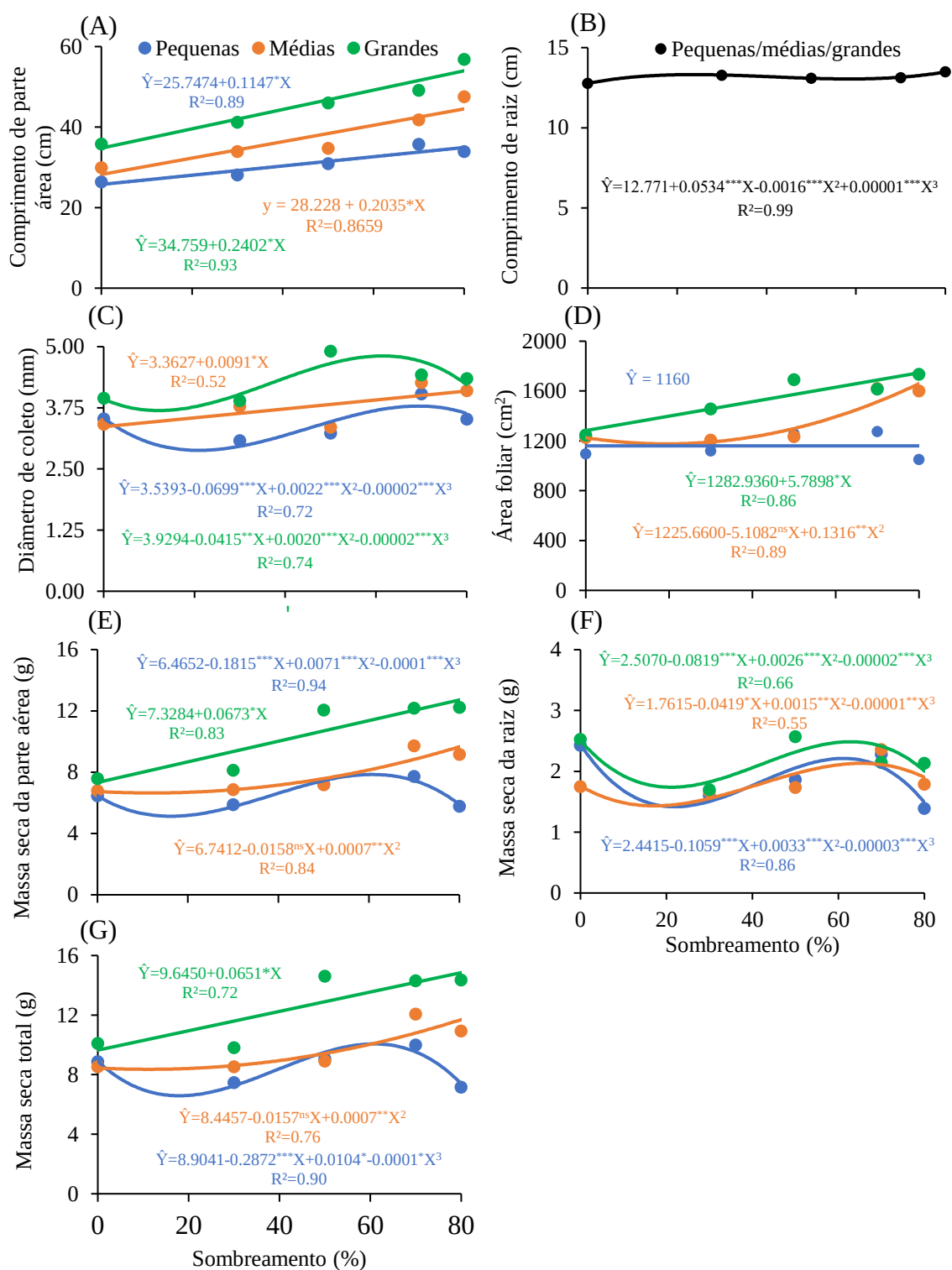


**Figura 5.** Características de crescimento de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%). \*  $p<0,1$ ; \*\*  $p<0,05$ ; \*\*\*  $p<0,001$ ; <sup>ns</sup> não significativo.

No período da manhã (7 h), o índice de Chl *a* e *b* em mudas de *L. pisonis* aumentaram linearmente para sementes médias e grandes até 80% de sombreamento (Figura 6A, B). No início da tarde (12 h), o índice de Chl *a*, apresentou um comportamento linear crescente até o sombreamento de 80%, e o índice de Chl *b* apresentou ponto de máximo (12,01) quando as mudas foram oriundas de sementes grandes e submetidas a 83,83% de sombreamento (Figura 6C, D). A relação  $F_v/F_m$  no período da manhã (7 h) permaneceu constante independente do tamanho das sementes e do sombreamento utilizado (média $_{F_v/F_m}$  = 0,764) (Figura 6E). Entretanto, às 12 h a relação  $F_v/F_m$  apresentou um comportamento linear crescente até o sombreamento de 80% (Figura 6F).

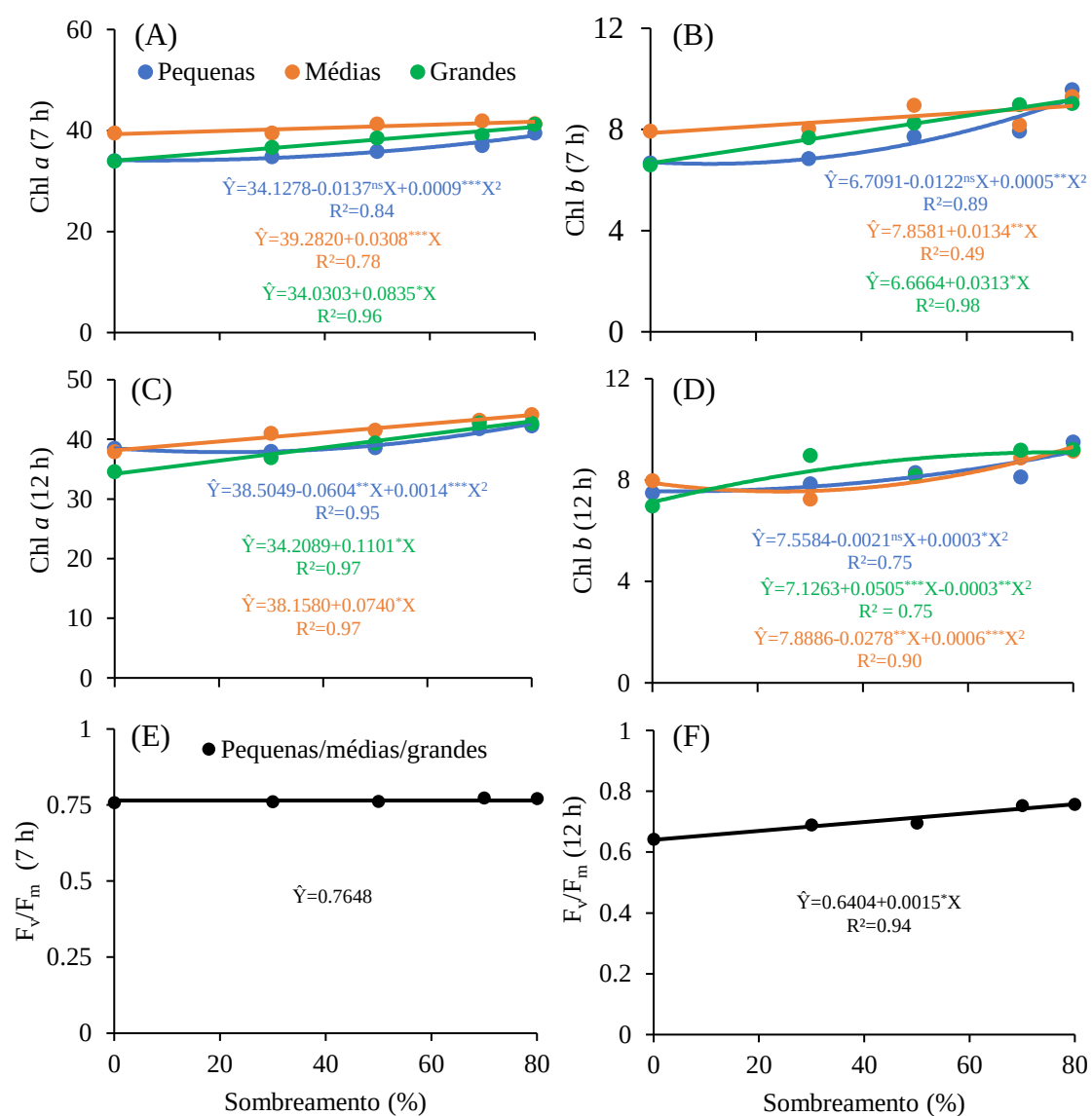


**Figura 6.** Características fisiológicas de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%). \* $p < 0,1$ ; \*\* $p < 0,05$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; <sup>ns</sup>não significativo.

A assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  em mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes médias e grandes apresentaram um comportamento linear decrescente com o aumento do sombreamento. As mudas de sementes pequenas, por sua vez, apresentaram máxima assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $5,76 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) no sombreamento de 13,25%, destacando-se que as mudas com maior assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  localizavam-se na condição de ausência de sombreamento e a menor assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  em 80% de sombreamento (Figura 7A). A condutância estomática e a transpiração foliar apresentaram um comportamento linear decrescente até o sombreamento de 80%, independente do tamanho das sementes (Figura 7B e D). A concentração interna de  $\text{CO}_2$  apresentou um comportamento linear decrescente com o aumento do sombreamento até 80% para mudas de sementes pequenas e médias (Figura 7C).

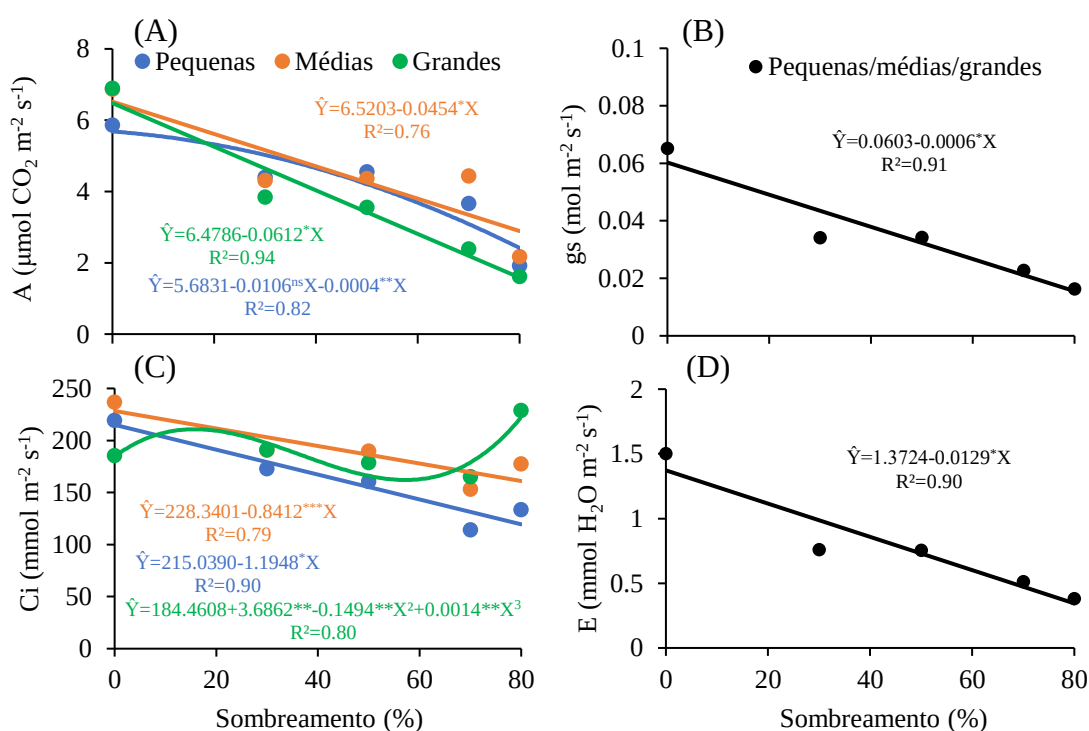


**Figura 7.** (A) assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (B) condutância estomática ( $g_s$ ,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (C) concentração interna de  $\text{CO}_2$  ( $C_i$ ,  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e (E) transpiração foliar ( $E$ ,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes

pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas em diferentes condições de sombreamentos (0; 30; 50; 70 e 80%). \* $p<0,1$ ; \*\* $p<0,05$ ; \*\*\* $p<0,001$ , <sup>ns</sup>não significativo.

Considerando o tamanho (ou a massa) dentro de cada nível de sombreamento, plântulas oriundas de sementes grandes apresentaram maior porcentagem de emergência e IVE a 0; 30; 50 e 70%, quando comparadas a sementes médias e pequenas, e no sombreamento de 80% a emergência e o IVE foram superiores em sementes grandes e médias. A média mais elevada de emergência de plântulas (82%) foi observada em sementes grandes, no sombreamento de 50%, observando-se uma diferença de 50 e 44% em comparação às sementes pequenas e médias, respectivamente. Sementes grandes também produziram mudas com as maiores características de crescimento em todos os sombreamentos estudados (Tabela 2).

**Tabela 2.** Características de emergência de plântulas (E, %), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME, dias), comprimento de parte aérea (CPA, cm), comprimento de raiz (CR, cm), diâmetro de coleto (DC, mm), área foliar (cm<sup>2</sup>), massa seca da parte aérea (MSPA, g), massa seca da raiz (MSR, g) e massa seca total (MST, g) para mudas de *L. pisonis* crescidas na ausência (0%) e presença (30; 50; 70 e 80%) de sombreamento.

| Variáveis             | Tamanho/Massa das sementes <sup>2</sup> (g) | Redução da capacidade luminosa (%) |          |          |          |          |
|-----------------------|---------------------------------------------|------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
|                       |                                             | 0                                  | 30       | 50       | 70       | 80       |
| E (%)                 | Pequenas                                    | 24b <sup>1</sup>                   | 25c      | 32b      | 24c      | 21b      |
|                       | Médias                                      | 31b                                | 35b      | 38b      | 57b      | 68a      |
|                       | Grandes                                     | 47a                                | 80a      | 82a      | 78a      | 70a      |
| IVE                   | Pequenas                                    | 0,137b                             | 0,166b   | 0,225b   | 0,184c   | 0,160b   |
|                       | Médias                                      | 0,217b                             | 0,255b   | 0,302b   | 0,453b   | 0,487a   |
|                       | Grandes                                     | 0,334a                             | 0,630a   | 0,665a   | 0,634a   | 0,539a   |
| CPA (cm)              | Pequenas                                    | 26,38c                             | 28,11c   | 30,94c   | 35,73c   | 33,97c   |
|                       | Médias                                      | 29,94b                             | 33,95b   | 34,70b   | 41,82b   | 47,55b   |
|                       | Grandes                                     | 35,83a                             | 41,18a   | 46,03a   | 49,17a   | 56,83a   |
| DC (mm)               | Pequenas                                    | 3,52b                              | 3,08b    | 3,23b    | 4,04a    | 3,52b    |
|                       | Médias                                      | 3,42b                              | 3,78a    | 3,35b    | 4,27a    | 4,10a    |
|                       | Grandes                                     | 3,95a                              | 3,90a    | 4,91a    | 4,43a    | 4,35a    |
| AF (cm <sup>2</sup> ) | Pequenas                                    | 1096,18a                           | 1119,01b | 1258,04b | 1274,73b | 1051,92b |
|                       | Médias                                      | 1227,06a                           | 1206,65b | 1233,55b | 1619,95a | 1600,82a |

|                                |          |            |          |          |          |          |
|--------------------------------|----------|------------|----------|----------|----------|----------|
|                                | Grandes  | 1247,10a   | 1456,65a | 1691,80a | 1616,73a | 1734,07a |
| MSPA<br>(g)                    | Pequenas | 6,45a      | 5,87b    | 7,20b    | 7,72c    | 5,77c    |
|                                | Médias   | 6,78a      | 6,87b    | 7,17b    | 9,71b    | 9,15b    |
|                                | Grandes  | 7,58a      | 8,12a    | 12,04a   | 12,16a   | 12,22a   |
| MSR<br>(g)                     | Pequenas | 2,43a      | 1,60a    | 1,86b    | 2,28a    | 1,39b    |
|                                | Médias   | 1,75b      | 1,67a    | 1,73b    | 2,36a    | 1,79a    |
|                                | Grandes  | 2,53a      | 1,70a    | 2,57a    | 2,14a    | 2,13a    |
| MST<br>(g)                     | Pequenas | 8,87b      | 7,48b    | 9,06b    | 10,00c   | 7,16c    |
|                                | Médias   | 8,53b      | 8,54b    | 8,90b    | 12,07b   | 10,94b   |
|                                | Grandes  | 10,10a     | 9,82a    | 14,61a   | 14,31a   | 14,35a   |
| Tamanho/Massa das sementes (g) |          | TME (dias) |          | CR (cm)  |          |          |
| Pequenas                       |          | 33,90a     |          | 13,77a   |          |          |
| Médias                         |          | 33,95a     |          | 13,34b   |          |          |
| Grandes                        |          | 35,60a     |          | 12,37c   |          |          |

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade, <sup>2</sup>Tamanho/Massa das sementes: pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g).

O índice de Chl *a* e *b* pela manhã (7 h) apresentaram os valores mais elevados em mudas oriundas de sementes médias, considerando todos os níveis de sombreamentos, não diferindo estatisticamente das sementes grandes no sombreamento de 80% para Chl *a*, e nos sombreamentos de 30; 70 e 80% para Chl *b*. No início da tarde (12 h), o índice de Chl *a* apresentou os maiores valores em mudas oriundas de sementes médias em todas as condições de ausência e presença de sombreamento, não diferindo estatisticamente para mudas de sementes pequenas na ausência de sombreamento e mudas de sementes pequenas e grandes no sombreamento de 70% (Tabela 3).

O índice de Chl *b* (12 h) foi superior em mudas de sementes grandes nos sombreamentos de 30; 50; 70 e 80%, não diferindo estatisticamente das mudas de sementes pequenas e médias no sombreamento de 50%, de sementes médias no sombreamento de 70% e de mudas de sementes pequenas e médias no sombreamento de 80%. Neste mesmo horário, verificou-se que na ausência de sombreamento, as mudas oriundas de sementes pequenas e médias apresentaram os maiores índices de Chl *b* (Tabela 3).

A assimilação líquida de CO<sub>2</sub> foi superior em mudas oriundas de sementes pequenas e médias nos sombreamentos de 30; 50; 70 e 80%, não diferindo

estatisticamente das de sementes grandes nos sombreamentos de 30 e 80%. E na ausência de sombreamento, a maior assimilação líquida de CO<sub>2</sub> foi observada em mudas oriundas de sementes médias e grandes (Tabela 3).

**Tabela 3.** Índice de clorofila (Chl) *a* e *b* e rendimento quântico máximo do PS II (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>) analisados nos horários de 7 e 12 h, assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*, μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), concentração interna de CO<sub>2</sub> (*Ci*, mmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), condutância estomática (*gs*, mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) e transpiração foliar (*E*, mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g) e crescidas na ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%).

| Variáveis                         | Tamanho/Massa de semente <sup>2</sup>               | Redução da capacidade luminosa (%)                                   |          |                                         |                                          |          |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------|------------------------------------------|----------|
|                                   |                                                     | 0                                                                    | 30       | 50                                      | 70                                       | 80       |
| Chl <i>a</i><br>(7 h)             | Pequenas                                            | 34,025b <sup>1</sup>                                                 | 34,825c  | 35,850c                                 | 37,025c                                  | 39,500b  |
|                                   | Médias                                              | 39,500a                                                              | 39,500a  | 41,275a                                 | 41,875a                                  | 41,350a  |
|                                   | Grandes                                             | 33,950b                                                              | 36,650b  | 38,500b                                 | 39,050b                                  | 41,200a  |
| Chl <i>b</i><br>(7 h)             | Pequenas                                            | 6,675b                                                               | 6,850b   | 7,725b                                  | 7,925a                                   | 9,575a   |
|                                   | Médias                                              | 7,925a                                                               | 8,025a   | 8,950a                                  | 8,175a                                   | 9,300a   |
|                                   | Grandes                                             | 6,600b                                                               | 7,675a   | 8,250b                                  | 8,975a                                   | 9,025a   |
| Chl <i>a</i><br>(12 h)            | Pequenas                                            | 38,525a                                                              | 38,000b  | 38,625b                                 | 41,775a                                  | 42,250b  |
|                                   | Médias                                              | 37,900a                                                              | 41,000a  | 41,550a                                 | 43,200a                                  | 44,150a  |
|                                   | Grandes                                             | 34,575b                                                              | 36,950b  | 39,400b                                 | 42,750a                                  | 42,700b  |
| Chl <i>b</i><br>(12 h)            | Pequenas                                            | 7,500a                                                               | 7,850b   | 8,300a                                  | 8,125b                                   | 9,500a   |
|                                   | Médias                                              | 7,975a                                                               | 7,250b   | 8,175a                                  | 8,875a                                   | 9,150a   |
|                                   | Grandes                                             | 6,975b                                                               | 8,975a   | 8,175a                                  | 9,175a                                   | 9,200a   |
| <i>A</i>                          | Pequenas                                            | 5,867b                                                               | 4,405a   | 4,558a                                  | 3,666a                                   | 1,922a   |
|                                   | Médias                                              | 6,871a                                                               | 4,310a   | 4,366a                                  | 4,441a                                   | 2,178a   |
|                                   | Grandes                                             | 6,897a                                                               | 3,850a   | 3,561b                                  | 2,394b                                   | 1,621a   |
| <i>Ci</i>                         | Pequenas                                            | 219,177a                                                             | 172,800a | 160,663a                                | 114,173b                                 | 133,573c |
|                                   | Médias                                              | 236,708a                                                             | 190,806a | 189,866a                                | 153,252a                                 | 177,596b |
|                                   | Grandes                                             | 185,379b                                                             | 191,022a | 178,814a                                | 165,070a                                 | 228,840a |
| Tamanho/Massa<br>das sementes (g) | <i>gs</i><br>(mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) | <i>E</i><br>(mmol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) |          | F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub><br>(7 h) | F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub><br>(12 h) |          |
| Pequenas                          | 0,033b                                              | 0,746b                                                               |          | 0,761a                                  | 0,708a                                   |          |
| Médias                            | 0,040a                                              | 0,885a                                                               |          | 0,761a                                  | 0,703a                                   |          |
| Grandes                           | 0,030b                                              | 0,713b                                                               |          | 0,772a                                  | 0,711a                                   |          |

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott em nível de 5% de probabilidade. <sup>2</sup>Tamanho/Massa das sementes: pequenas (4 a 5,9 g), médias (6 a 7,9 g) e grandes (8 a 9,9 g).

