



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

THUANNY LINS MONTEIRO ROSA

**FISIOLOGIA DE SEMENTES E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO NA
EMERGÊNCIA DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.: INFERÊNCIAS SOBRE
TEMPERATURA ÓTIMA E APTIDÃO CLIMÁTICA PARA A SEMEADURA**

JERÔNIMO MONTEIRO – ES

FEVEREIRO – 2022

THUANNY LINS MONTEIRO ROSA

**FISIOLOGIA DE SEMENTES E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO NA
EMERGÊNCIA DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.: INFERÊNCIAS SOBRE
TEMPERATURA ÓTIMA E APTIDÃO CLIMÁTICA PARA A SEMEADURA**

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 Doutora em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre

Co-orientador: Prof. Dr. José Carlos Lopes

JERÔNIMO MONTEIRO – ES

FEVEREIRO – 2022

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

R788f Rosa, Thuanny Lins Monteiro, 1993-
Fisiologia de sementes e metabolismo antioxidativo na
emergência de *Lecythis pisonis* Cambess.: inferências sobre
temperatura ótima e aptidão climática para a semeadura. / Thuanny
Lins Monteiro Rosa. - 2022.
47 f. : il.

Orientador: Rodrigo Sobreira Alexandre.

Coorientador: José Carlos Lopes.

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

1. Sapucaia. 2. Temperaturas. 3. Enzimas do estresse
oxidativo. 4. Espécie reativa de oxigênio. 5. Emergência de
plântulas. I. Alexandre, Rodrigo Sobreira. II. Lopes, José Carlos.
III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 630*38

FISIOLOGIA DE SEMENTES E METABOLISMO ANTIOXIDATIVO NA EMERGÊNCIA
DE *Lecythis pisonis* CAMBESS.: INFERÊNCIAS SOBRE TEMPERATURA ÓTIMA E
APTIDÃO CLIMÁTICA PARA A SEMEADURA

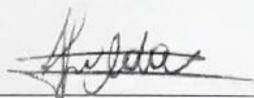
Thuanny Lins Monteiro Rosa

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 Doutora em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2022.



Prof. Dr. Adésio Ferreira (Examinador externo)
Universidade Federal do Espírito Santo

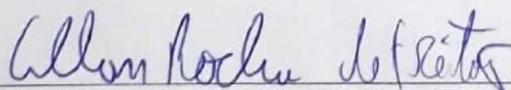


Dra. Liana Hilda Golin Mengarda (Examinadora externa)
Pesquisadora

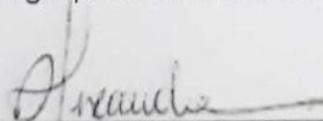
KHETRIN SILVA
MACIEL:12227955
740

Assinado de forma digital por
KHETRIN SILVA MACIEL:12227955740
Dados: 2022.03.05 00:40:58 -03'00'

Profa. Dra. Khêtrin Silva Maciel (Examinadora externa)
Universidade Federal do Sul da Bahia



Dr. Allan Rocha de Freitas (Examinador externo)
Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo



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

“Even when I don’t see, I still believe”

(Mesmo quando eu não vejo, ainda acredito)

Acredito que os resultados das nossas pesquisas vão dar frutos, mesmo que ainda não os vejamos.

Acredito!

Jeremy Camp

Aos meus filhos Davi e Pedro, que são minha motivação de vida.
À minha mãe Aparecida que sempre me apoiou verdadeiramente em todo tempo.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela graça da vida, por sua infinita misericórdia, socorro bem presente no momento das angústias, fonte de proteção e direção. Sou e sempre serei grata por tudo o que tens feito a mim, mesmo eu não entendendo o processo no qual estou passando e tenho que passar, confio que o final está em suas mãos sempre e que nada saiu do controle do Senhor. Eu tenho fé que os planos do Senhor não podem ser frustrados. Eu te amo meu Deus!

Aos meus filhos Davi e Pedro, que mesmo pequeninos fazem toda a diferença na minha vida, a cada dia eu aprendo algo com vocês, ver a fragilidade de cada um, a aprendizagem, as inseguranças ingênuas, os movimentos pouco coordenados ainda, a brincadeira, a alegria e o amor puro e verdadeiro no olhar ao me ver. Isso não tem preço! Eu amo vocês meus filhos e é por vocês que eu sigo e encaro as lutas diárias.

À minha mãe Aparecida, uma mulher que me ensinou tanto, educou, protegeu e cuidou sem cortar minhas asas, deixou que eu vivesse minhas experiências, sempre incentivando às melhores decisões. Isso foi muito importante para mim, eu não teria conseguido chegar até aqui se não houvesse todo o seu apoio. Arraijou em mim o desejo e a esperança de estudar e aprender. Hoje sou e em todos os dias de minha vida serei grata ao seu amor!

Aos meus amigos que me incentivaram, oraram e jejuaram por mim, fortalecendo-me nos momentos de fraqueza e desânimo. Vocês são fundamentais na minha vida, joias usadas por Deus para me sustentar quando eu penso que não há saída.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre pela orientação e direção das nossas pesquisas desde a graduação. Sua dedicação, incentivo, empenho, colaboração e conselhos na minha vida acadêmica foram determinantes para minha chegada até aqui. O senhor me ensinou muitas coisas que levarei para toda a vida!

Ao meu coorientador Prof. Dr. José Carlos Lopes por todos os conselhos, oportunidades e conversas. Sua coorientação foi muito importante para mim. Sua sabedoria ao falar é impecável, um exemplo de educação!