As concentrações internas de CO<sub>2</sub> nas mudas nos sombreamentos de 30 e 50% foram iguais, independente do tamanho das sementes, enquanto para mudas oriundas de sementes grandes, as maiores taxas foram observadas nos sombreamentos de 70 e 80%, não diferindo estatisticamente de mudas de sementes médias no sombreamento de 70%. Na condição de ausência de sombreamento, as maiores taxas foram observadas em mudas de sementes pequenas e médias (Tabela 3). A condutância estomática e a transpiração foliar tiveram as maiores taxas em mudas de sementes médias. A relação  $F_v/F_m$  não foi influenciada pelo tamanho das sementes e horário do dia, contudo, observou-se uma relação  $F_v/F_m$  superior a 0,75 durante o horário de 7 h, e inferior a 0,75 no horário de 12 h (Tabela 3).

Mudas de *L. pisonis* crescidas na presença de luz (0% de sombreamento) possuem temperatura das folhas mais elevadas em relação a mudas sombreadas. Quando a redução da capacidade luminosa é de 80%, ocorre uma diminuição média da temperatura em 5,05 °C (10 h); 8,83 °C (12 h) e 5,48 °C (14 h), quando comparado a condição de ausência de sombreamento (0%) (Figura 8).

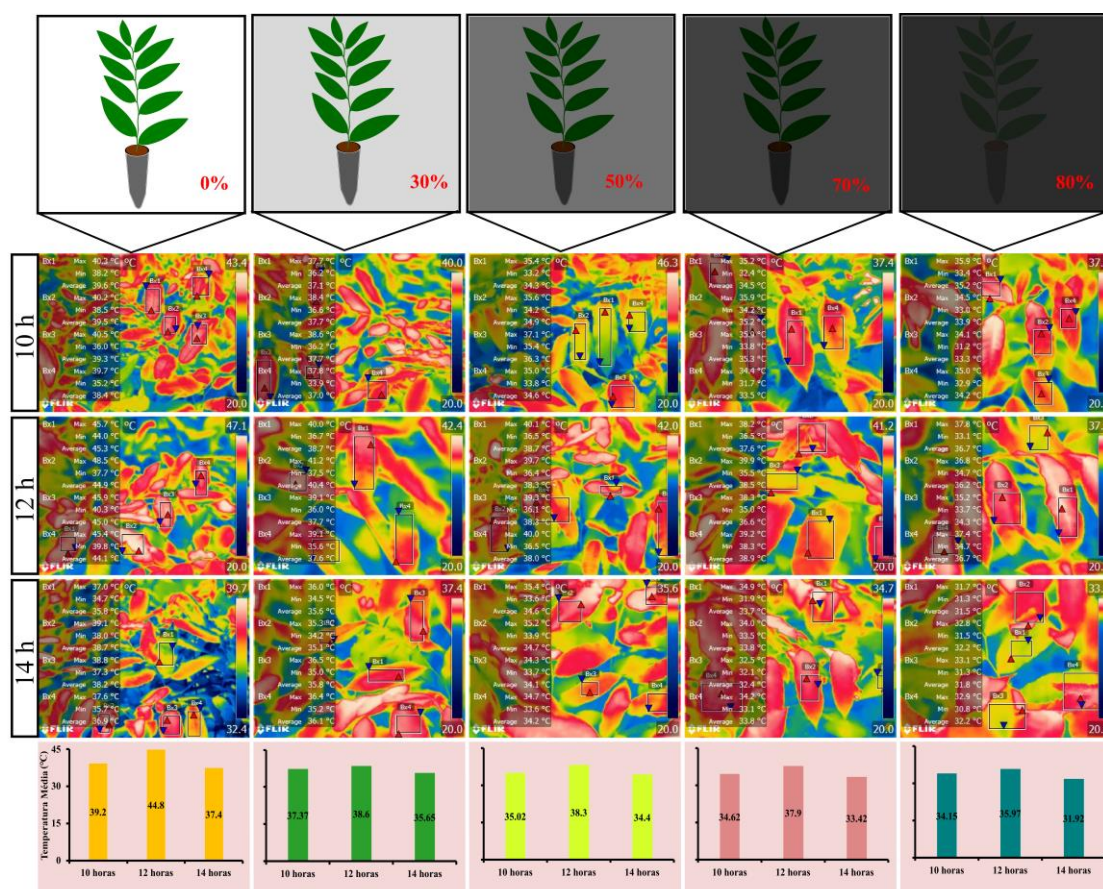


**Figura 8.** Imagens termográficas das mudas de *L. pisonis* em cada ambiente com ausência (0%) e presença de sombreamento (30; 50; 70 e 80%) em três horários do dia (10, 12 e 14 h).

A taxa de assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  na condição de 0% de sombreamento às 8 h foi de  $5,72 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , decrescendo progressivamente até  $2,39 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , no horário de 16 h. Similarmente, os sombreamentos de 30; 50 e 70% apresentaram resultados semelhantes de assimilação, contudo, o sombreamento de 80% apresentou uma menor assimilação líquida de  $\text{CO}_2$  às 8 h ( $3,53 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), com um pequeno aumento nos horários de 10 e 12 h ( $4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), decrescendo a assimilação até o horário de 16 h ( $2,76 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (Figura 9A).

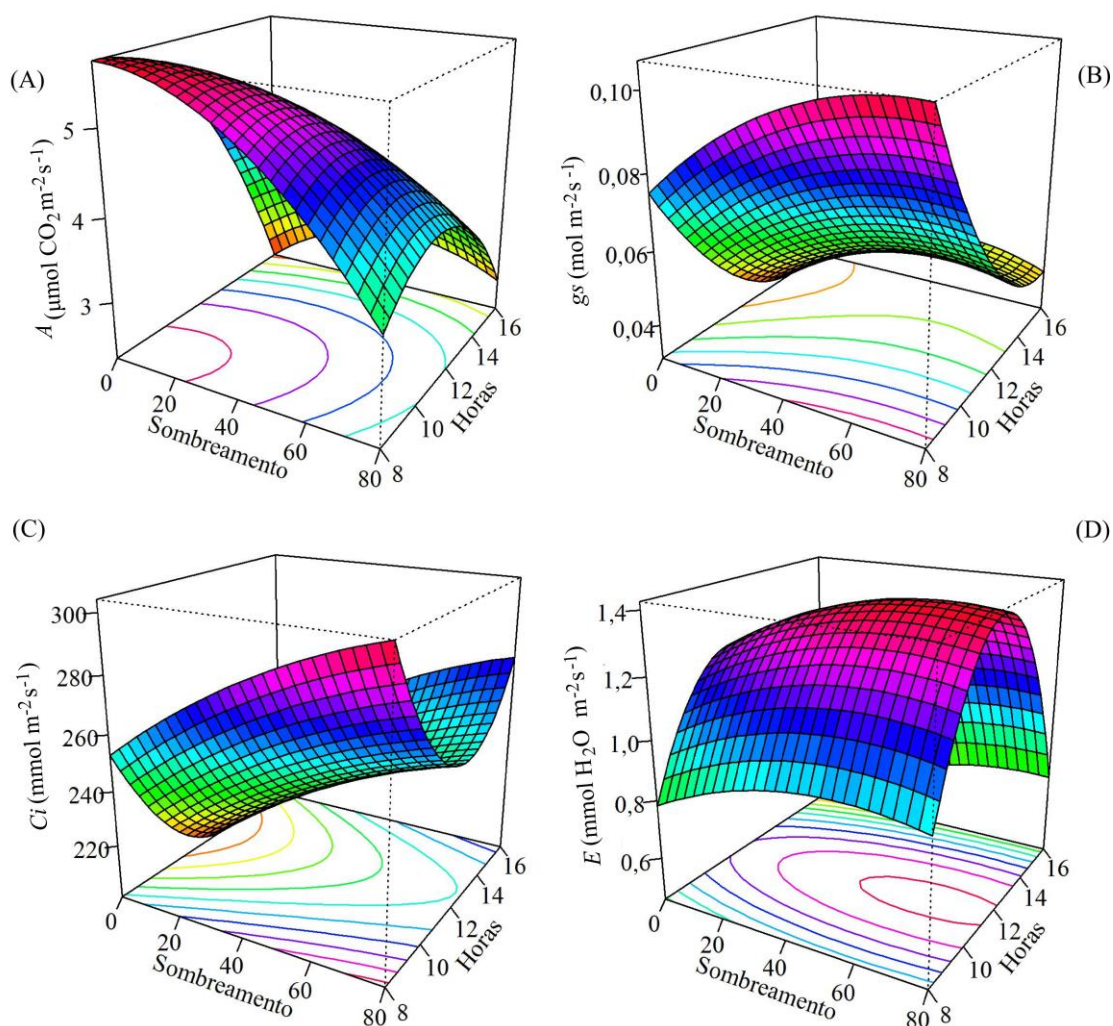


**Figura 9.** Gráficos de superfície de respostas para as características de trocas gasosas em diferentes horas do dia (8; 10; 12; 14 e 16 h) evidenciando a (A) taxa de assimilação

líquida de CO<sub>2</sub> (A,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (B) condutância estomática (*gs*,  $\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), (C) concentração interna de CO<sub>2</sub> (*ci*,  $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e (D) transpiração foliar (*E*,  $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Equações: A ( $Z=2,0156^{\text{ns}}-0,0330^{\text{ns}}X+0,9038^{\text{*}}Y+0,004^{\text{*}}XY-0,00033^{\text{*}}X^2-0,055^{\text{**}}Y^2$ ); *gs* ( $Z=0,2544^{\text{***}}+0,0011^{\text{*}}X-0,0310^{\text{**}}Y-0,00003^{\text{ns}}XY-0,0000057^{\text{ns}}X^2+0,0011Y^2$ ); *ci* ( $Z=584,0574^{\text{***}}+0,9706^{\text{ns}}X-60,4296^{\text{***}}Y-0,0032^{\text{ns}}XY-0,0038^{\text{ns}}X^2+2,3800^{\text{***}}Y^2$ ); *E* ( $Z=-3,5489^{\text{***}}+0,0041^{\text{ns}}X+0,8329^{\text{***}}Y+0,00023^{\text{ns}}XY-0,00005X^2-0,0364Y^2$ ). \*\*\* $p>0,001$ ; \*\* $p<0,01$ ; \* $p<0,05$ ; \* $p<0,1$  e <sup>ns</sup>não significativo.

Em todos os sombreamentos estudados, a condutância estomática foi superior às 8 h, decrescendo até às 16 h, sendo a condutância menor na ausência de sombreamento, com valores de  $0,08 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  às 8 h e  $0,04 \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  às 16 h (Figura 9B). A concentração interna de CO<sub>2</sub> foi superior em mudas sombreadas, principalmente, quando submetidas a 80% de sombreamento, variando de  $304,22 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (8 h) e  $275,69 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (16 h) (Figura 9C). Em todos os sombreamentos, a transpiração foi superior nos horários de 10, 12 e 14 h (Figura 9D).

#### 4. DISCUSSÃO

A maior emergência de plântulas de *L. pisonis* foi observada em sementes grandes, semeadas em 49,32% (~ 50%) de sombreamento. Sementes grandes possuem uma maior quantidade de reservas, quando comparadas a sementes médias e pequenas. Essas reservas podem ser utilizadas como fonte de energia durante os processos de germinação e conferem aporte energético para os estádios de plântula (BATOOL et al., 2022). Sementes de *L. pisonis* são ricas em lipídios (60,8 mg/100 g) (DEMOLINER et al., 2018a), sendo estes uma importante fonte de carbono e energia durante a germinação. Em sementes, os lipídios encontram-se principalmente na forma de triacilgliceróis (TAG), os quais durante a germinação são metabolizados em sacarose. Esta metabolização ocorre inicialmente por meio da quebra dos TAG presentes nos oleossomos, a qual é mediada pela enzima lipase por meio de uma reação de hidrólise, formando ácidos graxos e glicerol. Por meio da  $\beta$ -oxidação e do ciclo do glioxilato forma-se carbono reduzido nos glioxissomos, os quais são reduzidos em carboidratos no citosol via gliconeogênese (TAIZ et al., 2017). A mobilização lipídica é regulada por fatores que influenciam diretamente a atividade da lipase (BABAZADEH et al., 2012). Em sementes, a atividade da lipase pode ser ativada por giberelinas, um hormônio vegetal responsável pela germinação e superação de dormência em sementes (XIA et al., 2023).

Mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes grandes também apresentaram um maior crescimento da parte aérea, área foliar, massa seca da parte aérea, raiz e total, e diâmetro do coleto. O tamanho das sementes relaciona-se positivamente com as características de crescimento de mudas (ADJI et al., 2022), como observado em estudos realizados com a espécie *Castanea sativa* Mill., cujo tamanho das sementes afeta diretamente o crescimento inicial das plântulas, evidenciando que sementes grandes geram plântulas de maior comprimento de parte aérea e maior diâmetro da raiz (TUMPA et al., 2021). O maior investimento das sementes na formação de parte aérea pode estar relacionado com maiores teores de nitrogênio presentes na constituição endospermica das sementes (SILVA et al., 2021), sendo observado em sementes de 21 árvores de *L. pisonis* uma variação de 27,4 a 39,9  $\mu\text{g g}^{-1}$  de nitrogênio (ROSA et al., 2020).

O crescimento de mudas de *L. pisonis* também foi favorecido com o aumento do sombreamento. Plantas submetidas a condições de baixa intensidade luminosa, tendem a aumentar a sua área foliar, visando captar uma maior quantidade de energia luminosa. Em programas de restauração de florestas nubladas e pastagens, espécies tolerantes à sombra sobrevivem nas duas condições, sendo observado que as mudas com maiores valores de massa foliar por área, alcançaram altas porcentagens de sobrevivência (ACEVES et al., 2022). Plantas tolerantes à sombra são sensíveis ao estresse térmico, podendo sofrer danos em inúmeros processos metabólicos por meio da desestabilização de membranas, inativação de enzimas, quebra de moléculas sensíveis, a exemplo das proteínas, e uma diminuição da síntese de carboidratos (BITA; GERATS, 2013; AHMAD et al., 2021). Ambientes com alta radiação solar tendem a ser mais estressantes, acarretando em um maior acúmulo do hormônio do estresse nos tecidos vegetativos e em sementes, sendo este o ácido abscísico (ABA), o qual pode afetar a capacidade fotossintética por meio do fechamento estomático, e nas sementes, induz a dormência e inibição da germinação (FINKELSTEIN et al., 2002).

O aumento do sombreamento favoreceu a produção de Chls *a* e *b* quando comparados aos tratamentos com ausência de sombreamento. Plantas quando estressadas pela luz aumentam o processo de degradação das Chls. As clorofilas estão localizadas nas membranas dos tilacóides nos cloroplastos, e são pigmentos fundamentais na absorção de energia luminosa usada na fotossíntese (TAIZ et al., 2017). As Chls *a* e *b* possuem polaridades distintas, sendo a Chl *b* um pigmento acessório encontrado em menores concentrações nas plantas. A alta concentração de Chls nos tecidos vegetais, pode gerar eventos de superexcitação em ocasiões de alta exposição à energia solar. Isto acarreta na

produção de radicais livres e EROs, que irão lesionar as células. Em função disto, vários mecanismos estão associados ao catabolismo deste pigmento, sendo acionados por fatores abióticos do ambiente, a exemplo da luminosidade (HÖRTENSTEINER; KRÄUTLER, 2011).

A relação  $F_v/F_m$  foi superior a 0,75 durante o horário de 7 h e inferior a 0,75 no horário de 12 h. Esta relação refere-se à possibilidade de eventos fotoquímicos ocorrerem no PS II em decorrência da presença de um fóton preso no centro de reação (BANKS, 2017). As plantas tendem a se aclimatizar em função das condições a que são expostas no ambiente natural. Um dos mecanismos fisiológicos utilizados por algumas espécies expostas ao sol pleno é a flutuação das suas taxas fotossintéticas e nos seus mecanismos fotoprotetores ao longo do dia, visando o controle do excesso de fótons absorvidos, evitando danos oxidativos. Em função disto, observa-se que nas primeiras horas do dia, as plantas utilizam a energia fotossintética absorvida de forma moderada, a qual chega à saturação no período da tarde (12 h) e volta à eficiência do uso da fotossíntese no restante do dia. Isto não ocorre em plantas crescidas em locais com níveis baixos de radiação, as quais normalmente possuem taxas fotossintéticas baixas (LÓPEZ-POZO et al., 2023).

Mudas de *L. pisonis* crescidas na ausência de sombreamento apresentam temperaturas de folhas mais elevada em relação a mudas sombreadas. A termografia pode ser utilizada visando compreender o comportamento da condutância estomática e o desempenho de mudas expostas a diferentes condições de sombreamentos (CRAPARO et al., 2017). A intensidade de luminosidade é um dos fatores ambientais que controla a abertura estomática em plantas. Os estômatos regulam as trocas gasosas no limbo foliar, mantendo um equilíbrio entre a absorção de CO<sub>2</sub> e a perda de água pela transpiração. Em função disto, a regulação estomática controla a temperatura foliar, que sob condições estressantes, pode aumentar devido ao fechamento destes estômatos (HETHERINGTON; WOODWARD, 2003).

Por meio dos gráficos de superfície de respostas, observa-se que as mudas crescidas na ausência de sombreamento tiveram uma maior taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, contudo, apresentaram um menor conteúdo interno de CO<sub>2</sub> disponível para a fotossíntese. Uma das explicações possíveis, é que a maior parte do CO<sub>2</sub> fixado está sendo perdida pela fotorrespiração, a considerar a baixa concentração disponível de CO<sub>2</sub> e o aumento da temperatura foliar nessa condição, o que favorece a atividade oxigenase da ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO). A temperatura foliar elevada interfere nas propriedades cinéticas da RuBisCO, diminuindo a sua especificidade pelo

CO<sub>2</sub> (BUSCH, 2020). Isto explica o menor crescimento e acúmulo de biomassa nas mudas de *L. pisonis* crescidas na ausência de sombreamento.

## 5. CONCLUSÕES

Este estudo evidenciou que o vigor e a emergência de plântulas de *L. pisonis* é influenciada pelo tamanho das sementes e pela intensidade luminosa, observado-se um maior vigor em sementes grandes (8 a 9,9 g), principalmente, quando semeadas em ambientes com 49,32% (~ 50%) de sombreamento.

As características de crescimento das mudas de *L. pisonis* foram superiores quando oriundas de sementes grandes, o que pode estar relacionado ao seu maior conteúdo de reserva.

Mudas crescidas na ausência de sombreamento diminuíram a concentração dos seus pigmentos fotossintéticos (Chls *a* e *b*), sendo isto comum em plantas estressadas pela alta luminosidade.

Mudas crescidas na ausência de sombreamento possuem alta temperatura foliar em comparação a mudas sombreadas, o que pode favorecer a fotorrespiração e perdas na fotossíntese líquida.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVES, T. T.; MOHENO, M. B.; SOSA, V. J.; BARRERA, F. L.; LINERA, G. W. Leaf functional traits predict shade tolerant tree performance in cloud forest restoration plantings. **Journal of Applied Ecology**, v. 59, p. 2274-2286, 2022.

BUSCH, F. A. Photorespiration in the context of Rubisco biochemistry, CO<sub>2</sub> diffusion and metabolism. **The Plant Journal**, v. 101, p. 919-939, 2020.

I.; AKAFFOU, D. S.; DE REFFYE, P.; SABATIER, S. Maternal environment and seed size are important for successful germination and seedling establishment of *Pterocarpus erinaceus* (Fabaceae). **Journal of Forestry Research**, v. 33, p. 977-990, 2022.

AHMAD, M.; WARAICH, E. A.; SKALICKY, M.; HUSSAIN, S.; ZULFIQAR, U.; ANJUM, M. Z.; RAHMAN, M. H. U.; BRESTIC, M.; RATNASEKERA, D.; LAMILLA-TAMAYO, L.; AL-ASHKAR, I.; SABAGH, A. Adaptation strategies to improve the resistance of oilseed crops to heat stress under a changing climate: an overview. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 767150, 2021.

ANJOS, L.; OLIVA, M. A.; KUKI, K. N.; MIELKE, M. S.; VENTRELLA, M. C.; GALVÃO, M. F.; PINTO, L. R. Key leaf traits indicative of photosynthetic plasticity in tropical tree species. **Trees**, v. 29, p. 247-258, 2015.

ARAUJO, C. P. **Árvores frutíferas funcionais da Floresta Atlântica: diversidade fenotípica e molecular, composição hormonal, nutricional e antioxidante em *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata***. 2020. 104 fls. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, Espírito Santo. 2020.

ARAUJO, C. P.; SIMÕES, I. M.; ROSA, T. L.; MELLO, T.; CANL, G. B.; FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; SOUZA, T. S.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, P. F.; NOVAES, F. J. M.; GONÇALVES, F. G.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Functional fruit trees from the Atlantic and Amazon Forests: selection of potential chestnut trees rich in antioxidants, nutrients, and fatty acids. **Foods**, v. 12, p. 4422, 2023.

BABAZADEH, N.; POURSAADAT, M.; SADEGHIPOUR, H. R.; COLAGAR, A. H. Z. Oil body mobilization in sunflower seedlings is potentially regulated by thioredoxin. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 57, p. 134-142, 2012.

BANKS, J. M. Continuous excitation chlorophyll fluorescence parameters: a review for practitioners. **Tree Physiology**, v. 37, p. 1128-1136, 2017.

BATOOL, M.; EL-BADRI, A. M.; WANG, C.; MOHAMED, I. A.; WANG, Z.; KHATAB, A.; BASHIR, F.; XU, Z.; WANG, J.; KUAI, J.; WANG, B.; ZHOU, G. The role of storage reserves and their mobilization during seed germination under drought stress conditions of rapeseed cultivars with high and low oil contents. **Crop and Environment**, v. 1, p. 231-240, 2022.

BITA, C. E.; GERATS, T. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 273, 2013.

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

CERQUEIRA, A. F.; DALMOLIN, Â. C.; ANJOS, L.; SILVA LEDO, C. A.; COSTA SILVA, D.; MIELKE, M. S. Photosynthetic plasticity of young plants of *Carpotroche brasiliensis* (Raddi) A. Gray, Achariaceae. **Trees**, v. 32, p. 191-202, 2018.

CRAPARO, A. C. W.; STEPPE, K.; VAN ASTEN, P. J.; LÄDERACH, P.; JASSOGNE, L. T.; GRAB, S. W. Application of thermography for monitoring stomatal conductance of *Coffea arabica* under different shading systems. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 755-763, 2017.

DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**, v. 108, p. 27-34, 2018a.

DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: A promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile. **Food Research International**, v. 112, p. 434-442, 2018b.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, v. 36, p. 10-13, 1960.

FALKER. **Automação agrícola**. Manual do medidor eletrônico de teor clorofila (ClorofiLOG/CFL 1030). Porto Alegre, 2008. p. 33.

FARIA, D.; MORANTE-FILHO, J. C.; BAUMGARTEN, J.; BOVENDORP, R. S.; CAZETTA, E.; GAIOTTO, F. A.; MARIANO-NETO, E.; MIELKE, M. S.; PESSOA,

- M. S.; ROCHA-SANTOS, L.; SANTOS, A. S.; SOARES, L. A. S. S.; TALORA, D. C.; VIEIRA, E. M.; BENCHIMOL, M. The breakdown of ecosystem functionality driven by deforestation in a global biodiversity hotspot. **Biological Conservation**, v. 283, p. 110126, 2023.
- FINKELSTEIN, R. R.; GAMPALA, S. S.; ROCK, C. D. Absciscic acid signaling in seeds and seedlings. **The Plant Cell**, v. 14, p. S15-S45, 2002.
- FIRMINO, T. P.; SOUZA, L. A.; BARBEIRO, C.; MARCÍLIO, T.; ROMAGNOLO, M. B.; PASTORINI, L. H. Influence of the light on the morphophysiological responses of native trees species of the semidecidual stational forest. **Brazilian Journal of Botany**, v. 44, p. 963-976, 2021.
- HETHERINGTON, A. M.; WOODWARD, F. I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, v. 424, p. 901-908, 2003.
- HÖRTENSTEINER, S.; KRÄUTLER, B. Chlorophyll breakdown in higher plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1807, p. 977-988, 2011.
- JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. Mc Graw Hill, New York. 1940. p. 41.
- LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA. 1983. 174p.
- LAMONT, B. B.; PAUSAS, J. G. Seed dormancy revisited: Dormancy-release pathways and environmental interactions. **Functional Ecology**, v. 37, p. 1106-1125, 2023.
- LAUMANN, P. D.; FERREIRA, M. C.; SILVA, D. A.; VIEIRA, D. L. M. Germination traits explain the success of direct seeding restoration in the seasonal tropics of Brazil. **Forest Ecology and Management**, v. 529, p. 120706, 2023.
- LEY-LOPEZ, J. M.; WAWRZYNIAK, M. K.; CHACON-MADRIGAL, E.; CHMIELARZ, P. Seed traits and tropical arboreal species conservation: a case study of a highly diverse tropical humid forest region in Southern Costa Rica. **Biodiversity and Conservation**, v. 32, p. 1573-1590, 2023.
- LÓPEZ-POZO, M.; ADAMS III, W. W.; POLUTCHKO, S. K.; DEMMIG-ADAMS, B. Terrestrial and floating aquatic plants differ in acclimation to light environment. **Plants**, v. 12, p. 1928, 2023.
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.

MATHUR, S.; JAIN, L.; JAJOO, A. Photosynthetic efficiency in sun and shade plants. **Photosynthetica**, v. 56, p. 354-365, 2018.

POLMANN, G.; BADIA, V.; DANIELSKI, R.; FERREIRA, S. R. S.; BLOCK, J. M. Non-conventional nuts: An overview of reported composition and bioactivity and new approaches for its consumption and valorization of co-products. **Future Foods**, v. 4, p. 100099, 2021.

PRANCE, G. T.; MORI, S., A. Observations on the fruits and seeds of neotropical Lecythidaceae. **Brittonia**, v. 30, p. 21-33, 1978.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>, Acesso: 15 de dezembro de 2023.

ROSA, T. L. M.; ARAUJO, C. P.; KAMKE, C.; FERREIRA, A.; FERREIRA, M. F. S.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; OTONI, W. C.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Sapucaia nut: morphophysiology, minerals content, methodological validation in image analysis, phenotypic and molecular diversity in *Lecythis pisonis* Cambess. **Food Research International**, v. 137, p. 109383, 2020.

SILVA, M. S. R. A.; SANTOS, B. M. S.; CHÁVEZ, D. W. H.; OLIVEIRA, R.; SANTOS, C. H. B.; OLIVEIRA, E. C.; RIGOBELLO, E. C. K-humato como alternativa agrícola para aumentar a nodulação de grãos de soja inoculados com *Bradyrhizobium*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 36, p. 102-129, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed. 2017. 858 p.

TOLEDO-ACEVES, T.; BONILLA-MOHENO, M.; SOSA, V. J.; LÓPEZ-BARRERA, F.; WILLIAMS-LINERA, G. Leaf functional traits predict shade tolerant tree performance in cloud forest restoration plantings. **Journal of Applied Ecology**, v. 59, p. 2274-2286, 2022.

TUMPA, K.; VIDA KOVIĆ, A.; DRVO DELIĆ, D.; ŠANGO, M.; IDŽOJTIĆ, M.; PERKOVIĆ, I.; POLJAK, I. The effect of seed size on germination and seedling growth in sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.). **Forests**, v. 12, p. 858, 2021.

VESELÁ, A.; DOSTÁLEK, T.; ROKAYA, M. B.; MÜNZBERGOVÁ, Z. Seed mass and plant home site environment interact to determine alpine species germination patterns along an elevation gradient. **Alpine Botany**, v. 130, p. 101-113, 2020.

WARRIER, R. R.; KUNHIKANNAN, C. Significance of soil seed bank in forest vegetation - A Review. **Seeds**, v. 1, p. 181-197, 2022.

XIA, J.; HAO, X.; WANG, T.; LI, H.; SHI, X.; LIU, Y.; LUO, H. Seed priming with gibberellin regulates the germination of cotton seeds under low-temperature conditions. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 42, p. 319-334, 2023.

ZHAO, G.; SHEN, Y.; LIU, W.; TAN, B.; LI, Z.; WANG, Q. Quantifying the effect of shading and watering on seed germination in translocated forest topsoil at a subtropical karst of China. **Forest Ecology and Management**, v. 459, p. 117811, 2020.

**CAPÍTULO III – TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO DE SEMENTES DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.**

## RESUMO

ARAUJO, Caroline Palacio de. **Tolerância à dessecação de sementes de *Lecythis pisonis* Cambess.** 2024. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

A regeneração e sobrevivência de plantas produtoras de sementes nos ecossistemas florestais é influenciada pela capacidade de suas sementes tolerarem a dessecação em níveis baixos de água. Em função disto, originou-se as classificações de sementes ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes, sendo a compreensão destes processos importantes para a conservação das espécies florestais no armazenamento. Objetivou-se estudar a tolerância à dessecação e a manutenção da viabilidade de sementes da castanheira *L. pisonis*. Com o auxílio de uma estufa regulada a 40 °C, foi realizada a secagem de sementes com o teor inicial de água de 30% (controle), obtendo-se em seguida lotes de sementes com teores de água de 15, 10 e 4%. Um lote foi semeado em tubetes de polipropileno com substrato orgânico, e dois com o teor de água em 4% foram acondicionados em recipientes de alumínio e armazenados durante três meses, em duas condições de temperaturas: freezer (-20 °C) e ultrafreezer (-86 °C). As características analisadas foram emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, tempo médio de emergência, características de crescimento de mudas, índice de clorofila *a* e *b*, fluorescência da clorofila e rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ). Sementes recém-retiradas dos frutos, com teor de água de 30% apresentaram maior porcentagem de emergência de plântulas. A emergência de plântulas decresceu em função do teor de água nas sementes (30>15>10>4%), variando entre 88 a 64% de emergência, respectivamente. Sementes secas a 4% de água e armazenadas em baixas temperaturas (-20 e -86 °C) apresentaram 45% de emergência de plântulas, enquanto aquelas armazenadas a -86 °C apresentaram maior IVE. Conclui-se que sementes de *L. pisonis* possuem características intermediárias, pois, toleram a dessecação do embrião a baixos conteúdos de água (15, 10 e 4%), contudo, mesmo secas a 4% de água, são sensíveis a baixas temperaturas para o armazenamento (-20 e -86 °C).

**Palavras-chave:** sapucaia, qualidade de sementes, teor de água, conservação.

### ABSTRACT

ARAUJO, Caroline Palacio de. **Desiccation tolerance of *Lecythis pisonis* Cambess. seeds.** 2024. Thesis (Doctorate in Forestry Sciences) - Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Advisor: Prof. DSc. Rodrigo Sobreira Alexandre.

The survival and regeneration of seed-producing plants in forest ecosystems is influenced by the ability of their seeds to tolerate desiccation at low water levels. As a result, classifications of orthodox, intermediate and recalcitrant seeds were created, with understanding these processes being important for the conservation of forest species in storage. The objective of this study was to understand the tolerance to desiccation and maintenance of seed viability of the chestnut tree *L. pisonis*. With the aid of an oven set at 40 °C, seeds were dried with an initial water content of 30% (control), subsequently obtaining batches of seeds with water contents of 15, 10 and 4%, which were sown without going through storage. Subsequently, two batches of seeds were stored with a water content of 4% for three months, in two temperature conditions: freezer (-20 °C) and ultrafreezer (-86 °C), with the seeds placed in aluminum containers. The characteristics analyzed were seedling emergence, emergence speed index, average emergence time, seedling growth characteristics, chlorophyll *a* and *b* index, chlorophyll fluorescence and maximum quantum yield of PS II ( $F_v/F_m$ ). Seeds recently removed from the fruits, with a water content of 30%, showed the highest percentage of seedling emergence. Seedling emergence decreased depending on the water content in the seeds (30>15>10>4%), varying between 88 and 64% emergence, respectively. Seeds dried at 4% water and stored at low temperatures (-20 and -86 °C) showed an average of 45% seedling emergence, however, seeds stored at -86 °C had a higher IVE. It is concluded that *L. pisonis* seeds have intermediate characteristics, as they tolerate embryo desiccation at low water contents (15, 10 and 4%), however, even when dried at 4% water, they are sensitive to low temperatures in the storage (-20 and -86 °C).

**Keywords:** sapucaia, seed quality, water content, conservation.

## 1. INTRODUÇÃO

A tolerância à dessecação é uma característica comum em vários táxons, sendo observada em plantas, microorganismos e animais. Pode ser definida como a capacidade das células suportarem à dessecação a níveis inferiores a  $0,1 \text{ g H}_2\text{O}^{-1} \text{ g de massa seca}^{-1}$ , mantendo a integridade dos seus tecidos após a reidratação (ALPERT, 2005). Nas espermatófitas, esse processo está centralizado, principalmente, nas sementes e no pólen, o que é fundamental para a manutenção das gerações de muitas espécies de plantas, quando expostas a condições ambientais desfavoráveis (DEKKERS et al., 2015).

Compreender a tolerância à dessecação das sementes de uma espécie contribui para o êxito em sua conservação no armazenamento. Contudo, ainda existe uma enorme lacuna em estudos sobre conservação de sementes na área florestal, mesmo com a exploração desenfreada de recursos madeireiros e não madeireiros, e tal conhecimento ainda é concentrado para àquelas de maior potencial para a atividade humana. Isso pode ser observado com a espécie *Lecythis pisonis* Cambess. (Lecythidaceae), que mesmo considerada não convencional, suas castanhas são consumidas *in natura*, cozidas ou torradas, podendo também ser fonte de matéria-prima na produção de farinha, leite e doces (KINUPP; LORENZI, 2021). É uma oleaginosa encontrada na Floresta Atlântica e na Amazônica, com capacidade produtiva de castanhas ricas em antioxidantes, ácidos graxos insaturados (oleico e linoleico) e nutrientes essenciais (DEMOLINER et al., 2018; ARAUJO et al., 2023). Estudos relacionados com a sua conservação irão evitar que futuramente haja um manejo inadequado e uma exploração descontrolada de seus recursos.

Durante a maturação, sementes ortodoxas passam pela tolerância à dessecação, sendo dispersas no ambiente com um baixo conteúdo de água. Estas sementes toleram longos períodos no armazenamento, em baixa temperatura e umidade, e resistem a desidratação em conteúdos aproximados de 2 a 5% (ROBERTS, 1973; BERJAK; PAMMENTER, 2002; YULIANTI et al., 2020; LAH et al., 2023). Diferentemente, as sementes recalcitrantes são dispersas com o conteúdo de água elevado, o que as faz perder rapidamente a viabilidade e a sua capacidade de resistir as condições de armazenamento e a desidratação do embrião (<12% de água), além do elevado teor de água propiciar no armazenamento uma condição ideal para que ocorra contaminações por microrganismos (ROBERT, 1973; BERJAK; PAMMENTER, 2013; DEKKERS et al., 2015; YULIANTI et al., 2020).

Após a compreensão destas duas classificações (ortodoxas e recalcitrantes), Ellis et al. (1990 e 1991) observaram que algumas espécies produzem sementes com características comuns a ambas as classificações, denominando-as de intermediárias. Sementes intermediárias resistem a dessecação quando realizada de forma lenta, mantendo a sua viabilidade normalmente nos teores de água próximos de 10 e 20% (ROBERT, 1973). Também toleram ao armazenamento por um período superior a sementes recalcitrantes, contudo, a sua viabilidade se perde rapidamente em condições de baixas temperaturas (ELLIS et al., 1990; YULIANTI et al., 2020).

Muitos mecanismos estão envolvidos na aquisição da tolerância à dessecação em sementes, contribuindo para a manutenção da viabilidade após a reidratação. Sementes com características ortodoxas passam por mudanças estruturais intracelulares, podendo reduzir o volume dos vacúolos, o que impede danos mecânicos nas células. Ocorre também processos de desdiferenciação intracelular, o qual é revertido durante a reidratação dos tecidos na germinação. Sementes ortodoxas também diminuem a sua frequência respiratória durante a desidratação e são dotadas de um sistema antioxidante eficiente, atuando contra a produção e danos ocasionados pelos radicais livres e espécies reativas de oxigênio (EROs) (ROOPASHREE; SHIVARANJAN, 2023).

A aquisição de tolerância à dessecação em sementes ortodoxas também está relacionada ao acúmulo de proteínas abundantes na embriogênese tardia (LEA), proteínas do choque térmico, acúmulo de oligossacarídeos da série rafínósica e ativação do sistema antioxidante enzimático e não enzimático. Diferentemente, sementes recalcitrantes possuem o metabolismo ativo e durante eventos de desidratação o seu metabolismo aquoso continua de maneira desequilibrada, aumentando a produção de radicais livres e EROs, e consequentemente, os processos oxidativos, danos celulares e a deterioração das sementes (BERJAK; PAMMENTER, 2013; LI et al., 2022).

A secagem é um processo que visa à manutenção da qualidade fisiológica das sementes em condições de armazenamento, evitando processos de degradação, germinação prematura e contaminação por microorganismos (KHURANA; SINGH, 2001; MARTÍN et al., 2022). Compreender a tolerância à dessecação visando uma classificação adequada da espécie *L. pisonis* quanto a longevidade de suas sementes é fundamental para o seu manejo adequado. Em função disso, objetivou-se com este estudo compreender a tolerância à dessecação e a manutenção da viabilidade de sementes de *L. pisonis*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Colheita e coordenadas geográficas

Frutos fechados da espécie *Lecythis pisonis* foram colhidos de cinco árvores localizadas no município de Laranja da Terra, Espírito Santo, Brasil, com as seguintes coordenadas: árvore 1 (19°47'01.4"S e 41°09'18.4"W), árvore 2 (19°47'01.6"S e 41°09'14.9"W), árvore 3 (19°47'08.7"S e 41°09'20.2"W), árvore 4 (19°47'05.3"S e 41°09'16.7"W) e árvore 5 (19°47'04.6"S e 41°09'16.7"W). Estes frutos foram levados para o Laboratório de Sementes Florestais, pertencente ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, na Universidade Federal do Espírito Santo.

### 2.2 Teor de água nas sementes

Após a colheita, os frutos do tipo pixídio foram deixados em bancada para abrirem naturalmente, sendo em seguida realizada a umidade das sementes. Sabendo-se a umidade inicial das sementes recém-retiradas dos frutos (30% de água - controle), iniciou-se os tratamentos de secagem das sementes segundo os preceitos de Hong e Ellis (1996), com adaptações (Figura 1). Para isto, utilizou-se uma estufa regulada a 40 °C na secagem das sementes, obtendo-se lotes com diferentes teores de água, sendo estes 15, 10 e 4%. Parte das sementes com teor de água de 4% foram armazenadas em recipientes de alumínio, com volume de 1800 mL, por um período de três meses nas temperaturas de freezer (-20) e ultrafreezer (-86 °C), para posterior semeadura, sendo armazenadas 150 sementes/tratamento. Os teores de água foram obtidos com a utilização da equação 1, sendo  $U$  (%) = porcentagem de água perdida, MF = massa fresca e MS = massa seca (BRASIL, 2009).