À comissão examinadora: Dr. Allan Rocha de Freitas, Dra. Liana Hilda Golin Mengarda, Prof. Dr. Adésio Ferreira e Profa. Dra. Khétrin Silva Maciel. Aos senhores pela disponibilidade de estarem na comissão examinadora, as contribuições e ensinamentos de vocês serão levados para a vida toda.

À Profa. Dra. Fátima Conceição Márquez Piña-Rodrigues, ao Programa Arboretum de Conservação e Restauração da Diversidade Florestal, ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), à Sociedade de Investigações Florestais (SIF) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), À Reserva Natural Vale na pessoa de Tiago de Oliveira Godinho, aos senhores Ernesto Muzzi, Adinea Saick e Davi Saick por fornecer localizações de matrizes que possibilitaram criar os mapas de aptidão climática. Ao Prof. Dr. João Paulo Bestete de Oliveira pelo belíssimo trabalho na elaboração dos mapas, sendo uma peça-chave na conexão entre os resultados laboratoriais e a prática.

Ao Prof. Dr. Adésio Ferreira pelo incansável auxílio com as análises estatísticas, explicações, reuniões e conselhos a mim concedido.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Labate que permitiu a análise metabolômica do nosso material no Laboratório Multiusuários de Proteômica, Metabolômica e Lipidômica da USP e a Dra. Thaís Regiane Cataldi que me auxiliou no preparo das amostras, dando todo o suporte. Infelizmente devido aos muitos contratemplos acontecidos não puderam ser inseridos na minha tese, mas fica registrado a minha gratidão pela disponibilidade e colaborações dos senhores para conosco.

Agradeço ao Núcleo de Análise de Biomoléculas (NuBioMol) da UFV, assim como a FINEP, CNPq e FAPEMIG pela análise hormonal em nosso material. Não constam aqui na tese devido às adversidades encaradas.

Aos funcionários da Universidade Federal do Espírito Santo que são muito prestativos e sempre me atenderam com carinho.

A toda a equipe do Laboratório de Sementes Florestais que esteve comigo durante este período, tornando o ambiente interativo, pelas trocas de informações, nas inúmeras conversas, nas risadas e brincadeiras que divertiam o dia, nas montagens, avaliações e desmontagens de experimentos e nas confraternizações. Vou sempre me lembrar de vocês. Obrigada por tudo o que fizeram por mim!

Aos professores que ministraram disciplinas que ampliaram meus conhecimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais pela oportunidade de cursar o doutorado em Ciências Florestais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado.

À Universidade Federal do Espírito Santo pelo espaço cedido para o desenvolvimento deste trabalho, bem como os equipamentos e estruturas necessários.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para que nosso trabalho chegasse a este ponto, fica registrada minha gratidão.

RESUMO

ROSA, Thuanny Lins Monteiro. **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. Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Sobreira Alexandre. Coorientador: Prof. Dr. José Carlos Lopes.

As mudanças climáticas registradas nas últimas décadas desencadearam uma severa perda de biodiversidade. As temperaturas altas induzem alto esforço reprodutivo das árvores que não é traduzido em alta produção de sementes viáveis. A temperatura é um dos fatores climáticos mais importantes à germinação e emergência de plântulas e desta forma identificar a adequada é um fator preponderante para a qualidade fisiológica da semente e mudas. A espécie *L. pisonis* é uma promissora árvore, com relevância econômica e ecológica, cuja propagação em ambiente controlado ainda não está estabelecida. Neste contexto, objetivou-se encontrar a temperatura ótima para a emergência, analisar o efeito de diferentes temperaturas na bioquímica e enzimas antioxidantes das sementes e a aptidão climática para a semeadura de *L. pisonis*. Para isto, as sementes desta espécie foram submetidas a 10 temperaturas diferentes em câmaras de germinação. Analisou-se a germinação, vigor e fenotipagem das mudas, bioquímica, enzimas do estresse oxidativo, peróxido de hidrogênio e malonodialdeído em sementes recém-colhidas e com 10 e 20 dias do processo germinativo. A temperatura ótima para a emergência de plântulas de *L. pisonis* é 30-35 °C e as letais são 20 e 20-25 °C. A quantidade de peróxido de hidrogênio aos 10 dias é reduzida juntamente com o aumento da atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase na temperatura de 30-35 °C. A maior quantidade de lipídios encontrada nas sementes de *L. pisonis* aos 10 dias é à 30-35 °C, no qual promove mudas com maior qualidade. A temperatura ótima encontrada no trabalho é confirmada com a faixa de temperatura dos locais de ocorrência da *L. pisonis*. É recomendada a semeadura da sapucaia de acordo com as temperaturas máximas e mínimas durante os meses de agosto a dezembro na Floresta Atlântica (Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do

Norte) e na região amazônica (Maranhão, Tocantins, Amapá, Pará, Amazonas, Roraima e Acre).

Palavras-chave: sapucaia, temperaturas, enzimas do estresse oxidativo, espécie reativa de oxigênio, emergência de plântulas.

ABSTRACT

ROSA, Thuanny Lins Monteiro. **Seed physiology and antioxidant metabolism in the emergence of *Lecythis pisonis* Cambess.: inferences about optimal temperature and climatic aptitude for sowing.** 2022. Thesis (Doctorate in Forest Sciences) – Federal University of Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Advisor: Rodrigo Sobreira Alexandre. Co-advisors: José Carlos Lopes.