Equação 1:

$$U (\%) = \frac{MF - MS * 100}{MF}$$

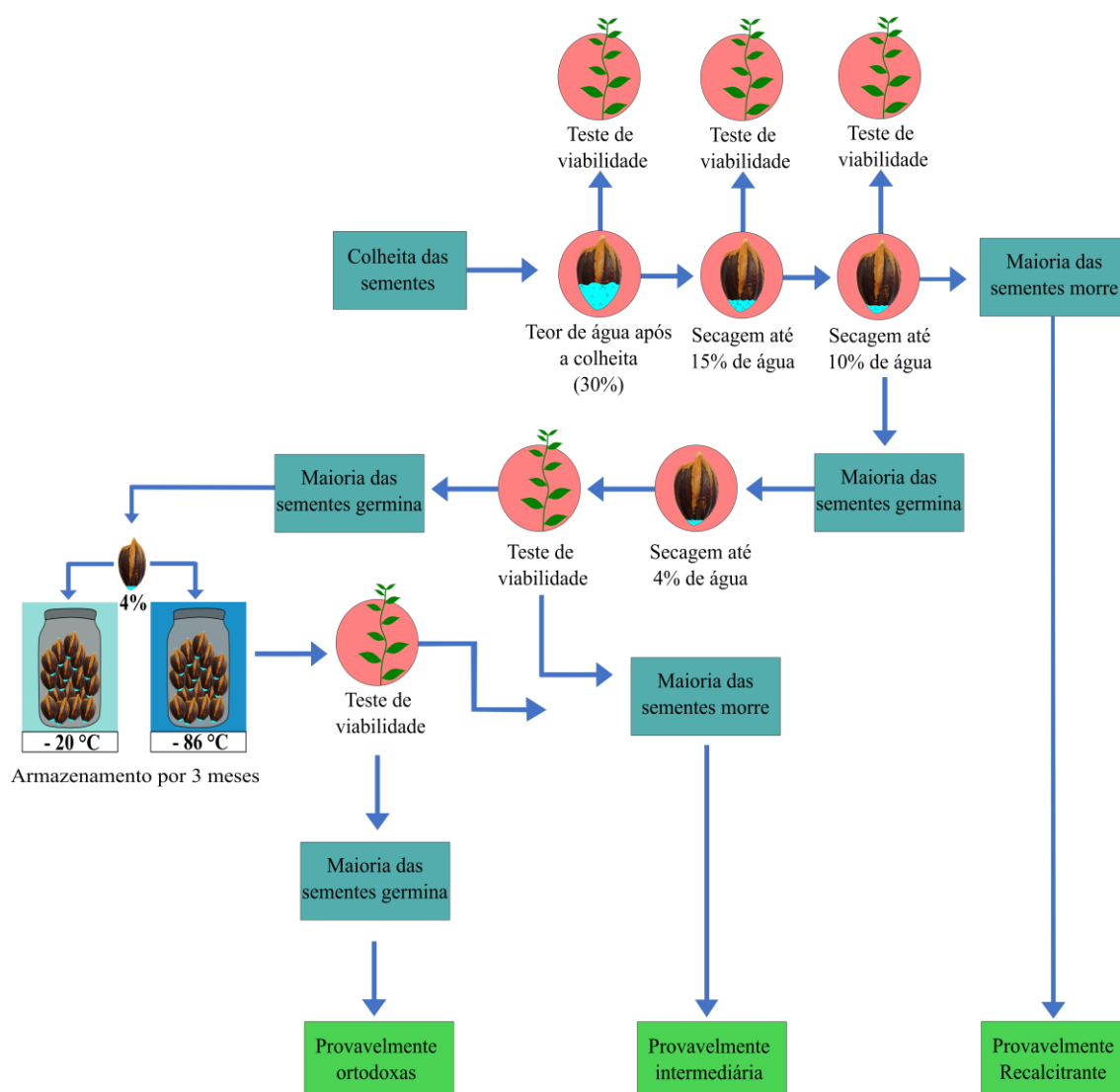


**Figura 1.** Protocolo para determinar o grau de tolerância à dessecação de sementes de *L. pisonis* após secagem em 15, 10 e 4% de água, com posterior armazenamento das sementes com teor de água de 4% em recipientes de alumínio nas temperaturas de -20 °C e -86 °C, sendo estes procedimentos adaptados de Hong e Ellis (1996).

### 2.3 Emergência, vigor e crescimento de mudas

Após a obtenção dos diferentes teores de água, as sementes foram semeadas em tubetes de polipropileno, preenchidos com substrato orgânico Terra Nutri®, com capacidade de 280 cm<sup>3</sup>, que foram mantidos em casa de vegetação durante três meses, com temperatura (Temp, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) mensal de: outubro/2022 (Temp = 28,04 °C; UR = 68,26%), novembro/2022 (Temp = 27,77 °C; UR = 68,38%) e dezembro/2022 (Temp = 27,95 °C; UR = 73,72%).

As características analisadas foram a emergência de plântulas (%) (BRASIL, 2009), o índice de velocidade de emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962) e o tempo médio de emergência (TME, dias) (LABOURIAU, 1983). Após 90 dias de armazenamento foram mensurados: crescimento das mudas, sendo estas o comprimento da parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm), diâmetro do coleto (mm), massa seca da parte aérea (g), massa seca da raiz (g), massa seca total (g) e o índice de qualidade de Dickson (IQD) (DICKSON, 1960).

## **2.4 Índice de clorofilas e fluorescência da clorofila**

Após os 90 dias de crescimento das mudas, avaliou-se o índice de clorofila *a* (Chl *a*) e o índice de clorofila *b* (Chl *b*) (ChlorofiLOG<sup>®</sup>, modelo CFL 1030, Falker) em folhas maduras, sem defeitos, localizadas no quarto nó (direção ápice-base). Também foi analisado o rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ), submetendo as folhas ao escuro por 30 min, realizando-se em seguida a leitura por meio do equipamento fluorímetro (modelo FluorPen FP 100), sendo  $F_v$  = fluorescência variável e  $F_m$  = fluorescência máxima. Foram utilizadas quatro repetições de cinco mudas cada, totalizando 20 mudas por tratamento.

## **2.5 Delineamento experimental e análise estatística**

Os tratamentos foram realizados em um delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições de 25 sementes cada, totalizando 100 sementes/tratamento. As características deste estudo foram analisadas pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando-se o programa R Core Team (2021) e o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2018).

## **3. RESULTADOS**

A emergência de plântulas de *L. pisonis* foi superior (95%) quando as sementes foram semeadas imediatamente após a abertura dos frutos, com o teor de água de 30%. No entanto, houve um decréscimo gradual da emergência em função da diminuição do teor de água nas sementes (30>15>10>4%). Sementes desidratadas a 4% de água quando armazenadas em temperaturas negativas de -20 °C e -86 °C apresentaram emergência de plântulas de 44 e 46%, decrescendo 20 e 18%, respectivamente, quando comparadas àquelas com 4% de água que não passaram pelo armazenamento, cuja emergência de plântulas foi de 64%. O IVE foi superior em sementes com o teor de água variando entre

30 e 15% e o TME não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, exceto para sementes desidratadas a 4% e armazenadas a - 86 °C, que apresentaram diminuição no tempo de emergência.

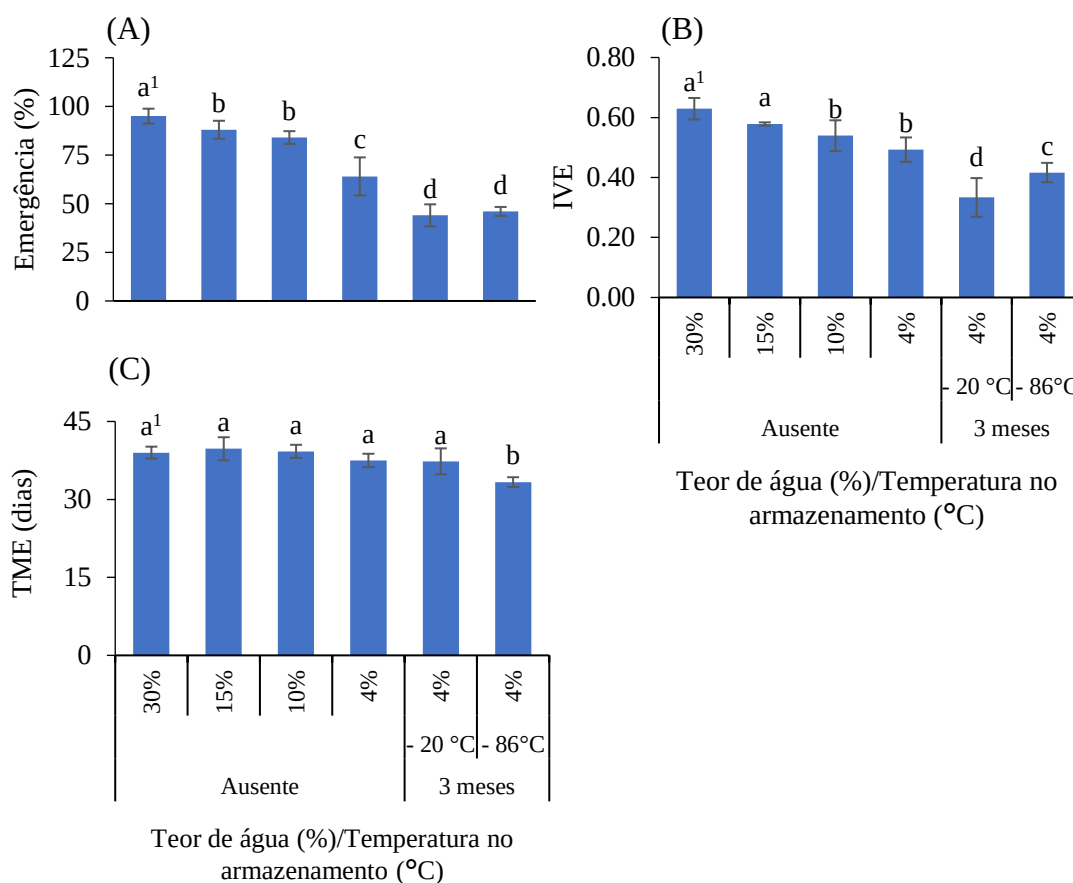


**Figura 2.** (A) emergência (%), (B) índice de velocidade de emergência (IVE) e (C) tempo médio de emergência (TME, dias) de plântulas de *L. pisonis* oriundas de sementes com diferentes teores de água (30, 15, 10, 4%) e de sementes com 4% de água armazenadas durante três meses em recipientes de alumínio nas temperaturas de -20 °C e -86 °C. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O comprimento de parte aérea foi superior (45,14 cm) em mudas oriundas de sementes com 30% de água, decrescendo nos demais tratamentos. O comprimento de raiz obteve uma média de 20 cm entre as sementes cujo teor de água variou de 30 a 10%, alcançando valores superiores em sementes com 4% de água (24,72 cm), e inferiores em sementes armazenadas, com média de 12,61 cm. O diâmetro de coleto, massa seca da

parte aérea e massa seca total alcançaram valores superiores nos tratamentos de 30, 15, 10 e 4% de água, não diferindo significativamente, decrescendo nos tratamentos cujas sementes foram armazenadas (Figura 3a-f).

O índice de Chl *a* foi superior em mudas oriundas de sementes armazenadas a -20 e -86 °C. O índice de Chl *b* foi superior em mudas oriundas de sementes com 30% de água e em mudas oriundas de sementes com 4% (armazenadas por 3 meses a -86 °C). A relação  $F_v/F_m$  foi inferior em mudas oriundas de sementes armazenadas, contudo, em todos os tratamentos analisados a média foi igual ou superior a 0,75 (Figura 3g-i).

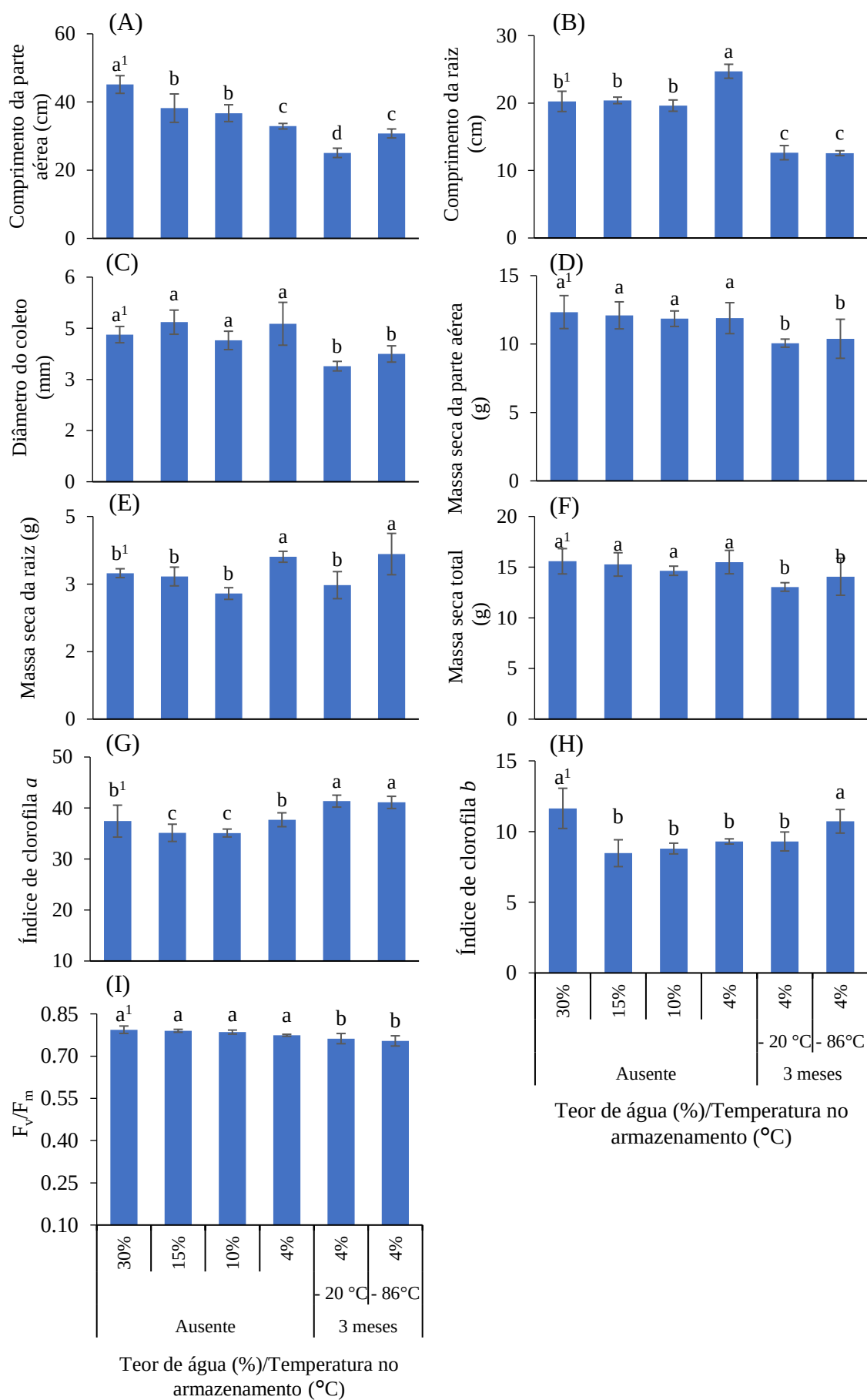


**Figura 3.** Características de crescimento de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes com diferentes teores de água (30, 15, 10, 4%) e de sementes com 4% de água armazenadas durante três meses em recipientes de alumínio nas temperaturas de -20 e -86 °C. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

#### 4. DISCUSSÃO

Existe um comportamento fisiológico para cada classe de sementes (ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes), o que influencia na qualidade de lotes em condições de campo e no armazenamento. Em condições de campo, a qualidade de sementes está relacionada com o vigor da planta-mãe, clima da região, maturidade fisiológica durante a colheita e ataque de patógenos. No armazenamento, relaciona-se, principalmente, com o teor de água das sementes, com as condições de temperatura, umidade relativa do ar e acondicionamento em que são mantidas (SILVA, 2019).

Valores elevados de emergência e vigor foram observados em sementes de *L. pisonis* com teores de água de 30%, sugerindo que estas devem ser colhidas e imediatamente semeadas, pois, acarretaram em uma máxima produção de mudas (95%). Contudo, também foram observados altas porcentagens de emergência de plântulas (88 e 84%) em sementes com 10 e 15% de água, respectivamente. O papel da água no interior das células é fundamental para manter a estabilidade de membranas e o funcionamento adequado do sistema metabólico, possibilitando também, reações químicas e troca de informações. A hidratação celular permite que ocorram interações entre proteínas com o seu substrato, além de atuar como canais condutores de prótons (BALL et al., 2017). O IVE decresceu com a diminuição do teor de água nas sementes, contudo, não influenciou significativamente o TME. Alguns autores consideram a diminuição do IVE como uma consequência dos processos deteriorativos presente nas sementes (ELIAS et al., 2023).

As sementes de *L. pisonis* possuem características intermediárias, pois, toleram a dessecação do embrião de forma lenta, até baixos conteúdos de água (4%), contudo, possuem uma sensibilidade ao armazenamento em temperaturas inferiores a zero (-20 °C e -86 °C), o que acarretou em uma viabilidade abaixo de 50%. Isto pode estar relacionado com o “dano de embebição”, que normalmente ocorre em sementes grandes, pela rápida embebição em temperaturas baixas (POLLOCK; TOOLE, 1966). Segundo Oliver et al. (1998), se as membranas das sementes forem aquecidas elas poderão entrar num estado de derretimento, passando do estado de gel (estado menos fluído, mais seco, situação que

ocorre danos celulares e lixiviação) para o cristalino líquido (estado mais fluído). Este procedimento, poderia ter mantido a germinação das sementes com de teor de água em 4%, na faixa dos 64%.

Sementes intermediárias, normalmente possuem um conteúdo de água de 23 a 55%, quando liberadas da planta mãe (FRANCHI et al., 2011), como observado para a espécie *L. pisonis*, a qual é liberada com 30% de água. Diferentemente, Carvalho et al. (2016) classificaram as sementes da espécie *L. pisonis* como ortodoxa, ao estudar o seu armazenamento por um período de 90 dias a uma temperatura de -18 °C, após secagem até 6,3% de água, alcançando 60% de emergência de plântulas. Ao comparar estes resultados com a temperatura de armazenamento -20 °C deste estudo, houve uma perda de 16% de emergência ao diminuir 2 °C negativos na temperatura e 2,3% no teor de água das sementes.

Uma das hipóteses que explica a sensibilidade de sementes intermediárias ao armazenamento em baixas temperaturas refere-se aos processos de cristalização dos lipídios armazenados (triacilgliceróis), quando expostas a temperaturas abaixo de zero, acarretando em danos estruturais e aumento da produção de radicais livres e EROs (NADARAJAN et al., 2023). Também já foi observado que um dos marcadores de oxidação do óleo é a presença de ácidos graxos livres, que ao serem quantificados em grandes quantidades nas castanhas, é um indicativo de processos deteriorativos devido à degradação hidrolítica dos triglicerídeos (YILDIZ; KARACA, 2024). Um exemplo de ácido graxo sensível a baixas temperaturas é o ácido mirístico (CRANE et al., 2003), o qual é um ácido graxo saturado, encontrado nas sementes de *L. pisonis* na concentração de 11% (ARAÚJO et al., 2023). Em função disto, sementes oleaginosas, como as da espécie *L. pisonis*, se tornam mais sensíveis quando expostas a baixas temperaturas no armazenamento.

Em todos os estádios de desenvolvimento das sementes ocorrem mudanças na expressão enzimática e no acúmulo de reservas, sendo a constituição química das sementes importante em sua aquisição de tolerância a dessecação. Isto pode ser observado em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* cv. Vernel), que apresentaram maior tolerância devido à expressão acentuada das enzimas CAT e glutathione redutase (GR) em sementes maduras após a secagem, e também pelo acúmulo de oligossacarídeos (rafinose e estaquiose) no eixo embrionário. Em sementes secas também foram observadas que as concentrações de SOD e APX diminuíram até o início da tolerância a dessecação (BAILLY et al., 2001), sendo a redução do APX associada a diminuição de ascorbato,

cujas concentrações são menores na maturação das sementes, pois, é utilizado na divisão e crescimento celular (ARRIGONI et al., 1992).

A secagem das sementes de *L. pisonis* abaixo de 10% de água, pode ter afetado o seu sistema antioxidante, causando a diminuição gradual do vigor e emergência de plântulas. Em algumas espécies não ortodoxas, as enzimas SOD, CAT, APX e GR podem diminuir em função da secagem das sementes, levando à perda da viabilidade ocasionada por danos mitocondriais e oxidação de membranas plasmáticas, devido ao acúmulo de  $H_2O_2$  (XIA et al., 2015). Isto também foi observado para a espécie *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, cujas sementes recalcitrantes foram armazenadas com teor de água de 51% e germinação inicial de 96%, reduzindo para metade após 90 dias de armazenamento. Isto ocorreu devido ao aumento de processos de peroxidação lipídica e quebra de proteínas embrionárias. Foi observado um aumento gradual ao longo do armazenamento das enzimas SOD, CAT e APX, contudo, outros fatores influenciaram negativamente na viabilidade das sementes recalcitrantes, e a produção de enzimas não foi suficiente para evitar danos oxidativos nas sementes com alto teor de água (ARALDI et al., 2016).