The climate changes registered in the last decades have triggered a severe loss of biodiversity. High temperatures induce a high reproductive effort of trees that is not translated into high production of viable seeds. The temperature is one of the most important climatic factors to the germination and emergence of seedlings and in this way to identify the adequate one is a preponderant factor for the physiological quality of the seed and seedlings. The species *L. pisonis* is a promising tree, with economic and ecological relevance, whose propagation in a controlled environment is not yet established. In this context, the objective was to find the optimal temperature for emergence, to analyze the effect of different temperatures on the biochemistry and antioxidant enzymes of the seeds and the climatic aptitude for the sowing of *L. pisonis*. For this, the seeds of this species were submitted to 10 different temperatures in germination chambers. Germination, vigor and phenotyping of seedlings, biochemistry, oxidative stress enzymes, hydrogen peroxide and malondialdehyde were analyzed in intact seeds and at 10 and 20 days of germination process. The lethal and optimal temperatures for the emergence of *L. pisonis* seedlings are 20, 20-25 and 30-35 °C, respectively. The amount of hydrogen peroxide at 10 days is reduced along with an increase in the activity of catalase and ascorbate peroxidase enzymes at a temperature of 30-35 °C. The highest amount of lipids found in the seeds of *L. pisonis* at 10 days is at 30-35 °C, which promotes seedlings with higher quality. The optimal temperature found in the work is confirmed with the temperature range of the places where *L. pisonis* occurs. Sapucaia sowing is recommended according to maximum and minimum temperatures during the months of August to December in the Atlantic Forest (Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba and Rio Grande do Norte) and in the Amazon region (Maranhão, Tocantins, Amapá, Pará, Amazonas, Roraima and Acre).

Keywords: sapucaia, temperatures, oxidative stress enzymes, reactive oxygen species, seedling emergence.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS.....	16
2.1. GERAL.....	16
2.2. ESPECÍFICO.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. SAPUCAIA (<i>Lecythis pisonis</i>).....	17
3.2. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES.....	18
3.3. BIOQUÍMICA DE SEMENTES.....	20
3.4. REFERÊNCIAS.....	24
4. METODOLOGIA.....	27
4.1. EMERGÊNCIA.....	27
4.2. ANÁLISE ENZIMÁTICA.....	28
4.3. BIOQUÍMICA.....	28
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
5. RESULTADOS.....	30
6. DISCUSSÃO.....	39
7. CONCLUSÕES.....	42
8. AGRADECIMENTOS.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas registradas nas últimas décadas desencadearam uma severa perda de biodiversidade. As temperaturas altas aceleram o metabolismo das plantas, induzindo o esforço reprodutivo das árvores que produzem mais flores, entretanto a polinização delas não são efetivas gerando alta produção de sementes inférteis. As espécies cujas sementes são consideradas pesadas precisam de alguns anos para poder recuperar a energia dispendida na floração e frutificação e voltar a produzir flores e frutos em grande quantidade novamente, resultando na alternância de produção (MONKS et al., 2016; CHOI et al., 2021; KIJOWSKA-OBERC et al., 2021). A espécie *Lecythis pisonis* Cambess. (Lecythidaceae) é uma árvore que produz frutos grandes e sementes com castanhas, nativa do hotspot de biodiversidade Floresta Atlântica e Floresta Amazônica. Suas sementes são ricas fontes de nutrientes e compostos bioativos, a exemplo do selênio (Se) e fenóis (DEMOLINER et al., 2018a; ROSA et al., 2020). Possuem relevância econômica e alimentícia, sendo também, uma espécie indicada para restauração florestal (BRANDÃO et al., 2013; RODRIGUES et al., 2015; DEMOLINER et al., 2018b).

As espécies florestais nativas têm um grande poder de regenerar-se e fazem isto por meio de sementes e, particularmente com a espécie *L. pisonis*, a germinação e emergência de plântulas é desuniforme, variando fortemente em função da planta mãe e localização geográfica, com valores de 3 a 93% em condições de viveiro (ARAUJO, 2020) e de 0 a 50% em temperatura de 25 °C (ROSA et al., 2020). Nas instruções para análise de sementes de espécies florestais as temperaturas recomendadas para a *L. pisonis* são 20-30; 25 e 30 °C, alcançando 50% de emergência na maior temperatura (BRASIL, 2013). Isto indica uma alta variabilidade genética entre indivíduos da mesma espécie, o que permite que estes respondam de forma distinta às mudanças climáticas do ambiente.

A atividade enzimática e os compostos de reservas presentes em semente, também influenciam na sua resposta germinativa. Os lipídios, proteínas e carboidratos são mobilizados durante o processo germinativo para a produção de energia e formação de novas células (BEWLEY et al., 2013; ÖZACAR et al., 2019). As enzimas do sistema antioxidante atuam para mitigar o efeito das espécies reativas de oxigênio (ERO), como o peróxido de hidrogênio, o ânion superóxido e o radical hidroxila em

substâncias não tóxicas para manter a homeostase celular. As ERO em baixas concentrações atuam como sinalizadores de diversos estresses abióticos, entretanto, sua superprodução causa oxidação da camada de fosfato lipídico das células vegetais, levando a senescência e morte celular. Dentre estas enzimas temos superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX) (DAWOOD; AZOOZ, 2020; TAVANTI et al., 2021).

A análise das enzimas do estresse oxidativo e as EROs são marcadores bioquímicos importantes no que se refere a tratamentos com temperaturas e estresses. O aumento das concentrações destas enzimas atenua efeitos negativos do estresse salino, da toxicidade de herbicidas e do estresse térmico, no qual a tolerância ao estresse térmico pode promover o aumento da ativação enzimática de CAT e APX e a expressão de proteínas de choque térmico (KIBINZA et al., 2011; ERGIN et al., 2016; DAWOOD; AZOOZ, 2020; FAIZAN et al., 2021; ZHANG et al., 2021).

A manutenção da diversidade genética e a propagação das espécies arbóreas no seu ambiente natural, ocorre naturalmente via sementes, sendo a emergência de plântulas um estágio crítico no ciclo de vida da planta. A temperatura é um dos fatores que mais influencia nesta etapa, revelando a importância de se encontrar uma temperatura adequada que maximize a emergência das espécies de interesse (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012; GALÍNDEZ et al., 2017).

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Encontrar a temperatura ótima para a emergência, analisar o efeito de diferentes temperaturas na bioquímica e enzimas antioxidantes das sementes e a aptidão climática para a semeadura de *L. pisonis*.

2.2. ESPECÍFICO

Encontrar a temperatura ótima para a emergência, vigor e qualidade de plântulas de *L. pisonis*;

Analisar o efeito das temperaturas nos compostos bioquímicos lipídios, açúcares solúveis, fenóis, proteínas, amido e fibras das sementes de *L. pisonis* com 10 e 20 dias do processo germinativo;

Analisar o efeito das temperaturas nas enzimas catalase, peroxidase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase, no peróxido de hidrogênio e no malonodialdeído em sementes de *L. pisonis* com 10 e 20 dias do processo germinativo;

Fazer um zoneamento climático para a semeadura de *L. pisonis* no Brasil.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. SAPUCAIA (*Lecythis pisonis*)

A sapucaia (*L. pisonis*), pertencente à família Lecythidaceae, é conhecida também como sapucaia vermelha, castanha sapucaia, cumbuca de macaco, caçamba do mato e marmita de macaco. É uma árvore brasileira de grande porte, as mais altas atingem dimensões próximas a 50 m de altura e 150 cm de DAP (diâmetro a altura do peito, medido à 1,30 cm do solo) na idade adulta (CARVALHO, 2006).

É uma planta decídua durante a estação seca, heliófita e característica das matas úmidas da costa atlântica, porém tolera ambientes abertos. Suas folhas são membranáceas e finas, apresentando coloração rósea quando novas (LORENZI, 2009), possuindo alta atividade antioxidante que, pode estar associada com elevados níveis de fenóis e flavonoides (FERREIRA et al., 2014) e tornam-se coriáceas e glabras quando maduras, com filotaxia alterna (CARVALHO, 2006).

Apresenta potencial madeireiro e não madeireiro. Sua madeira é moderadamente pesada, com densidade de 0,88 g cm⁻³, apropriada para obras externas como postes, dormentes, janelas, ripas, moirões, estacas, mastros, caibros, tacos, vigas, cabos de ferramentas, dentre outros (LORENZI, 2009).

Quanto ao potencial não madeireiro, a sapucaia é utilizada em sistemas agroflorestais com cacau para o sombreamento e tem capacidade de produção de muitos frutos, contendo castanhas apreciadas e consumidas por índios e é muito atrativa à fauna (RIBEIRO, 2010; OLIVEIRA et al., 2012; RODRIGUES et al., 2015). As castanhas de sapucaia são ricas em elementos minerais, vitaminas, lipídeos, proteínas, aminoácidos essenciais, valor calórico e compostos fenólicos, com a composição nutricional comparável com a castanha do Brasil (BARRETO; CAVALCANTI, 1947; VALLILO et al., 1998; DENADAI et al., 2007; SOUZA et al., 2008; CARVALHO et al., 2012; DEMOLINER et al., 2018a,b).

Além destes imprescindíveis componentes nutricionais, a sapucaia ainda tem selênio em suas castanhas (VALLILO et al., 1998). O selênio é um elemento químico capaz de promover muitos benefícios à saúde humana, como o aumento da resistência pelo sistema imunológico e a proteção contra ação nociva de metais pesados, a prevenção de doenças crônicas não transmissíveis e ainda tem função antioxidante (HOLBEN; SMITH, 1999; NAVARRO-ALARCOM; CABRERA-VIQUE,

2008). O efeito das selenoproteínas, pela ingestão de uma castanha do Brasil ao dia, foi uma resposta positiva em idosos com comprometimento cognitivo leve, auxiliando o raciocínio e aumentando a velocidade de resposta deles (CARDOSO et al., 2015).

No âmbito da medicina tradicional, as folhas da sapucaia são usadas em banho, para o tratamento de prurido no corpo (SILVA et al., 2012) e o óleo das sementes é usado como um emoliente na redução da dor muscular (AGRA; FREITAS; BARBOSA, 2007). A sapucaia pode ser considerada uma boa fonte de energia, com valores superiores a outras amêndoas, como noz de avelã, castanha de caju, amêndoa do licuri e até mesmo a castanha do Brasil (SOUZA et al., 2008).

A sapucaia é uma espécie com sistema reprodutivo preferencialmente alógamo, em que os agentes de dispersão do pólen são as abelhas e das sementes os morcegos e o homem (MORI; PRANCE, 1990; SAMPAIO, 2000). A floração ocorre de setembro a outubro, com a copa na coloração lilás, devido à nova folhagem rosada; e a maturação dos frutos, nos meses de agosto a setembro. Quanto às sementes, sua viabilidade é curta, não ultrapassando 90 dias, sendo recomendado colocar as sementes para germinar logo após serem colhidas (LORENZI, 2009).