O crescimento das mudas foi afetado pelo teor de água presente nas sementes de *L. pisonis*, principalmente, quando secas até 4% de água e armazenadas em temperaturas abaixo de zero. Alguns autores afirmam que o armazenamento de sementes ultra-secas em temperaturas abaixo de zero (-20 °C) nem sempre será benéfico, quando comparado a condições ambientais (20 °C) (HONG et al., 2005). Sementes intermediárias não possuem todos os mecanismos de defesa presentes em sementes ortodoxas, o que favorece a sua perda de viabilidade após a secagem. Isto pode ser observado por Vertucci et al. (1987) ao propor que um dos mecanismos fundamentais presentes em sementes ortodoxas é a sua capacidade em reter uma maior proporção de água ligada, quando comparado a água livre. A água ligada está associada a biomoléculas (ex.: proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos), diferente da água livre, a qual está presente nos espaços intercelulares, sendo sugerido que sementes com uma maior sensibilidade à desidratação perdem a água ligada de seus tecidos durante a secagem, inviabilizando-as.

O armazenamento de sementes em baixas temperaturas pode acarretar no aumento dos índices de clorofila *a* e *b* em cotilédones (ARGUEDAS et al., 2018), como observado em mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes armazenadas a -20 e -86 °C. Os conteúdos de clorofila *a* e *b* influenciam diretamente na capacidade fotossintética das plantas. A Chl *a* está presente nos centros de reações dos fotossistemas, e a Chl *b*, só ocorre no

complexo antena. A absorção da luz para a fotossíntese pode ocorrer diretamente pelo centro de reação, ou indiretamente via complexo antena, por meio da transferência de energia entre os pigmentos até a Chl *a* especializada (TAIZ et al., 2017). O teor de água em sementes não influenciou na relação  $F_v/F_m$  em mudas, apresentando valores  $\geq 0,75$ , evidenciando uma eficiência de 75% no funcionamento do PS II. A relação  $F_v/F_m$  baixa, refere-se a problemas no centro de reação, influenciando na capacidade fotossintéticas das mudas (SOELA et al., 2023).

## 5. CONCLUSÕES

As sementes de *L. pisonis* apresentam máximo vigor e máxima capacidade de produção de mudas imediatamente após a abertura dos frutos.

Sementes de *L. pisonis* possuem características intermediárias, pois, toleram a dessecação do embrião a baixos conteúdos de água (15, 10 e 4%) sem perder a capacidade germinativa e de formação de plântulas para a maior parte de suas sementes.

Houve perda gradual de viabilidade em função da diminuição do teor de água em sementes de *L. pisonis*.

Sementes de *L. pisonis* são sensíveis ao armazenamento em temperaturas inferiores a zero (-20 e -86 °C), apresentando emergência <50%.

As características de crescimento foram afetadas pela secagem a 4% de água e pelo armazenamento a -20 e -86 °C.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALPERT, P. The limits and frontiers of desiccation-tolerant life. **Integrative and Comparative Biology**, v. 45, p. 685-695, 2005.

ARAUJO, C. P.; SIMÕES, I. M.; ROSA, T. L.; MELLO, T.; CANL, G. B.; FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; SOUZA, T. S.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, P. F.; NOVAES, F. J. M.; GONÇALVES, F. G.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Functional fruit trees from the Atlantic and Amazon Forests: selection of potential chestnut trees rich in antioxidants, nutrients, and fatty acids. **Foods**, v. 12, p. 4422, 2023.

ARGUEDAS, M.; GÓMEZ, D.; HERNÁNDEZ, L.; ENGELMANN, F.; GARRAMONE, R.; CEJAS, I.; YABOR, L.; MARTÍNEZ-MONTERO, M. E.; LORENZO, J. C. Maize seed cryo-storage modifies chlorophyll, carotenoid, protein, aldehyde and phenolics levels during early stages of germination. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, p. 1-9, 2018.

BALL, P. Water is an active matrix of life for cell and molecular biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 114, p. 13327-13335, 2017.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Implications of the lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, p. 478, 2013.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. **Orthodox and recalcitrant seeds**. Tropical tree seed manual, 2002, p. 137-147.

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

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

CRANE, J.; MILLER, A. L.; VAN ROEKEL, J. W.; WALTERS, C. Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of Cuphea seed. **Planta**, v. 217, p. 699-708, 2003.

DEKKERS, B. J.; COSTA, M. C. D.; MAIA, J.; BENTSINK, L.; LIGTERINK, W.; HILHORST, H. W. Acquisition and loss of desiccation tolerance in seeds: from experimental model to biological relevance. **Planta**, v. 241, p. 563-577, 2015.

DEMOLINER, F.; DE BRITTO POLICARPI, P.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: a promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: phenolic compounds profile. **Food Research International**, v. 112, p. 434-442, 2018.

DICKSON, A.; LEAF, A. L.; HOSNER, J. F. Quality appraisal of white spruce and white pine seedling stock in nurseries. **Forest Chronicle**, v. 36, p. 10-13, 1960.

ELIAS, R. A.; GOETEN, D.; DA SILVA, M. M.; SANTOS, A.; STEINER, N. Vigor and viability during seed storage of three *Campomanesia* species endemic to southern Brazil. **Trees**, v. 37, p. 1417-1433, 2023.

ELLIS R. H.; HONG T. D.; ROBERTS E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v. 41, p. 1167-1174, 1990.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, Y. E. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, v. 1, p. 69-72, 1991.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. 2018. Package 'ExpDes.pt'.

FRANCHI, G. G.; PIOTTO, B.; NEPI, M.; BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M.; PACINI, E. Pollen and seed desiccation tolerance in relation to degree of developmental arrest, dispersal, and survival. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, p. 5267-5281, 2011.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. A protocol to determine seed storage behaviour. **Bioversity International**, 1996.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H.; ASTLEY, D.; PINNEGAR, A. E.; GROOT, S. P. C.; KRAAK, H. L. Survival and vigour of ultra-dry seeds after ten years of hermetic storage. **Seed Science and Technology**, v. 33, p. 449-460, 2005.

KHURANA, E. K. T. A.; SINGH, J. S. Ecology of seed and seedling growth for conservation and restoration of tropical dry forest: a review. **Environmental Conservation**, v. 28, p. 39-52, 2001.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2021. 768p.

- LABOURIAU, L. G. 1983. **A germinação das sementes**. Washington: OEA. 174p.
- LAH, N. H. C.; EL ENSHASY, H. A.; MEDIANI, A.; AZIZAN, K. A.; AIZAT, W. M.; TAN, J. K.; AFZAN, A.; NOOR, N. M.; ROHANI, E. R. An insight into the behaviour of recalcitrant seeds by understanding their molecular changes upon desiccation and low temperature. **Agronomy**, v. 13, p. 2099, 2023.
- LI, W.; NIU, Y.; ZHENG, Y.; WANG, Z. Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.
- MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176-177, 1962.
- MARTÍN, I.; GÁLVEZ, L.; GUASCH, L.; PALMERO, D. Fungal pathogens and seed storage in the dry state. **Plants**, v. 11, p. 3167, 2022.
- NADARAJAN, J.; WALTERS, C.; PRITCHARD, H. W.; BALLESTEROS, D.; COLVILLE, L. Seed longevity—the evolution of knowledge and a conceptual framework. **Plants**, v. 12, p. 471, 2023.
- OLIVER, A. E.; CROWE, L. M.; CROWE, J. H. Methods for dehydration-tolerance: Depression of the phase transition temperature in dry membranes and carbohydrate vitrification. **Seed Science and Research**, v. 8, p. 211-221, 1998.
- POLLOCK, B. M.; TOOLE, V. K. Imbibition period as the critical temperature sensitive stage in germination of lima bean seeds. **Plant Physiology**, v. 41, p. 221-229, 1966.
- R CORE TEAM. 2021. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>, Acesso: 16 de fevereiro de 2023.
- ROBERT, E. H. Predicting of the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**. v. 1, p. 499-514, 1973.
- ROOPASHREE, B.; SHIVARANJAN, C. S. **Chapter-1 Insights into mechanisms of desiccation tolerance in seeds**. Chief Editor, 2023. 165p
- SOELA, D. M.; DA VITÓRIA, E. L.; FALQUETO, A. R.; RIBEIRO, L. F. O.; SIMON, C. A.; SIGISMONDI, L. R.; JEGESKI, F.; PEREIRA, L. D. B. Photosystem II

performance of coffea canephora seedlings after sunscreen application. **Plants**, v. 12, p. 1467, 2023.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPH, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 2017. Porto Alegre: Artmed, 858p.

VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, A. C. The relationship between water binding and desiccation tolerance in tissues. **Plant Physiology**, v. 85, p. 232-238, 1987.

YILDIZ, A. Y.; KARACA, H. The protective role of shell, packaging technique and storage temperature in lipid oxidation in walnuts of different varieties. **Postharvest Biology and Technology**, v. 210, p. 112747, 2024.

YULIANTI, B.; PUTRI, K. P.; YUNIARTI, N.; AMINAH, A.; SUITA, E.; DANU; SUDRAJAT, D. J.; NURHASYBI; SYAMSUWIDA, D.; SYAMSUWIDA, D. Seed handling of specific forest tree species: Recalcitrant and intermediate seed. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 522, p. 012015, 2020.

**CAPÍTULO IV – CONSERVAÇÃO *EX SITU* DE SEMENTES DE *Lecythis pisonis*  
CAMBESS. EM DIFERENTES TEMPERATURAS E TEMPOS DE  
ARMAZENAMENTO**

## RESUMO

ARAUJO, Caroline Palacio de. **Conservação *ex situ* de sementes de *Lecythis pisonis* Cambess. em diferentes temperaturas e tempos de armazenamento.** 2024. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre.

O armazenamento de sementes florestais visa à conservação de materiais genéticos ao longo do tempo em ambiente controlado, atuando na preservação da biodiversidade frente às mudanças climáticas e ações antrópicas. Em função disto, objetivou-se averiguar a qualidade fisiológica de sementes de *L. pisonis* durante o armazenamento *ex situ* em diferentes condições de temperaturas e variações de tempo. Os experimentos 1 e 2 foram conduzidos em parcelas subdivididas 4 x 4 (tempos de armazenamento: 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11 e 12 meses x temperaturas de armazenamento: 25; 6; 2 e -6 °C), com quatro repetições de 25 sementes cada. As sementes do experimento 1 foram semeadas em BOD e as sementes do experimento 2 semeadas em casa de vegetação. As características analisadas foram: emergência, índice de velocidade de emergência, tempo médio de emergência, crescimento de mudas, índice de clorofila *a* e *b*, e rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ). No experimento 1, conduzido em BOD, as sementes apresentaram maior dificuldade na emergência de plântulas, sendo observada maior porcentagem de sementes germinadas quando comparada à emergência de plântulas (parte aérea + raiz). No experimento 1, houve maior porcentagem de germinação (95%) e de emergência de plântulas (65%) em sementes armazenadas a 2 °C por 11 meses. Já para o experimento 2, sementes armazenadas a uma temperatura de 6 °C alcançaram taxas de emergência de plântulas superiores a 70% para a maioria dos meses de armazenamento. Em ambos os experimentos ocorreu flutuações no teor de água das sementes. Observou-se também um funcionamento eficiente do PS II nas mudas para a maioria dos tratamentos, e um maior comprimento de parte aérea nos controles de ambas as ambiências. Conclui-se que é possível conservar sementes de *L. pisonis* durante um ano ao armazenadas a uma temperatura de 6 °C. Considerando a emergência de plântulas em casa de vegetação, as sementes de *L. pisonis* apresentam um comportamento característico de sementes intermediárias, as quais toleram baixos conteúdos de água em seus tecidos, contudo, são sensíveis a baixas temperaturas.

**Palavras-chave:** sapucaia, Lecythidaceae, armazenamento de sementes, conservação, ambiências.

### ABSTRACT

ARAUJO, Caroline Palacio de. ***Ex situ* conservation of *Lecythis pisonis* Cambess. seeds at different temperatures and storage times.** 2024. Thesis (Doctorate in Forestry Sciences) - Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Advisor: Prof. DSc. Rodrigo Sobreira Alexandre.

The storage of forest seeds aims to conserve genetic materials over time in a controlled environment, working to preserve biodiversity in the face of climate change and anthropogenic actions. Because of this, the objective was to investigate the physiological quality of *L. pisonis* seeds during *ex situ* storage under different temperature conditions and time variations. Experiments 1 and 2 were conducted in 4 x 4 subdivided plots (storage times: 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11 and 12 months x storage temperatures: 25; 6; 2 and -6 °C), with four replications of 25 seeds each, with the seeds from experiment 1 sown in BOD and the seeds from experiment 2 sown in a greenhouse. The characteristics evaluated were emergence, emergence speed index, average emergence time, seedling growth, chlorophyll *a* and *b* index, and maximum quantum yield of PS II (Fv/Fm). In experiment 1, conducted in BOD, the seeds had greater difficulty in seedling emergence, with a higher percentage of germinated seeds being observed when compared to seeds with seedling emergence (aerial part + root). In experiment 1, the treatment that stood out both in germination (95%) and seedling emergence (65%) occurred in seeds stored at 2 °C for 11 months. For experiment 2, seeds stored at a temperature of 6 °C achieved seedling emergence rates greater than 70% for most months of storage. In both experiments there were fluctuations in the water content of the seeds. An efficient functioning of PS II was also observed in the seedlings for most treatments, and a greater length of the aerial part in the controls of both environments. It is concluded from this study that it was possible to preserve *L. pisonis* seeds for a year by storing them at a temperature of 6 °C, as there was a high emergence of seedlings practically in all months of storage, with these seeds being packaged in jute bags and sown in a greenhouse after storage. Considering the emergence of seedlings in the greenhouse, the seeds of *L. pisonis* exhibit a characteristic behavior of intermediate seeds, which tolerate low water contents in their tissues, however, they are sensitive to low temperatures.

**Keywords:** sapucaia, Lecythidaceae, seed storage, conservation, environments.

## 1. INTRODUÇÃO

A Floresta Atlântica e a Floresta Amazônica são biomas de ocorrência de inúmeras espécies, destacando-se a *Lecythis pisonis* Cambess. (Lecythidaceae), a qual apresenta capacidade produtiva de castanhas importantes com características funcionais (DEMOLINER et al., 2018; ARAUJO et al., 2023). Alguns autores recomendam a utilização do óleo das castanhas de *L. pisonis* na alimentação, na produção de cosméticos, produtos farmacêuticos e biodiesel (TEIXEIRA et al., 2018). A planta possui uma madeira densa ( $0,80\text{-}0,98\text{ g cm}^{-3}$ ), a qual é indicada para a construção de embarcações, móveis, pisos, janelas e instrumentos musicais (MAINIERI; CHIMELO, 1989; CARVALHO, 2006; SOUZA et al., 2014). Devido a tantas formas desta espécie oferecer recursos madeireiros e não madeireiros a sociedade, mesmo que atualmente de forma subutilizada (POLMANN et al., 2021), estratégias que visem à conservação dos seus recursos genéticos devem ser estudadas, já que estas informações são pouco conhecidas.

Esses biomas são os mais biodiversos do mundo, possuindo um alto índice de endemismo de suas espécies de plantas e animais. Essas florestas desempenham um papel crucial em vários aspectos climáticos, ecológicos, sociais e econômicos, fazendo-se necessário um equilíbrio entre o manejo sustentável e a conservação dos seus recursos (FERREIRA et al., 2023). Dentre as técnicas de conservação utilizadas, o armazenamento de sementes é uma medida estratégica frente às mudanças climáticas, a perda da biodiversidade e a segurança alimentar global, garantindo ainda a manutenção da diversidade genética de muitas espécies de plantas (GOMEZ-ZAVAGLIA, 2020; WAMBUGU et al., 2023).

No armazenamento, as sementes desaceleram o seu sistema metabólico, o que é importante para evitar o envelhecimento acarretado pelos processos oxidativos, os quais ocasionam danos celulares irreparáveis nas proteínas, lipídios e no material genético DNA e mRNA (LI et al., 2022). O armazenamento de sementes florestais, quando realizado de forma adequada, contribui para a manutenção da viabilidade das sementes ao longo do tempo, sendo importante observar a forma adequada de acondicionamento, condições ambientais de temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade para cada espécie (ALEMAYEHU et al., 2023).

O teor de água presente nas sementes e a temperatura utilizada durante o armazenamento são de extrema importância na manutenção da viabilidade. Sementes ortodoxas toleram a dessecação do embrião a baixos conteúdos de água, voltando com o seu metabolismo normal após a reidratação, principalmente, devido à sua capacidade em

acumular proteínas abundantes na embriogênese tardia (LEA) e açúcares protetores (KERMOD, 2008). Isto confere uma alta tolerância ao armazenamento por longos períodos de tempo em baixas temperaturas, o que as difere das sementes recalcitrantes, as quais devem manter o seu teor de água nos tecidos e serem armazenadas a uma temperatura  $\geq 10$  °C (VITIS et al., 2020).

As sementes recalcitrantes possuem baixa capacidade de resistirem ao armazenamento por não tolerarem a dessecação do embrião. Normalmente, são armazenadas com alto teor de água, o que aumenta a perda da viabilidade devido a processos de deterioração ocasionados por espécies reativas de oxigênio (EROs), os quais são produzidos devido ao metabolismo das sementes continuar ativo durante o armazenamento (PAMMENTER et al., 1994; UMARANI et al., 2015). E para as sementes consideradas intermediárias existe a capacidade de resistirem à dessecação do embrião, contudo, a sua viabilidade é perdida rapidamente, quando expostas ao armazenamento em baixas temperaturas (ELLIS et al., 1990; YULIANTI et al., 2020).

Objetivou-se estudar a qualidade fisiológica de sementes de *L. pisonis* durante o armazenamento *ex situ* em diferentes condições de temperaturas e variações de tempo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Colheita, beneficiamento e coordenadas geográficas

Os frutos de *L. pisonis* foram colhidos (Figura 1A, B) de cinco árvores matrizes localizadas no município de Laranja da Terra, Espírito Santo, Brasil, nas seguintes coordenadas: árvore 1 (19°47'01.4"S e 41°09'18.4"W), árvore 2 (19°47'01.6"S e 41°09'14.9"W), árvore 3 (19°47'08.7"S e 41°09'20.2"W), árvore 4 (19°47'05.3"S e 41°09'16.7"W) e árvore 5 (19°47'04.6"S e 41°09'16.7"W).

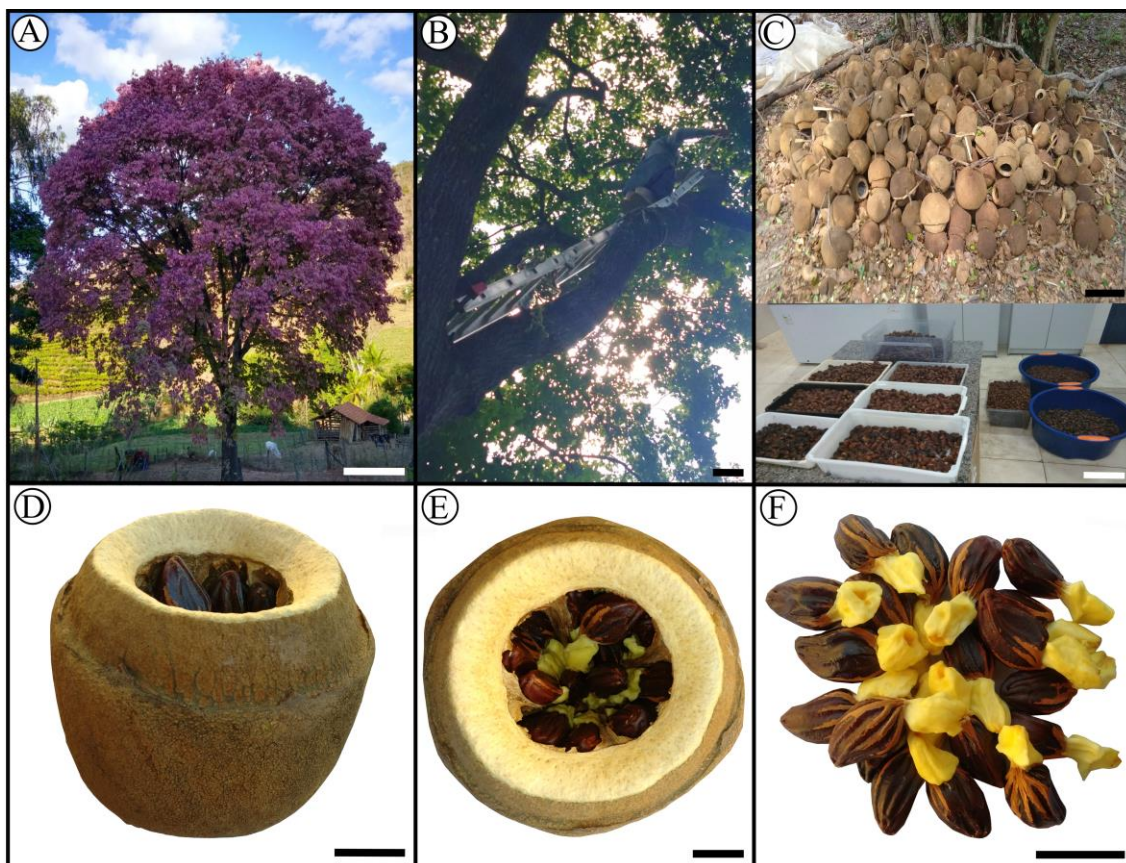


**Figura 1.** (A) árvore de *L. pisonis* com folhas jovens de coloração rósea, (B) colheita de frutos, (C) retirada das sementes dos frutos para o beneficiamento das sementes, (D-E) fruto recém colhido e (F) sementes com arilos na região do hilo. Escala: (A) 4 m; (B) 28 cm; (C) escala preta: 20 cm; escala branca: 30 cm e (D, E, F) 4 cm.