As características, tamanho dos frutos, número de sementes por fruto e tamanho das sementes são muito variáveis em árvores tropicais (CRUZ; CARVALHO, 2003), sendo dependentes dos fatores climáticos locais como: temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade características dessas regiões. Rosa et al. (2019) encontraram divergência genética na sapucaia quanto à biometria de frutos e sementes.

3.2. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

A qualidade fisiológica de uma semente pode ser definida como a capacidade de realizar funções vitais, determinada pela germinação, vigor e longevidade. Determinar o potencial máximo de germinação é um dos parâmetros mais utilizados para analisar a qualidade fisiológica de diferentes lotes de sementes sob condições favoráveis (BEWLEY; BLACK, 1983; POPINIGIS, 1985; BRASIL, 2009; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A qualidade de uma semente engloba todos os atributos que afetam a sua capacidade de originar plantas de alta produtividade, sejam eles físicos, genéticos, sanitários e fisiológicos (MCDONALD JUNIOR, 1975; POPINIGIS, 1985). Sua importância é evidenciada desde a uniformidade da população, o alto vigor e a maior

produtividade até o armazenamento das sementes. Dentre os fatores que afetam esta qualidade, a condição climática é destacada, visto que na fase final da maturação, compreendida pela dessecação, um ambiente chuvoso manteria um alto teor de água nas sementes por um período excessivo, levando a uma rápida deterioração (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Isto é tão relevante que a civilização foi possível ao passo que as sementes puderam ser armazenadas de um ano agrícola para o outro. Por possuir o clima predominantemente seco, no Egito armazenavam as sementes de forma simples, tendo a região o primeiro grande impulso da agricultura e é considerado o berço da civilização (HARRINGTON, 1972). Isto é bem ilustrado na história bíblica de José do Egito que interpretou o sonho do faraó como sete anos de seca e outras calamidades após sete anos de bonança. Acreditando em José, o faraó ordenou a estocagem dos grãos nos anos de bonança e salvou o Egito (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Outros fatores que afetam a qualidade das sementes são o vigor das plantas que deram origem, principalmente seu status nutricional; o grau de maturação no momento da colheita, ou a semente não terá atingido o máximo vigor ou pode já ter iniciado a deterioração; o ataque de pragas e doenças; o grau de injúria mecânica; secagem das sementes; tamanho e densidade das sementes; e tipo de embalagem no armazenamento das sementes (POPINIGIS, 1985; CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Para que se tenha conhecimento da qualidade real de um lote de sementes, é necessário possuir métodos que permitam obter resultados uniformes e comparáveis entre diferentes análises e laboratórios. A fim de se alcançar este objetivo, é imprescindível a disponibilidade de instalações adequadas, pessoal convenientemente treinado e métodos uniformes, bem como um programa de pesquisa em análise de sementes que procure desenvolver novos métodos e aprimorar os já existentes (MARCOS FILHO, 1994; McDONALD JR, 1998). Porém muitas espécies florestais nativas brasileiras não possuem metodologias apropriadas para a análise da qualidade fisiológica (PIÑA-RODRIGUES et al., 2006).

A qualidade fisiológica das sementes florestais é geralmente avaliada por meio dos testes de germinação. Estes testes são efetuados em laboratório sob condições controladas, uma vez que no campo ocorrem flutuações ambientais que podem alterar o comportamento das sementes (FIGLIOLIA et al., 1984). Dentro das lecitidáceas a qualidade fisiológica foi analisada pela germinação e vigor *ex vitro* de *Bertholletia*

excelsa (FRAZÃO et al. 1984; SILVA et al., 2009), *Couratari stellata* (CRUZ; CARVALHO, 2003), *Gustavia augusta* (SILVA et al., 2014), *Lecythis lurida* (DUARTE et al., 2020), *Lecythis pisonis* (ARAUJO et al., 2020; ROSA et al., 2020) e *Lecythis lanceolata* (ARAUJO, 2020).

Além dos testes de germinação, o teste de condutividade elétrica é uma alternativa rápida de avaliação da qualidade fisiológica das sementes florestais, incluindo a lecitidácea *Cariniana legalis*, quando comparado ao teste padrão de germinação, fornecendo informações precisas quanto ao seu desempenho (GUOLLO et al., 2017). Assim como para as sementes de *C. estrellensis*, em que a recomendação é a embebição das sementes por 48 horas, sendo que este período foi eficiente na classificação dos lotes quanto ao vigor (KOPPER, 2008).

As sementes de *C. legalis* foram classificadas como recalcitrantes por Rêgo (2002), entretanto sua viabilidade mantém-se por até 12 meses em câmara seca ou fria, porém perdem a viabilidade à medida que se prolonga o armazenamento. Anos depois, esta espécie foi classificada como de comportamento ortodoxo de acordo com a qualidade fisiológica durante o armazenamento (ABREL, 2009).

3.3. BIOQUÍMICA DE SEMENTES

As sementes acumulam reservas nutritivas, armazenadas principalmente na forma de carboidratos, lipídios e proteínas (LIMA et al., 2008). Além dessas biomoléculas, outros compostos têm demonstrado um papel fundamental durante a germinação como aminoácidos e poliaminas (SANTA-CATARINA et al., 2006; DIAS et al., 2009; PIERUZZI et al., 2011). Tais reservas acumuladas nos cotilédones e no endosperma durante o desenvolvimento da semente são consumidas durante a germinação visando à formação de uma plântula (BUCKERIDGE et al., 2004). A proporção desses compostos pode variar de espécie para espécie ou entre espécies de uma mesma família (BEWLEY; BLACK, 1994; MARCOS-FILHO, 2005).

Alguns estudos têm mostrado o papel de determinados compostos, como aminoácidos e poliaminas, durante o desenvolvimento das sementes (ASTARITA et al., 2003; SANTA-CATARINA et al., 2006), bem como a sua mobilização durante a germinação (DIAS et al., 2009; PIERUZZI et al., 2011) em espécies arbóreas nativas. Foi demonstrado por estes autores que os níveis destes compostos são alterados durante os diferentes períodos desses processos.

As plantas têm capacidade de converter dióxido de carbono, água e íons

inorgânicos em compostos orgânicos compatíveis com a necessidade da célula, como carboidratos a partir da utilização da energia luminosa (TAIZ; ZEIGER, 2009). A disponibilidade de açúcares é um importante direcionador do crescimento e desenvolvimento embrionário e na germinação de sementes, uma vez que estes compostos atuam tanto como substrato intermediário para o metabolismo e como moléculas sinalizadoras (SMEEKENS et al., 2010).

Os carboidratos podem ser agrupados em monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos. As pentoses e as hexoses (glicose, frutose e galactose), são os monossacarídeos mais comuns e mais importantes nos seres vivos. Os oligossacarídeos constituem cadeias curtas de monossacarídeos, unidas por ligações glicosídicas, sendo que os mais importantes para os seres vivos são os dissacarídeos sacarose (formada por uma molécula de glicose e uma de frutose), maltose (formado por duas moléculas de glicose) e lactose (formado por uma molécula de glicose e uma de galactose). Os polissacarídeos são polímeros que contêm mais de 20 unidades de monossacarídeos, e são representados nas sementes pelo amido, pelas hemiceluloses e pela celulose (ANDERSON, 1998).

Estudos com carboidratos têm mostrado que estes influenciam o desenvolvimento do embrião e a germinação. Estas reservas são utilizadas pelo embrião como fonte de energia e substrato em nível celular no processo germinativo da semente (CROZIER et al., 2000, FERREIRA et al., 2009). Na fase de desenvolvimento do embrião ocorre a síntese de açúcares totais solúveis, atuando como fonte de esqueletos carbônicos e/ou como sinalizadores, sendo também, indispensáveis aos embriões para torná-los metabolicamente quiescentes e tolerantes à dessecação (BAUD et al., 2002, DEKKERS et al., 2004; GIBSON, 2005).

Adicionalmente, a sacarose, principal produto de fixação de carbono durante a fotossíntese é o principal carboidrato translocado pelas plantas, possui importantes funções na planta, como a regulação metabólica, sinalização celular e expressão de genes, determinação do desenvolvimento e diferenciação celular, e como composto de reserva, ajudando a manter a pressão osmótica no citosol (SALISBURY; ROSS, 1992; CHOUREY et al., 1995; ARENAS-HUERTERO et al., 2000; TEIXEIRA, 2005). Este é o principal açúcar solúvel encontrado nas sementes, fornecendo substrato para a síntese de amido e frutanos. A sacarose é armazenada principalmente no vacúolo, que compreende cerca de 70% do volume da célula (AVIGAD; DEY, 1997).

Alguns estudos têm mostrado o papel dos carboidratos durante o

armazenamento das sementes e manutenção da viabilidade. Os açúcares solúveis, glicose, sacarose e frutose, presentes nas sementes atuam como reservas de utilização rápida e constituem importante proteção, limitando os danos causados pela dessecação em sementes maduras (BUCKERIDGE et al., 2000). Adicionalmente, estão envolvidos em respostas a vários estresses e atuam como sinais metabólicos que ativam hormônios específicos via transdução de sinal (COUÉE et al., 2006).

Outras biomoléculas essenciais para construção de enzimas e proteínas importantes para estrutura e metabolismo das plantas são os aminoácidos, que servem como fonte de nitrogênio orgânico para a síntese de uma grande variedade de compostos essenciais para o seu desenvolvimento, como, nucleotídeos, clorofila, hormônios e metabolitos secundários (TEGEDER, 2012). Estes compostos desempenham importantes funções como transportadores de nitrogênio nas plantas, reguladores em diversos processos envolvidos em resposta a diferentes condições ambientais e para a qualidade nutricional das proteínas presentes nas sementes (AZEVEDO et al., 2006).

Durante o desenvolvimento das sementes, os aminoácidos são armazenados em proteínas de reserva (BUCKERIDGE et al., 2004), e durante a germinação, essas proteínas armazenadas são degradadas, e os aminoácidos hidrolisados, liberam grandes quantidades de amônio, que serão reassimilados, sintetizando moléculas nitrogenadas para o crescimento da plântula (GUIMARÃES, 1999; CANTÓN et al., 2005).