Após a colheita, os frutos foram levados ao Laboratório de Sementes Florestais, pertencente ao Departamento de Ciências Florestais e da Madeira, na Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) para a extração e beneficiamento das sementes (Figura 1C). Os frutos de *L. pisonis* são do tipo secos deiscentes, e abrem-se naturalmente para a liberação das sementes, as quais possuem tegumento duro, de coloração amarronzada e arilo carnoso na região do hilo (Figura 1D, E, F).

As sementes foram homogeneizadas e limpeza superficialmente com o auxílio de álcool 70° e hipoclorito de sódio (NaOCl) 2,5% por meio da borrifação desses desinfetantes, seguida de limpeza manual com papel, sem ocorrer embebição pelas sementes. Realizou-se a seleção das sementes, excluindo as contaminadas, quebradas e sem formação de endosperma e embrião (ocas).

## 2.2 Armazenamento de sementes

Após o beneficiamento, as sementes de cada tratamento foram acondicionadas em sacolas de papel Kraft Nat<sup>®</sup> (sacolas de juta) com tamanho de 23,5 x 10 x 31,5 cm, constituídas por 100% de fibra natural celulósica e armazenadas em câmaras de germinação do tipo Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD), sob temperatura e umidade relativa de: 25 °C (UR = 63%); 6 °C (UR = 49%); 2 °C (UR = 31%) e -6 °C (UR = 10%).

A germinação e a emergência das plântulas após o armazenamento das sementes foram realizadas em dois ambientes. Ambiente 1: câmaras de germinação do tipo BOD (experimento 1), cujas sementes foram semeadas em bandejas de polipropileno, com dimensões de 30,3 x 22,1 x 7,5 cm (comprimento x largura x altura) e capacidade volumétrica para 3 L. As condições ambientais utilizadas seguiram os preceitos de Rosa (2022), a qual indica temperatura de 30-35 °C, com fotoperíodo de 8 h/16 h (escuro/luz). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado; Ambiente 2: casa de vegetação (experimento 2), sendo aferidas diariamente, em intervalos de 10 min, temperatura média (T<sub>méd</sub>, °C), mínima (T<sub>mín</sub>, °C), máxima (T<sub>máx</sub>, °C) e umidade relativa do ar (%) diárias (Figura 2). As sementes do experimento 2 foram semeadas em tubetes de polipropileno com volume de 280 cm<sup>3</sup>, sendo dispostos em um delineamento em blocos casualizados. Em ambos os experimentos utilizou-se o substrato orgânico Terra Nutri<sup>®</sup>, o qual é rico em componentes vegetais e minerais. Para a realização dos experimentos foram utilizados um total de 9600 sementes.

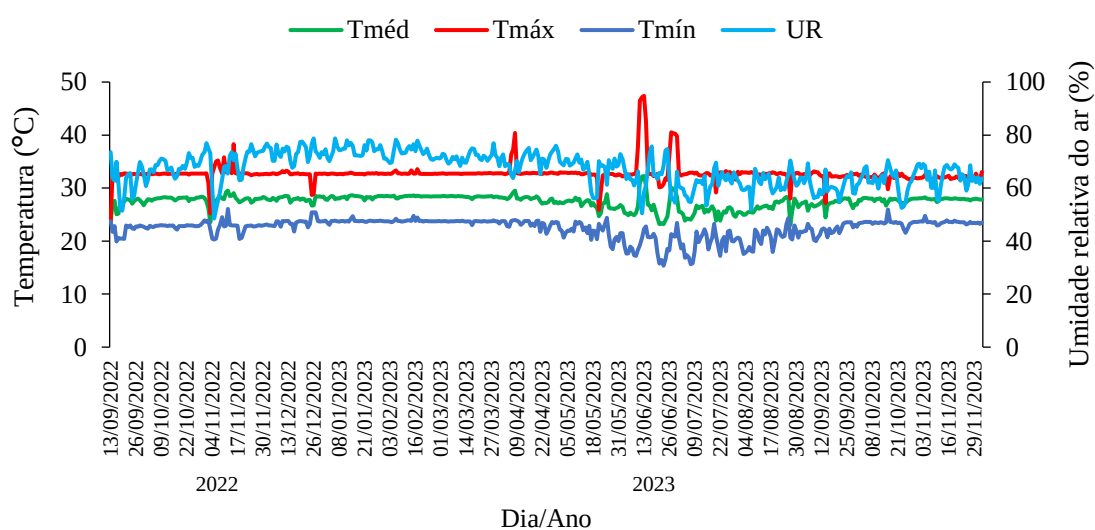


**Figura 2.** Médias diárias referentes a temperatura máxima (T<sub>máx</sub>, °C), média (T<sub>méd</sub>, °C) e mínima (T<sub>mín</sub>, °C) e umidade relativa do ar (UR, %) do ambiente de semeadura em casa de vegetação.

### **2.3 Teor de água nas sementes**

O teor de água nas sementes foi aferido antes do armazenamento (controle) e após o armazenamento para cada tratamento realizado por meio da equação 1, sendo U (%) = porcentagem de água perdida, MF = massa fresca e MS = massa seca (BRASIL, 2009). Cada tratamento constou de quatro repetições de cinco sementes cada, totalizando 20 sementes por tratamento, sendo utilizado ao todo nos dois experimentos 1920 sementes.

Equação 1:

$$U (\%) = \frac{MF - MS * 100}{MF}$$

### **2.4 Germinação, emergência, vigor e crescimento de mudas**

Cada tratamento foi conduzido durante um período de 90 dias, avaliando-se diariamente a emergência (%) (BRASIL, 2009), índice de velocidade de emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962) e o tempo médio de emergência (TME, dias) das plântulas (LABOURIAU, 1983). Após 90 dias avaliou-se o número total de sementes germinadas (sementes que apresentaram protrusão de raiz primária e sementes que apresentaram formação de parte aérea e raiz). Posteriormente, foram analisados comprimento de parte aérea (cm), comprimento de raiz (cm), diâmetro de coleto (mm), massa seca da parte aérea (g), massa seca da raiz (g) e massa seca total (g).

### **2.5 Índice de clorofilas e fluorescência da clorofila a**

O índice de clorofilas *a* e *b* foi analisado com clorofilômetro (ChlorofiLOG<sup>®</sup>, modelo CFL 1030, Falker) (FALKER, 2008). O rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) foi mensurado com fluorímetro (modelo FluorPen FP 100) em folhas submetidas a 30 min de escuro. Em ambos os casos utilizou-se folhas maduras do quarto nó (sentido ápice-base), de 20 mudas cada, divididas em quatro repetições.

## **2.6 Delineamento experimental e análise estatística**

O experimento foi conduzido em parcelas subdivididas 4 x 4 (tempos de armazenamento: 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11 e 12 meses x temperaturas de armazenamento: 25; 6; 2 e -6 °C), com quatro repetições de 25 sementes cada. As análises foram feitas pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ), utilizando o programa R Core Team (2021) e o pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2018).

## **3. RESULTADOS**

### **3.1 Experimento 1. Conservação ex situ de sementes de *L. pisonis* em diferentes temperaturas de armazenamento: semeadura em BOD.**

Sementes de *L. pisonis* apresentaram uma maior germinação total (sem a emergência da parte aérea), quando comparada à emergência de plântulas (protrusão de raiz + parte aérea). As maiores porcentagens de germinação foram observadas nas sementes armazenadas a 2 °C por 11 meses (95%), contudo, somente 65% de suas plântulas emergiram. Em sementes armazenadas a 6 °C por 11 meses a germinação foi de 82%, com emergência de 48% e a 25 °C por 10 meses, a germinação foi de 84%, mas com baixa taxa de emergência de plântulas (24%) (Figura 3A-B). As sementes de *L. pisonis* foram armazenadas com teor de água de 10%, e após o armazenamento mantiveram-se com valores de 9% (25 °C), 9-10% (6 °C), 8-9% (2 °C) e 7-9% (-6 °C) (Figura 3C). A maioria dos tratamentos apresentaram baixo IVE e alto TME (Figura 4D-E).

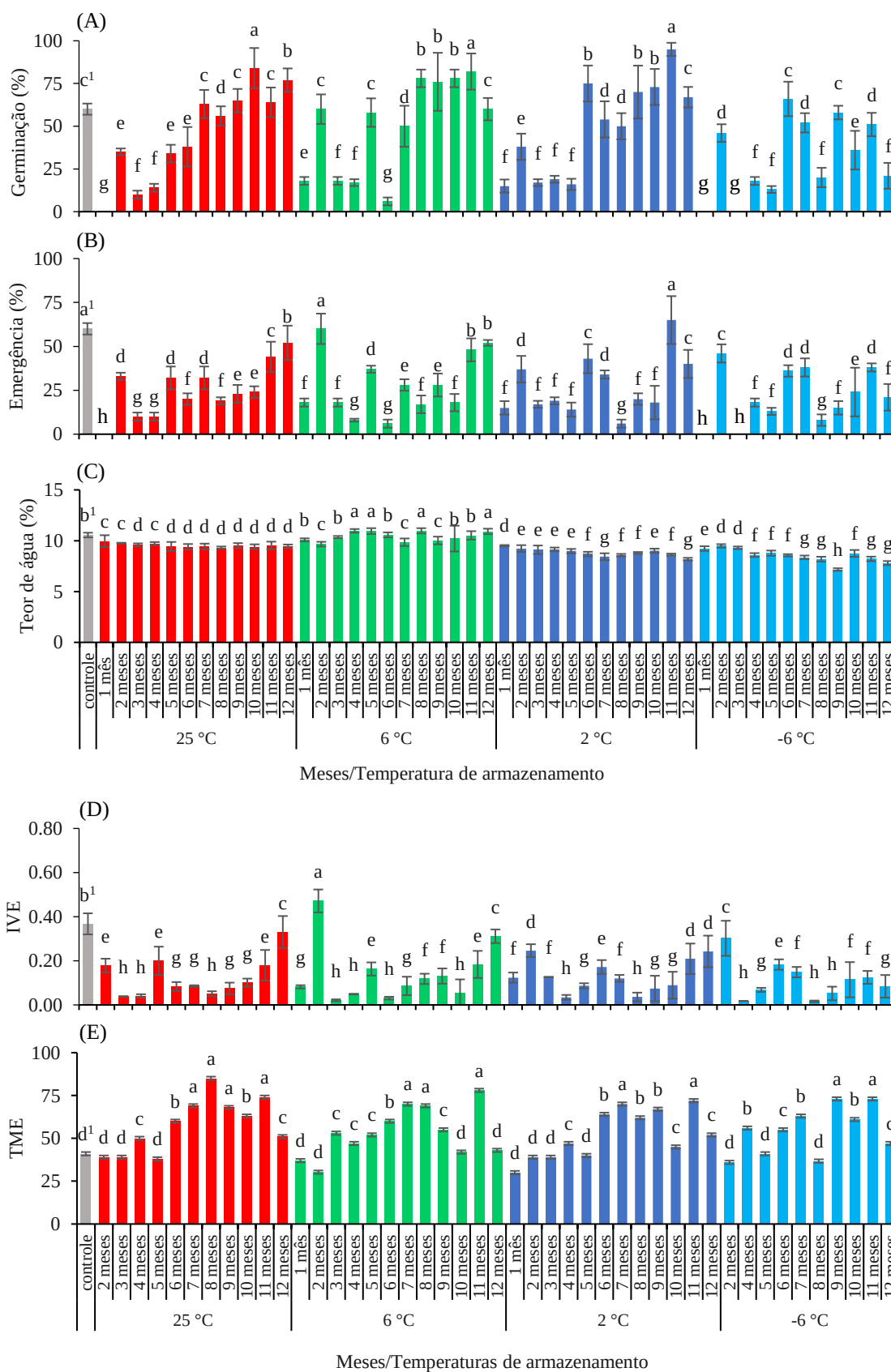


**Figura 3.** (A) germinação (%), (B) emergência de plântulas (%), (C) teor de água (%), (D) índice de velocidade de emergência (IVE) e (E) tempo médio de emergência (TME, dias) de sementes de *L. pisonis* submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em BOD. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

Em relação ao crescimento das mudas, após o armazenamento observou-se que o maior comprimento de parte aérea ocorreu quando oriundas de sementes recém-colhidas (controle) e com 1 mês de armazenamento a 6 °C (Figura 4A). O maior comprimento de raiz foi observado em mudas oriundas de sementes armazenadas a 25 °C por 11 meses e 2 °C por um mês (Figura 4B). O diâmetro de coleto no controle foi 3,67 mm, e dentro dos meses de armazenamento, obteve-se a seguinte variação: temperaturas de 25 °C (2,25 a 3,76 mm), de 6 °C (2,01 a 4,03 mm), de 2 °C (2,14 a 3,87 mm) e de -6 °C (1,73 a 3,43 mm) (Figura 4C).

O maior acúmulo de massa seca de parte aérea foi observado em mudas oriundas de sementes recém colhidas (controle) e aquelas armazenadas nas temperaturas de 25 e 2 °C (Figura 4D). Os maiores valores de massa seca de raiz foram observados em mudas oriundas de sementes armazenadas a 25 °C para a maior parte dos meses de armazenamento. Já para a massa seca total, a maior média foi observada em mudas cujas sementes foram armazenadas a 25 e 2 °C para a maioria dos meses (Figura 4E-F).

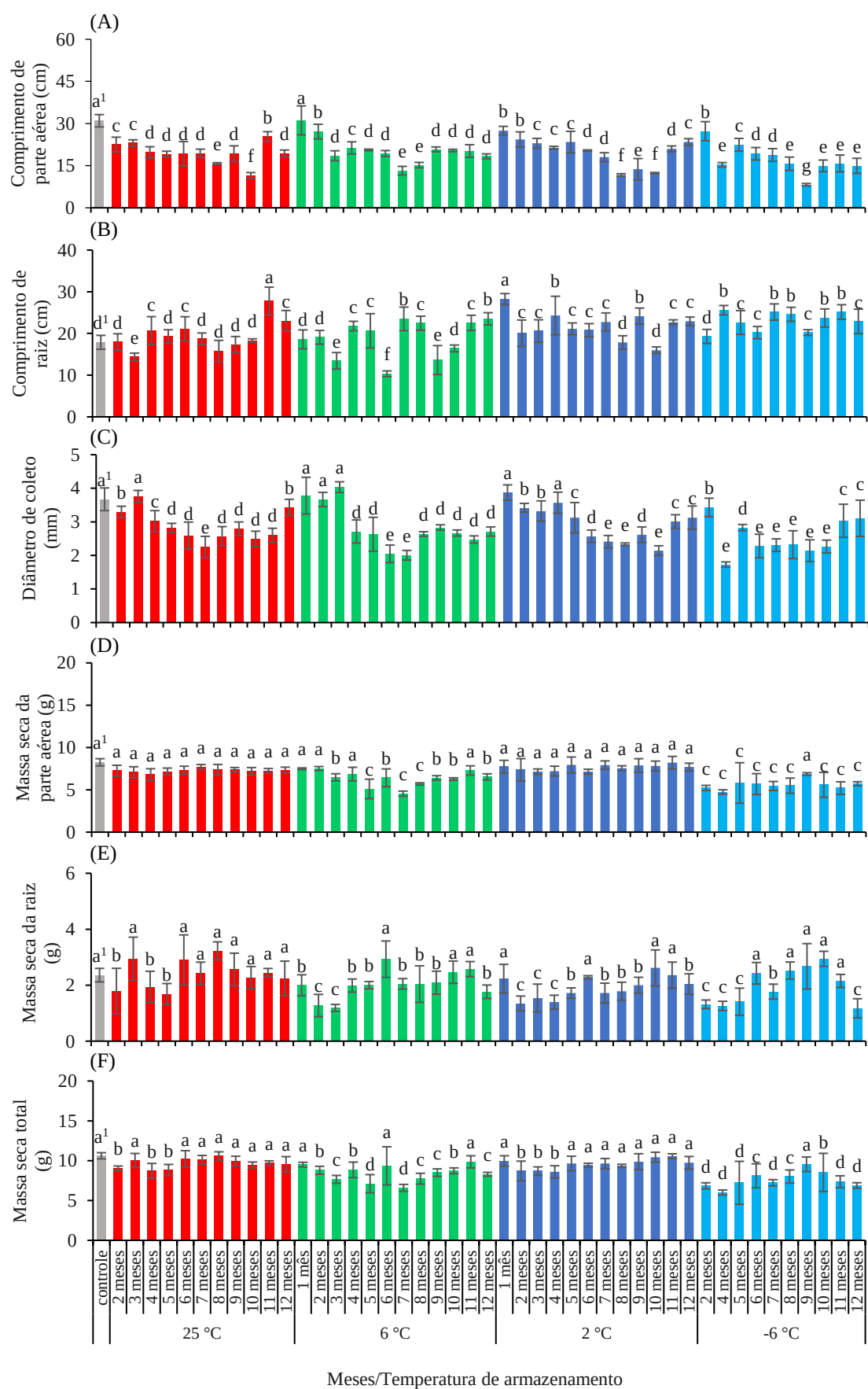


**Figura 4.** (A) comprimento de parte aérea (cm), (B) comprimento de raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em BOD. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O índice de clorofila *a* presente em mudas oriundas de sementes armazenadas nas diferentes temperaturas variou entre 29,56 a 42,11 (25 °C); 30,13 a 39,37 (6 °C); 29,69 a 38,31 (2 °C) e 27,70 a 38,93 (-6 °C). Já para o índice de clorofila *b* variou de 6,57 a 8,09 (25 °C); 5,93 a 12,10 (6 °C); 5,55 a 9,41 (2 °C) e 5,15 a 8,97 (-6 °C) (Figura 5A, B). Também observou-se que a relação  $F_v/F_m$  das mudas para a maioria dos tratamentos foi superior a 0,75 (Figura 5C).