Dentre os aminoácidos, arginina, metionina, prolina e glutamato estão direta ou indiretamente envolvidos em respostas à regulação da planta a vários sinais ambientais, incluindo luz e disponibilidade mineral, bem como estresses bióticos e abióticos (BAUM et al., 1996; STRIZHOV et al., 1997; NUCCIO et al., 1999; HÖFGEN et al., 2001). Estudos com espécies arbóreas mostram que os níveis endógenos de aminoácidos sofrem variações ao longo do processo de desenvolvimento embrionário (ASTARITA et al., 2003; SANTA-CATARINA et al., 2006) e germinativo (DIAS et al., 2009; PIERUZZI et al., 2011), sugerindo que estas moléculas estão associadas a estes processos.

Durante a deterioração de sementes, a degradação dos aminoácidos, devido à síntese ou ativação de grande quantidade de enzimas proteolíticas, pode provocar alterações no funcionamento das células em função de sua importância como precursores de substâncias essenciais, participando em reações metabólicas vitais e

por constituírem unidades básicas para a síntese de proteínas (PAULA et al., 1998).

3.4. REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA, F. J. M. Sinopse das plantas conhecidas como medicinais e venenosas no Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 116-155, 2007.

BARRETO, J. B.; CAVALCANTI, T. A. A. Contribuição ao estudo do problema alimentar da Amazônia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 45, n. 2, p. 853-875, 1947.

CARDOSO, B. R. et al. Effects of Brazil nut consumption on selenium status and cognitive performance in older adults with mild cognitive impairment: a randomized controlled pilot trial. **European Journal of Nutrition**, v. 54, n. 1, p. 1-10, 2015.

CARVALHO, I. M. M. et al. Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) da região da zona da mata mineira. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, p. 971-977, 2012.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 1. ed., v. 2, 2006. 627p.

CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e germinação de sementes de *Couratari stellata* A. C. Smith (Lecythidaceae). **Acta Amazonica**, v. 33, n. 3, p. 381-388, 2003.

DENADAI, S. M. S. et al. *In vitro* digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 535-543, 2007.

DEMOLINER, F. et al. 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. et al. 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.
- FERREIRA, E. L. F. et al. Phytochemical investigation and antioxidant activity of extracts of *Lecythis pisonis* Camb. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 8, p. 353-360, 2014.
- HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOZLOWSKI, T. T. (Ed.). **Seed biology**, v. 3, 1972. p. 145-245.
- HOLBEN, D.; SMITH, A. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 99, n. 7, p. 836-843, 1999.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil**. 1 ed., v. 3, Instituto Plantarum, 2009. 384p.
- MORI, S. A.; PRANCE, G. T. **Lecythidaceae part II: the zygomorphic-flowered new world genera (*Couroupita*, *Corythophora*, *Bertholletia*, *Couratari*, *Eschweilera*, & *Lecythis*)**, with a study of secondary of neotropical lecythidaceae. New York: The New York Botanical Garden, 1990. 375 p. (Flora Neotropica. Monograph, 21 II).
- NAVARRO-ALARCON, M.; CABRERA-VIQUE, C. Selenium in food and the human body: A review. **Science of the Total Environment**, v. 400, n. 1-3, p. 115-141, 2008.
- OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170-179, 2012.
- RIBEIRO, G. D. **Algumas espécies de plantas reunidas por famílias e suas propriedades**, Embrapa Rondônia, 2010. 179p.
- RODRIGUES, A. B. et al. First microsatellite markers for *Lecythis pisonis* (Lecythidaceae), an important resource for Brazilian fauna. **Conservation Genetics Resources**, v. 7, n. 2, p. 437-439, 2015.
- 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. 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.

ROSA, T. L. M. et al. Biometry and genetic diversity of paradise nut genotypes (*Lecythis pisonis*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, n. 1, p. e00240, 2019.

SAMPAIO, P. T. B. Castanha-sapucaia (*Lecythis pisonis*). In: CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. T. B.; CLEMENT, C. R. **Biodiversidade amazônica: exemplos e estratégias de utilização**. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e tecnológico, 2000. p. 141-147.

SILVA, L. L. et al. Effects of *Lecythis pisonis* Camb. (*Lecythis pisonis*) in a mouse model of pruritus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, n. 1, p. 90-97, 2012.

SOUZA, V. A. B. et al. Características físicas de frutos e amêndoas e características químico-nutricionais de amêndoas de acessos de sapucaia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 4, p. 946-952, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: ARTMED, 2013. 820p.

VALLILO, M. I. et al. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 197-200, 1998.

4. METODOLOGIA

4.1. EMERGÊNCIA

As sementes foram colhidas em uma fazenda situada numa região de alta ocorrência da espécie, município de Laranja da Terra/Espírito Santo, Brasil, sob as coordenadas 19°47'05,33" S e 41°09'17,05" O. Estas sementes foram conduzidas ao Laboratório de Sementes Florestais, Jerônimo Monteiro/Espírito Santo, Brasil.

A fim de caracterizar o lote de sementes, foi feita a biometria constando das características comprimento, largura, espessura, massa e teor de água das sementes. Foram separadas 100 sementes aleatoriamente, divididas em quatro repetições, medindo-se: o comprimento entre o ápice e a base, a maior largura e maior espessura de cada semente dentro de cada repetição, com o auxílio de um paquímetro digital 6" (Zaas Precision, Piracicaba-São Paulo, Brasil) com precisão de 0,01 mm. Também foi pesada cada semente, em balança com precisão de 0,0001 g para obter a massa das sementes. O teor de água das sementes foi determinada pelo método da estufa a 105 ± 3 °C, por um período de 72 horas, até massa constante, com quatro repetições de 10 sementes utilizando a seguinte equação: $U = 100 (PI - PF)/PI$, em que U corresponde à umidade (%), PI e PF correspondem ao peso inicial (g) e ao peso final (g) das sementes, respectivamente (BRASIL, 2009).