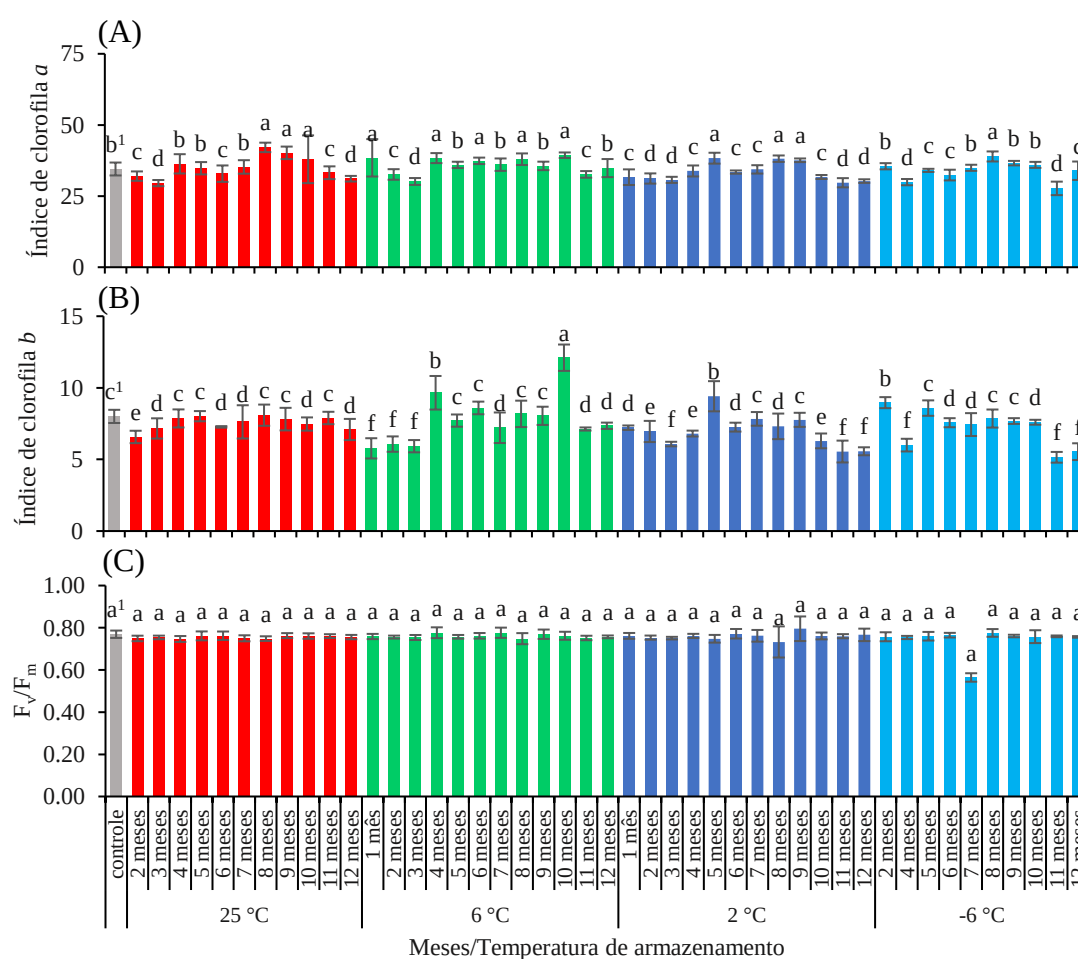


**Figura 5.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b*, e (C) rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) em mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas de armazenamento (25, 6, 2 e -6 °C) e semeadas em BOD. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

### **3.2 Experimento 2. Conservação *ex situ* de sementes de *L. pisonis* em diferentes temperaturas de armazenamento: semeadura em casa de vegetação.**

Sementes recém colhidas (controle) apresentaram germinação e emergência de plântulas de 85%. Sementes armazenadas a 6 °C apresentaram as maiores taxas de emergência de plântulas, com médias  $\geq 70\%$  para todos os meses de armazenamento, exceto o primeiro mês. Após contabilizar a germinação total em cada tratamento, as porcentagens foram superiores a 70% na maioria dos meses do ano para as temperaturas 6 °C; 2 °C e -6 °C (Figura 6A, B). O teor de água nas sementes manteve-se em 9% no tratamento controle e quando armazenadas nas temperaturas de 25 °C e 6 °C. No entanto, quando armazenadas nas temperaturas mais baixas de 2 °C e -6 °C, o teor de água variou entre 7 a 8% (Figura 6C).

A temperatura de 25 °C não manteve o vigor das sementes no decorrer do tempo (Figura 6D, E), perdendo completamente a sua viabilidade após 12 meses, não ocorrendo emergência de plântulas após a semeadura em casa de vegetação (Figura 6B).

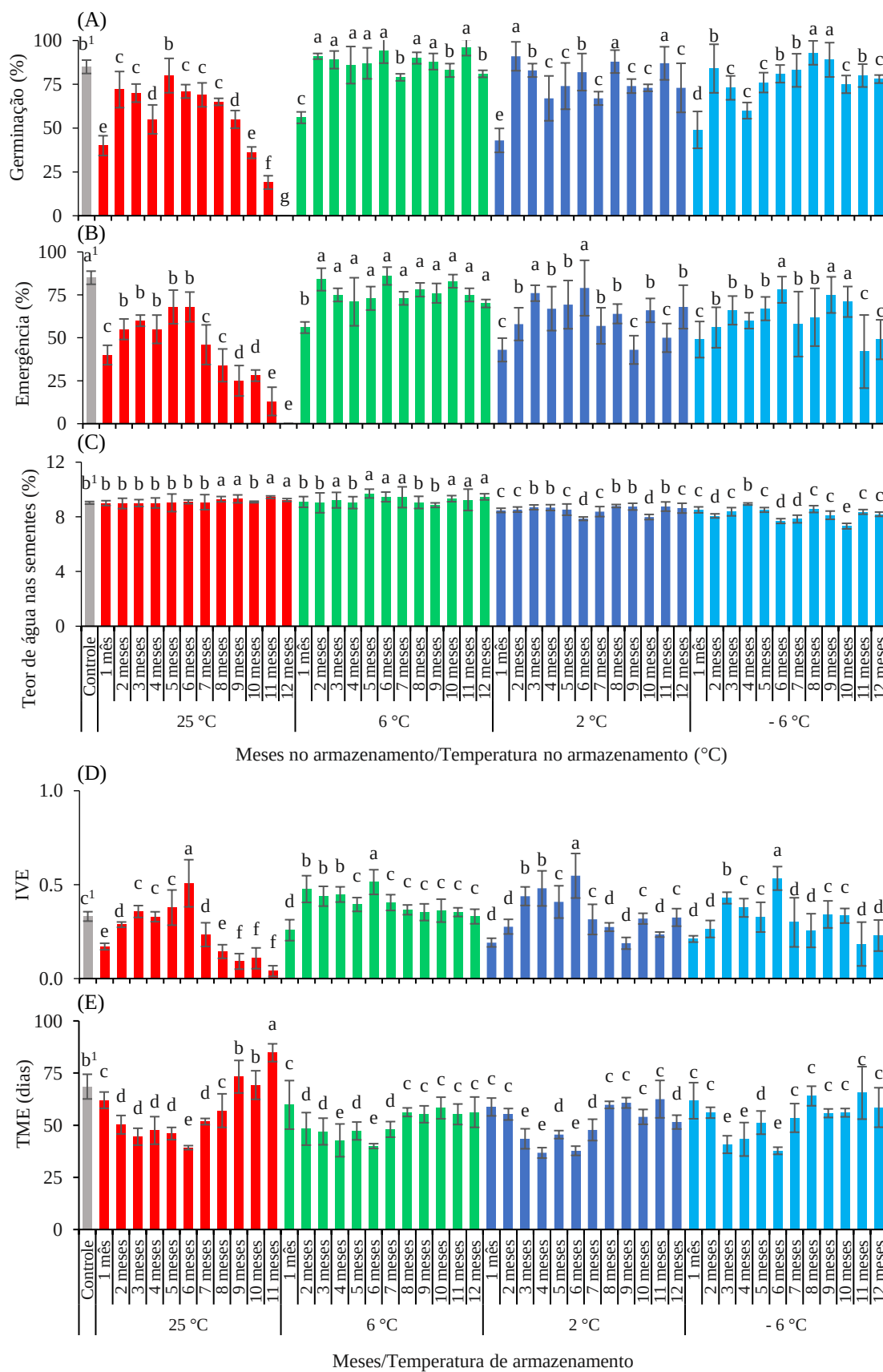


**Figura 6.** (A) germinação (%), (B) emergência de plântulas (%), (C) teor de água em sementes, (D) índice de velocidade de emergência (IVE) e (E) tempo médio de emergência (TME, dias) de *L. pisonis* submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em casa de vegetação. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O controle apresentou o maior crescimento de parte aérea (36 cm) em relação aos demais tratamentos (Figura 7A). O comprimento de raiz não apresentou grandes variações entre os tratamentos, excetuando-se, para sementes armazenadas a 2 °C por três meses, com o maior crescimento radicular (17,31 cm) (Figura 7B). Mudanças oriundas do controle, apresentaram o diâmetro do coleto de 4,37 mm e a variação dentro dos meses para cada temperatura de armazenamento foi de 2,79 a 4,31 mm (25 °C); 3,18 a 4,11 mm (6 °C); 2,88 a 4,18 mm (2 °C) e 2,91 a 4,13 mm (-6 °C) (Figura 7C). Dentro das temperaturas de armazenamento estudadas, a média entre os meses de um a 12 para a característica de massa seca total de mudas foram de 12,16 g (25 °C); 13,94 g (6 °C); 13,34 g (2 °C) e 12,82 g (-6 °C) (Figura 7D-F).

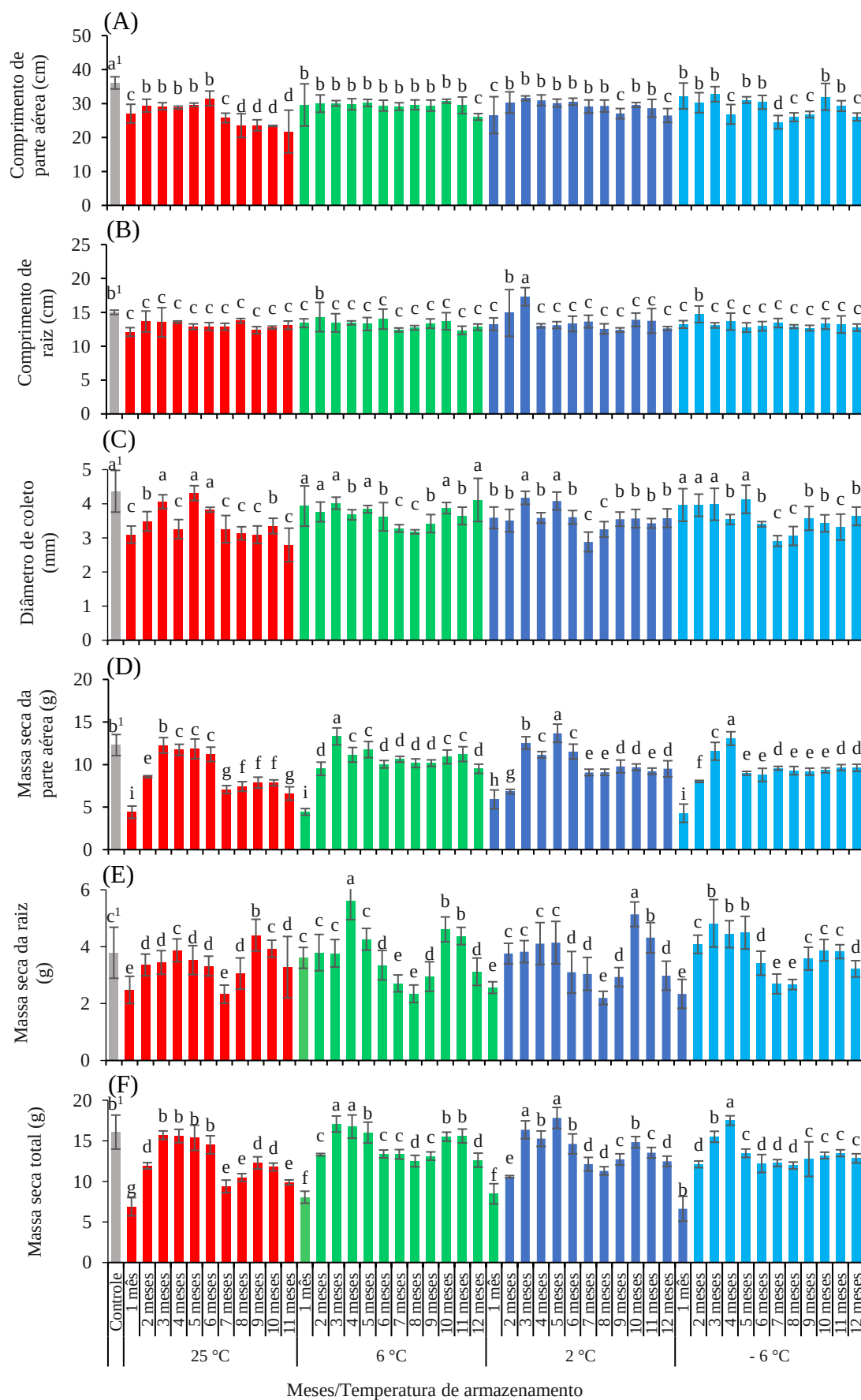


**Figura 7.** (A) comprimento de parte aérea (cm), (B) comprimento de raiz (cm), (C) diâmetro de coleto (mm), (D) massa seca da parte aérea (g), (E) massa seca da raiz (g) e (F) massa seca total (g) de mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em casa de vegetação. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

O índice de clorofila *a* nas mudas apresentaram médias anuais para cada temperatura de armazenamento de 36,78 (25 °C), 35,22 (6 °C), 36,57 (2 °C) e 35,26 (-6 °C). Já para o índice de clorofila *b*, apresentaram 8,08 (25 °C), 7,86 (6 °C), 8,55 (2 °C) e 7,97 (-6 °C). A média anual do rendimento quântico do PS II dentro dos meses estudados para a maioria das temperaturas de armazenamento foram superiores a 0,70 (Figura 8A-C).

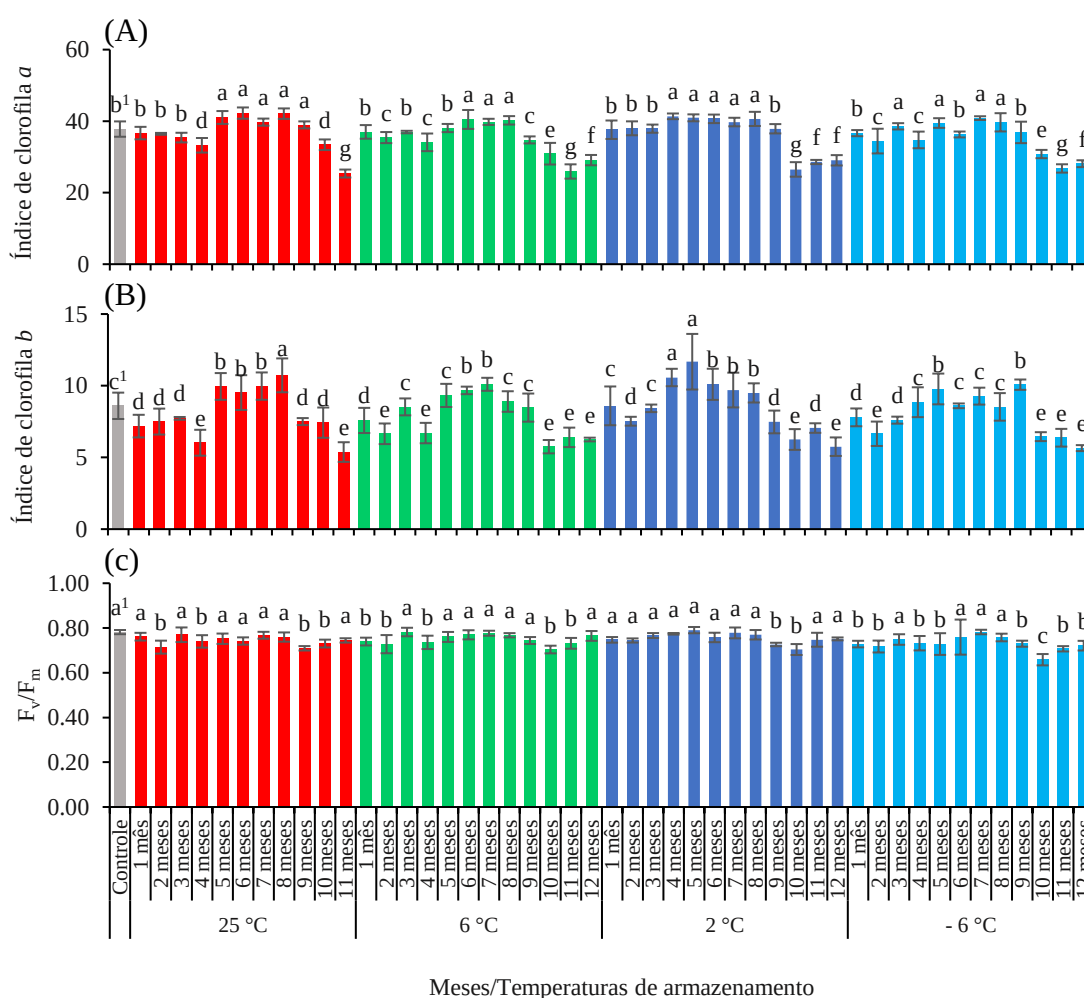


**Figura 8.** (A) índice de clorofila *a*, (B) índice de clorofila *b* e (C) rendimento quântico máximo do PS II ( $F_v/F_m$ ) em mudas de *L. pisonis* oriundas de sementes submetidas ao armazenamento (1 a 12 meses) em diferentes temperaturas (25; 6; 2 e -6 °C) e semeadas em casa de vegetação. <sup>1</sup>Médias seguidas de letras iguais, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). Barra: desvio padrão da média.

#### 4. DISCUSSÃO

Em condições controladas, por meio da utilização de BOD (30-35 °C), observou-se que as sementes de *L. pisonis* alcançaram uma maior porcentagem de germinação de suas sementes quando comparada com a emergência de plântulas. Já em casa de vegetação, as sementes conseguiram externar um maior vigor e altas porcentagens de emergência de plântulas, principalmente, quando armazenadas a uma temperatura de 6 °C, o que pode estar relacionado com um melhor ajuste de temperaturas ao longo dos dias, meses e anos (Figura 2), sendo observada uma média anual para o ano de 2022 de  $T_{méd} = 27,77$  °C,  $T_{máx} = 32,62$  °C e  $T_{mín} = 22,87$  °C e para o ano de 2023  $T_{méd} = 27,39$  °C,  $T_{máx} = 32,79$  °C e  $T_{mín} = 22,30$  °C.

A desuniformidade na emergência de plântulas de *L. pisonis* também foi observada por Araujo (2020), cujas árvores estudadas apresentaram emergência variando entre 3 a 93% em sementes recém-colhidas. O mesmo foi abordado por Rosa et al. (2020), que observaram altas variações na germinação (0 a 63%) e na emergência das plântulas (0 a 50%) para sementes oriundas de 21 árvores de *L. pisonis*. Em função disto, Duarte et al. (2022) associaram a emergência lenta e desuniforme das plântulas de *L. pisonis* ao seu embrião indiferenciado morfológicamente, sugerindo algum tipo de dormência física e/ou fisiológica.

A dormência é um mecanismo de defesa existente nas sementes de algumas espécies, a qual induz uma germinação ao longo do tempo, o que aumenta a probabilidade de sobrevivência destes indivíduos no ambiente externo onde estarão propensos a diferentes condições climáticas (SAJEEV et al., 2024). Pode ser dividida em dormência primária, a qual é geneticamente programada para acontecer e se instala na fase final da maturação das sementes ou em dormência secundária, a qual é ocasionada por algum tipo de estresse ambiental (DADLANI et al., 2023b). O primeiro pesquisador a classificar os tipos de dormência foi Nikolaeva (1969), nomeando-as em dormência física,

morfológica, morfofisiológica, fisiológica e combinacional, sendo a definição destes conceitos refinados anos depois por Baskin e Baskin (2004).

Sementes com dormência física possuem um tegumento duro e impermeável a água, sendo necessário a realização de uma abertura no tegumento que possibilite a embebição e germinação (NIKOLAEVA; 1969; BASKIN; BASKIN, 2004). Sementes de *L. pisonis* possuem tegumento duro e rico em lignina (60%) (ROSA et al., 2020), o que pode contribuir para aumentar a sua resistência mecânica, contudo, também pode dificultar a absorção de água, pois a lignina é um composto hidrofóbico (EGLEY, 1989). Já as sementes com dormência morfológica, normalmente possuem embrião imaturo ou subdesenvolvido, carecendo de um período para o término do desenvolvimento do embrião até a protrusão da raiz primária, durando cerca de 30 dias. Para a dormência morfofisiológica, além do embrião subdesenvolvido, também existe um desequilíbrio hormonal (BASKIN; BASKIN, 2004).

Uma das dormências em sementes mais abordada é a fisiológica, a qual ocorre na maioria das espécies de forma não profunda, e refere-se, basicamente, à necessidade de um equilíbrio hormonal entre giberelina (GA) e ABA, os quais atuam de forma antagônica induzindo a germinação e a dormência, respectivamente. Para a superação da dormência fisiológica utiliza-se a estratificação a frio (0-10 °C) ou a quente ( $\geq 15$  °C), e também realiza-se a aplicação exógena de GA. Já na dormência combinacional, existe a interação entre dois fatores, a dormência física e a fisiológica (NIKOLAEVA; 1969; BASKIN; BASKIN, 1998; BASKIN; BASKIN, 2004). Todos estes mecanismos de dormência foram agrupados por Bewley et al. (2013) em duas categorias, sendo elas, a imposta pelo próprio embrião (comum em espécies lenhosas) ou aquela imposta pela casca e/ou estruturas que revestem o embrião.

Características morfológicas relacionadas ao peso e ao tamanho das sementes são fatores que podem ter influenciado no vigor e desuniformidade de emergência das sementes de *L. pisonis* no armazenamento. Rosa et al. (2019) analisaram biometricamente sementes e frutos de *L. pisonis* de 12 árvores, constatando que o número de sementes por fruto variou entre 13-39 sementes. Isto evidencia que frutos grandes podem produzir sementes pequenas em maior quantidade ou sementes grandes em menor quantidade, e o mesmo se aplica para frutos pequenos. Contudo, pode ocorrer a produção de sementes pequenas e grandes em um mesmo fruto. O tamanho da semente pode influenciar no crescimento do embrião (SUPRIYA et al., 2024), na quantidade de reservas que irá nutri-

lo, nas suas formas de dispersão no ambiente (WESTOBY et al., 1996), no crescimento e sanidade das mudas (KRISTÓ et al., 2023) e consequentemente, na germinação.

Outros fatores afetam a germinação, como o teor de água das sementes e a temperatura em que são armazenadas. Quando armazenadas a 25 °C, sementes com o teor de água acima de 12% sofrem uma maior deterioração em nível celular e também são mais propensas a ataques de agentes patogênicos. Temperaturas inferiores a zero causam danos em sementes com teores de água elevados, pois, a água em seus tecidos sofre congelamento (DADLANI et al., 2023a). Neste estudo, sementes armazenadas por 12 meses a 25 °C perderam completamente a sua viabilidade, não ocorrendo emergência em casa de vegetação. E sementes armazenadas a 25 °C e semeadas em BOD na variação de temperatura 30-35 °C alcançaram uma baixa emergência de plântulas, contudo, a viabilidade não foi perdida durante os 12 meses de armazenamento. Em ambos os casos, houve indícios de deterioração das sementes devido à perda de viabilidade e baixo vigor.

O sistema antioxidantes de sementes armazenadas, pode ser afetado negativamente em função do seu teor de água. Isto ocorre em sementes de aveia (*Avena sativa* L.), cujas enzimas SOD, CAT e APX diminuíram significativamente em sementes com 16% de água, o que levou à perda da viabilidade ocasionada por danos mitocondriais e oxidação de membranas plasmáticas devido ao acúmulo de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (XIA et al., 2015). Durante o armazenamento de sementes de espécies recalcitrantes como a *Araucaria angustifolia*, as sementes foram armazenadas com teor de água de 51%, com germinação inicial de 96%, decrescendo à metade após 90 dias de armazenamento. Foi observado um aumento gradual ao longo do armazenamento das enzimas SOD, CAT e APX, contudo, outros fatores influenciaram negativamente na viabilidade das sementes recalcitrantes, e o processo de tradução na produção de enzimas não foi suficiente para evitar danos oxidativos e peroxidação lipídica nestas sementes com alto teor de água (ARALDI et al., 2016).

Sementes de *Pongamia pinnata*, recém-armazenadas produzem menor concentração de O<sub>2</sub>•<sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, quando comparadas com sementes armazenadas por um maior período de tempo. O acúmulo de radicais livres e EROs foram correlacionadas positivamente com o tempo de armazenamento e com a perda de viabilidade das sementes devido a processos de peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas. O aumento dos processos oxidativos e a perda da capacidade germinativa foram associados com a diminuição das enzimas antioxidantes SOD, CAT e APX, cujas concentrações nos eixos embrionários viáveis de sementes frescas foram altas, quando comparado a sementes

desidratadas. O sistema antioxidante pouco eficiente em sementes desidratadas permitiu o aumento de EROs, o que causou danos oxidativos graves nas células e perda da capacidade de germinação das sementes (SAHU et al., 2017).

A BOD regulada a 25 °C apresentou umidade relativa do ar de 63%, e isto pode ter contribuído para a diminuição do vigor das sementes armazenadas nesta temperatura. Isto ocorre, pois, as sementes possuem características higroscópicas, sendo capazes de absorver ou perder água para o meio externo onde estão armazenadas. Em função disto, alguns autores indicam a utilização de embalagens herméticas para evitar variações no teor de água das sementes, além de contribuir no controle de insetos e contaminações fúngicas (KHALID et al., 2024). As embalagens utilizadas no acondicionamento são classificadas de acordo com a sua capacidade em resistirem as trocas de vapor d'água das sementes com o meio externo, podendo ser permeáveis, semipermeáveis e impermeáveis. Embalagens permeáveis possuem poros que permitem a passagem de vapor entre os meios interno e externo, causando flutuações no teor de água das sementes, podendo citar as sacolas de juta. Nas embalagens impermeáveis não ocorre essa troca, a exemplo de embalagens metálicas e vidros herméticos. Já as semipermeáveis resistem a troca de vapor d'água, podendo ser formadas por papel aluminizado ou plastificado (VILLELA; PERES, 2004).

Para o armazenamento de sementes oleaginosas, alguns autores indicam a utilização de sacos de juta e o seu armazenamento na temperatura de 10 °C (LINS et al., 2014). Contudo, a utilização de embalagens permeáveis (sacolas de juta) permitiu pequenas flutuações do teor de água das sementes de *L. pisonis*. Sementes da oleaginosa *Jatropha curcas* L. (pinhão-mansão) perdem rapidamente a sua viabilidade com o aumento da temperatura de armazenamento apresentando também uma redução de proteínas e amido ao longo de 12 meses (MONCALEANO et al., 2013).

Um dos fatores que afetam a viabilidade de sementes oleaginosas no armazenamento é o seu perfil de ácidos graxos, os quais podem ser saturados ou insaturados. Sementes da palmeira *Attalea vitrivir* Zona possuem altas concentrações de ácido láurico, um ácido graxo saturado, o qual é associado à uma maior viabilidade em sementes em condições de armazenamento por congelamento e criopreservação, principalmente, por contribuir para uma maior estabilidade do óleo nestas condições (OLIVEIRA et al., 2016). A alta concentração do ácido láurico em sementes de *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. (macaúba) também aumentou a estabilidade térmica e

oxidativa do óleo (DEL RÍO et al., 2016). A presença de altas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados favorece a peroxidação lipídica em castanhas (AHAD et al., 2023).

Sementes de *L. pisonis* são ricas em proteínas (VALLILO et al., 1998), o que pode ter contribuído para a manutenção da sua viabilidade no armazenamento a 6 °C, como observado na emergência em casa de vegetação. Ao classificarem a funcionalidade das proteínas de armazenamento das sementes de *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Jequitibá-rosa, Lecythidaceae) verificou-se que dentre as 50 proteínas quantificadas, 7% são proteínas de armazenamento (ex.: globulina 11S), 5% atuam no envelhecimento e organização da parede celular (ex.: poligalacturonases) e 4% atuam no estímulo e resposta ao estresse (ex.: superóxido dismutase) (ARAGÃO et al., 2019). Estas proteínas estão envolvidas em várias rotas, podendo auxiliar no fornecimento de nitrogênio ao embrião pela globulina 11S durante a germinação (LI et al., 2007), no alongamento da radícula por meio do enfraquecimento das células do endosperma, próximos a região de protrusão da raiz primária, pelas proteínas poligalacturonases (SITRIT et al., 1999) e proteção contra estresses oxidativos nas células, permitindo assim, a manutenção da viabilidade das sementes (ARAGÃO et al., 2019).

## 5. CONCLUSÕES

No experimento 1, conduzido em BOD, houve uma alta variação na germinação total e na emergência de plântulas após a semeadura, independente da temperatura e tempo de armazenamento.

No experimento 2, conduzido em casa de vegetação, a qualidade fisiológica de sementes de *L. pisonis* foi superior quando armazenadas na temperatura de 6 °C, apresentando resultados superiores a 70% de emergência de plântulas e uma maior homogeneidade de emergência no tempo.

Considerando a emergência de plântulas em casa de vegetação, as sementes de *L. pisonis* apresentaram um comportamento característico de sementes intermediárias.

As mudas de *L. pisonis* crescidas em BOD e em casa de vegetação apresentaram um funcionamento eficiente do PS II na maioria dos tratamentos, e um maior comprimento de parte aérea no controle.

O armazenamento na temperatura de 25 °C não foi eficiente na preservação do vigor de sementes de *L. pisonis* para o experimento 1 e 2.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHAD, T.; GULL, A. Effect of synthetic antioxidants, packaging materials and storage periods on quality characteristics of walnut kernels. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-11, 2023.
- DEL RÍO, J. C.; EVARISTO, A. B.; MARQUES, G.; MARTÍN-RAMOS, P.; MARTÍN-GIL, J.; GUTIÉRREZ, A. Chemical composition and thermal behavior of the pulp and kernel oils from macauba palm (*Acrocomia aculeata*) fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 294-304, 2016.
- OLIVEIRA, R. A. D.; DA CONCEIÇÃO NEVES, S.; RIBEIRO, L. M.; LOPES, P. S. N.; SILVÉRIO, F. O. Storage, oil quality and cryopreservation of babassu palm seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 91, p. 332-339, 2016.
- VILLELA, F. A.; PERES, W. B. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Artmed, Porto Alegre, 2004. p. 51-68.
- ALEMAYEHU, S.; ABERA, F. A.; AYIMUT, K. M.; DARNELL, R.; MAHROOF, R.; HARVEY, J.; SUBRAMANYAM, B. Effects of storage duration and structures on sesame seed germination, mold growth, and mycotoxin accumulation. **Toxins**, v. 15, p. 39, 2023.
- ARAGÃO, V. P. M.; TRINDADE, B. M. C.; REIS, R. S.; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C. Storage time affects the germination and proteomic profile of seeds of *Cariniana legalis* (Mart.) O. Kuntze (Lecythidaceae), an endangered tree species native to the Brazilian Atlantic Forest. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, p. 407-419, 2019.
- ARALDI, C. G.; COELHO, C. M. M.; GAZIOLA, S. A.; AZEVEDO, R. A. Storage elicits a fast antioxidant enzyme activity in *Araucaria angustifolia* embryos. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, p. 1-10, 2016.
- ARAUJO, C. P. **Árvores frutíferas funcionais da Floresta Atlântica: diversidade fenotípica e molecular, composição hormonal, nutricional e antioxidante em *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata***. 2020. 104 fls. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, Espírito Santo. 2020.
- ARAUJO, C. P.; SIMÕES, I. M.; ROSA, T. L.; MELLO, T.; CANL, G. B.; FERREIRA, A.; OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; SOUZA, T. S.; OTONI, W. C.; PINHEIRO, P. F.; NOVAES, F. J. M.; GONÇALVES, F. G.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Functional fruit trees from the Atlantic and Amazon Forests:

selection of potential chestnut trees rich in antioxidants, nutrients, and fatty acids. **Foods**, v. 12, p. 4422, 2023.

BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, v. 14, p. 1-16, 2004.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. **Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. 2nd. ed. San Diego: Academic: Elsevier; 2014. 1586 p.

BASKIN, J. M.; NAN, X.; BASKIN, C. C. A comparative study of seed dormancy and germination in an annual and a perennial species of *Senna* (Fabaceae). **Seed Science Research**, v. 8, p. 501-512, 1998.

MONCALEANO-ESCANDON, J.; SILVA, B. C.; SILVA, S. R.; GRANJA, J. A.; ALVES, M. C. J.; POMPELLI, M. F. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 684-690, 2013.

BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: Physiology of development, germination and dormancy**, 3rd ed.; Springer: New York, NY, USA, 2013. 392 p.

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

CARVALHO. P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF:Embrapa Florestas, 2006. 627 p. v. 2.

DADLANI, M.; YADAVA, D. K. **Seed science and technology: biology, production, quality**. In: DADLANI, M.; GUPTA, A.; SINHA, S. N.; KAVALI, R. Seed storage and packagin. Springer Nature, 2023a. p. 239-266.

DADLANI, M.; YADAVA, D. K. **Seed science and technology: biology, production, quality**. In: NAUTIYAL, P. C.; SIVASUBRAMANIAM, K.; DADLANI, M. Seed dormancy and regulation of germination. Springer Nature, 2023b. p. 39-66.

DEMOLINER, F.; DE BRITTO POLICARPI, P.; VASCONCELOS, L. F. L.; VITALI, L.; MICKE, G. A.; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess) and its by-products: a promising and underutilized source of bioactive compounds. Part II: Phenolic compounds profile. **Food Research International**, v. 112, p. 434-442, 2018.

DUARTE, F. E.; ALMEIDA, D. S.; SANTOS, J. A.; DE AZEVEDO NETO, A. D.; CRUZ, C. R. P.; PEIXOTO, C. P. Maturação de frutos e sementes de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess. Lecythidaceae). **Revista de Biologia Neotropical**, v. 19, p. 50-68, 2022.

EGLEY, G. H. **Water-impermeable seed coverings as barriers to germination**. In: TAYLORSON, R. B. Recent advances in the development and germination of seeds. Boston, MA: Springer US, 1989. p. 207-223.

ELLIS R. H.; HONG T. D.; ROBERTS E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, v. 41, p. 1167-1174, 1990.

FALKER. Automação agrícola. Manual do medidor eletrônico de teor clorofila (ClorofiLOG/CFL 1030). Porto Alegre, 2008. p. 33.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Package 'ExpDes.pt'. 2018.

FERREIRA, P. M. P.; ARCANJO, D. D. R.; PERON, A. P. Drug development, Brazilian biodiversity and political choices: Where are we heading? **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 26, p. 257-274, 2023.

GOMEZ-ZAVAGLIA, A.; MEJUTO, J. C.; SIMAL-GANDARA, J. Mitigation of emerging implications of climate change on food production systems. **Food Research International**, v. 134, p. 109256, 2020.

KERMODE, A. R. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. **Seed Science Research**, v. 7, p. 75-95, 1997.

KHALID, E.; AFZAL, I.; KHAN, S. H. U.; AWAN, S. I. Comparison of hermetic and conventional bags for maize seed preservation in Azad Kashmir, Pakistan. **Journal of Stored Products Research**, v. 105, p. 102215, 2024.

KRISTÓ, I.; VÁLYI-NAGY, M.; RÁCZ, A.; IRMES, K.; SZENTPÉTERI, L.; JOLÁNKAI, M.; KOVÁCS, G. P.; FODOR, M. Á.; UJJ, A.; VALENTINYI, K. V.; TAR, M. Effects of nutrient supply and seed size on germination parameters and yield in the next crop year of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). **Agriculture**, v. 13, p. 419, 2023.

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

LI, B. B.; ZHANG, S. B.; LV, Y. Y.; WEI, S.; HU, Y. S. Reactive oxygen species-induced protein carbonylation promotes deterioration of physiological activity of wheat seeds. **Plos One**, v. 17, p. e0263553, 2022b.

LI, Q.; WANG, B. C.; XU, Y.; ZHU, Y. X. Systematic studies of 12S seed storage protein accumulation and degradation patterns during *Arabidopsis* seed maturation and early seedling germination stages. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 40, p. 373-381, 2007.

LI, W.; NIU, Y.; ZHENG, Y.; WANG, Z. Advances in the understanding of reactive oxygen species-dependent regulation on seed dormancy, germination, and deterioration in crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, 2022.

LINS, S. R. D. O.; MOREIRA DE CARVALHO, M. L.; DAS GRACAS CARDOSO, M.; MIRANDA, D. H.; DE ANDRADE, J. Physiological, enzymatic, and microstructural analyses of sunflower seeds during storage **Australian Journal of Crop Science**, v. 8, p. 1038-1048, 2014.

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

MAINIERI, C.; CHIMELO, J. P. **Fichas de características das madeiras brasileiras**. São Paulo: IPT, 1989. 418 p.

NIKOLAEVA, M. G. **Physiology of deep dormancy in seeds**. Leningrad, USSR: Nauka; 1969.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; SMITH, M. T.; ROSS, G. Why do stored hydrated recalcitrant seeds die? **Seed Science Research**, v. 4, p. 187-191, 1994.

POLMANN, G.; BADIA, V.; DANIELSKI, R.; FERREIRA, S. R. S.; BLOCK, J. M. Non-conventional nuts: An overview of reported composition and bioactivity and new approaches for its consumption and valorization of co-products. **Future Foods**, v. 4, p. 100099, 2021.

R CORE TEAM. 2021. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>, Acesso: 16 de fevereiro de 2023.

ROSA, T. L. M. **Fisiologia de sementes e metabolismo antioxidativo na emergência de *Lecythis pisonis* Cambess.: inferências sobre temperatura ótima e aptidão**

**climática para a semeadura.** Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo, 47f., 2022.

ROSA, T. L. M.; ARAUJO, C. P. D.; ALEXANDRE, R. S.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C. Biometry and genetic diversity of paradise nut genotypes (Lecythidaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, p. e00240, 2019.

ROSA, T. L. M.; DE ARAUJO, C. P.; KAMKE, C.; FERREIRA, A.; DA SILVA FERREIRA, M. F.; DE OLIVEIRA, J. P. B.; SCHMILDT, E. R.; LOPES, J. C.; MENGARDA, L. H. G.; OTONI, W. C.; SANTOS, A. R.; ALEXANDRE, R. S. Sapucaia nut: Morphophysiology, minerals content, methodological validation in image analysis, phenotypic and molecular diversity in *Lecythis pisonis* Cambess. **Food Research International**, v. 137, p. 109383, 2020.

SAJEEV, N.; KOORNNEEF, M.; BENTSINK, L. A commitment for life: Decades of unraveling the molecular mechanisms behind seed dormancy and germination. **The Plant Cell**, p. koad328, 2024.

SITRIT Y.; HADFIELD K. A.; BENNETT, A. B.; BRADFORD, K. J.; DOWNIE, A. B. Expression of a polygalacturonase associated with tomato seed germination. **Plant Physiology**, v. 121, p. 419-428, 1999.

SOUZA, A. S.; MARGALHO, L.; PRANCE, G. T.; GURGEL, E. S. C.; GOMES, J. I.; DE CARVALHO, L. T.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V. Conhecendo espécies de plantas da Amazônia: Sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess. Lecythidaceae). 2014. Disponível em:

<<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/999043/1/COM250.pdf>>.

acesso em: 24 de janeiro de 2024.

SUPRIYA, K.; BHARTI, U.; BASANDRAI, D.; BHATIA, S.; VIKAL, Y.; CHHUNEJA, P.; BASANDRAI, A. K. Relationship between seed traits and seedling parameters in rice wild species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 71, p. 299-308, 2023.

TEIXEIRA, G. L.; AVILA, S.; SILVEIRA, J. L. M.; RIBANI, M.; RIBANI, R. H. Chemical, thermal and rheological properties and stability of sapucaia (*Lecythis pisonis*) nut oils: A potential source of vegetable oil in industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, p. 2105-2121, 2018.

UMARANI, R.; AADHAVAN, E. K.; FAISAL, M. M. Understanding poor storage potential of recalcitrant seeds. **Current Science**, p. 2023-2034, 2015.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; PIMENTEL, S. A.; BADOLATO, E. S. G.; INOMATA, E. I. Caracterização química parcial das sementes de *Lecythis pisonis* Camb. (sapucaia). **Acta Amazônica**, v. 28, p. 131-131, 1998.

VITIS, M.; HAY, F. R.; DICKIE, J. B.; TRIVEDI, C.; CHOI, J.; FIEGENER, R. Seed storage: maintaining seed viability and vigor for restoration use. **Restoration Ecology**, v. 28, p. S249-S255.

WAMBUGU, P. W.; NYAMONGO, D. O.; KIRWA, E. C. Role of seed banks in supporting ecosystem and biodiversity conservation and restoration. **Diversity**, v. 15, p. 896, 2023.

WESTOBY, M.; LEISHMAN, M.; LORD, J. Comparative ecology of seed size and dispersal. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series b: Biological Sciences**, v. 351, p. 1309-1318, 1996.

XIA, F.; CHEN, L.; SUN, Y.; MAO, P. Relationships between ultrastructure of embryo cells and biochemical variations during ageing of oat (*Avena sativa* L.) seeds with different moisture content. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, p. 1-11, 2015.

YULIANTI, B.; PUTRI, K. P.; YUNIARTI, N.; AMINAH, A.; SUITA, E.; DANU; SUDRAJAT, D. J.; NURHASYBI; SYAMSUWIDA, D.; SYAMSUWIDA, D. Seed handling of specific forest tree species: Recalcitrant and intermediate seed. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 522, p. 012015, 2020.

## CONCLUSÕES GERAIS

Sementes de *L. pisonis* não toleram limites longos de exposição a temperaturas elevadas, entretanto, expressam maior vigor de sementes e emergência de plântulas, quando submetidas por um curto período de tempo a essas condições, sendo indicada a variação das temperaturas 30-45 °C por 20 h/4 h.

A emergência de plântulas de *L. pisonis* é influenciada pelo tamanho das sementes e pela intensidade luminosa, alcançando maiores porcentagens de emergência em sementes grandes, seguido das sementes médias e pequenas.

Maior emergência de plântulas (83,9%) ocorre no sombreamento de 49,32%.

A emergência de plântulas decresce em função do teor de água nas sementes (30>15>10>4%), variando entre 88 a 64% de emergência, respectivamente.

Sementes de *L. pisonis* possuem características intermediárias, pois, toleram a dessecação do embrião a baixos conteúdos de água (15, 10 e 4%), contudo, mesmo secas a 4% de água, são sensíveis a temperaturas inferiores a zero no armazenamento (-20 e -86 °C).

Sementes de *L. pisonis* acondicionadas em sacolas de juta e armazenadas sob temperatura de 6 °C mantêm alta viabilidade (>70%) durante 12 meses.