O teste de emergência e vigor foram realizados utilizando-se 100 sementes recém-colhidas, semeadas em bandejas plásticas com fundo furado para drenagem e aeração do substrato comercial Vivato® (autoclavado por 30 minutos a 121 °C e 1 atm). Foram dispostas em câmaras de germinação tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*, Eletrolab, São Paulo, Brasil), sob temperatura de acordo com o tratamento, sem fotoperíodo. Os tratamentos foram: T1. 20; T2. 25; T3. 30; T4. 35; T5. 20-25; T6. 20-30; T7. 20-35; T8. 25-30; T9. 25-35; T10. 30-35 °C. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 10 tratamentos e quatro repetições de 25 sementes cada, analisando-se diariamente a emergência (BRASIL, 2009), índice de velocidade de emergência (IVE) (MAGUIRE, 1962) e o tempo médio de emergência (TME) (LABOURIAU, 1983). Ao final de 53 dias foi avaliada a porcentagem final de emergência de cada tratamento e registrada a temperatura das plântulas em cada tratamento por meio de câmera termal FLIR T430sc e a temperatura do substrato com termômetro Xtrad XT-1234, além da fenotipagem das mudas, medindo comprimento

da parte aérea, diâmetro do coleto, comprimento da raiz principal, diâmetro da raiz principal, número de gemas e número de raízes laterais, massa seca da parte aérea e raiz.

Adicionalmente às sementes do experimento de germinação, foram inseridas duas repetições a mais de 25 sementes em cada tratamento, que foram retiradas com 10 e 20 dias após a montagem do experimento, lavadas em água destilada e acondicionadas ao freezer -80 °C (Thermo Scientific®) para análises posteriores.

4.2. ANÁLISE ENZIMÁTICA

Para a análise das enzimas do estresse oxidativo catalase, peroxidase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase foi feita uma extração com 100 mg de sementes trituradas armazenadas no freezer -80 °C de cada tratamento e nos tempos 0, 10 e 20 dias após montagem do experimento de emergência.

A quantificação do H₂O₂ foi feita utilizando 0,2 g de sementes trituradas com nitrogênio líquido e do malonodialdeído foi feita conforme Velikova et al. (2000), utilizando 50 mg de sementes trituradas. Suas determinações foram espectrofotométricas e a absorbância das amostras foi comparada com a absorbância obtida com quantidades conhecidas.

4.3. BIOQUÍMICA

Para a realização das análises bioquímicas, as sementes foram trituradas e secas a 45 °C até peso constante. A extração constou de quatro repetições com amostras de 250 mg, segundo o protocolo adaptado de Bligh e Dyer (1959). Foi feita a série etanólica (98, 80 e 50) e clorofórmio, mantendo as amostras em banho maria a 80 °C por 20 minutos e centrifugando-as a 10000 rpm por 10 minutos. Como resultado, obteve-se uma fase sólida e três fases líquidas, uma hidrofílica e duas hidrofóbicas.

Para a realização do teor de lipídios totais utilizou-se as partes hidrofóbicas precipitadas da extração, mantendo-as 12 horas de repouso, com posterior secagem em estufa a 60 °C até peso constante. Para o teor de açúcares solúveis totais, adicionou-se antrona 0,2% e etanol 80% na solução hidrofílica, mantendo em banho

maria a 100 °C por 15 minutos. A leitura foi feita no comprimento de ondas 620 nm em espectrofotômetro Drawell EEQ-9507 (YEMM; WILLIS, 1954).

Para análise de fenóis solúveis totais adicionou-se álcool 80%, Folin-Ciocalteu 10% e carbonato de sódio 4% na solução hidrofílica. Em seguida, as amostras permaneceram no escuro durante 30 minutos para posterior análise em espectrofotômetro Drawell EEQ-9507 a 760 nm (SWAIN; HILLIS, 1959).

Para análise do teor de proteínas totais, foi acrescentado junto ao pellet hidróxido de potássio (KOH) 0,2 M, seguido por banho maria a 75 °C durante 2 horas. As amostras foram levadas para centrifuga a 10000 rpm durante 10 minutos, retirando-se o sobrenadante. O extrato foi diluído em KOH 0,2 M e solução de Bradford, seguido por um repouso de 10 minutos para a realização da leitura em espectrofotômetro Drawell EEQ-9507 no comprimento de ondas 595 nm (BRADFORD, 1976).

Para a obtenção do amido, tratou-se o pellet resultante da extração das proteínas com ácido clorídrico (HCl) 3%, incubando a 80 °C durante três horas e trinta minutos, seguido por uma centrifugação a 10000 rpm por 10 minutos, retirando-se o sobrenadante para a realização da leitura em espectrofotômetro Drawell EEQ-9507 no comprimento de ondas 620 nm. Sendo o pellet resultante da extração do amido seco em estufa a 60 °C até peso constante para a obtenção de fibras.

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento do experimento foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. Os dados de emergência, vigor, bioquímica, enzimas, peróxido de hidrogênio e malonodialdeído foram interpretados estatisticamente por meio de análise de variância e teste F ($p < 0,05$) e as médias submetidas ao teste de Tukey para comparação entre os tratamentos. Foi feito o contraste ortogonal para verificar a diferença entre grupos de tratamentos. Foi utilizado o programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2017).

5. RESULTADOS

As sementes de *L. pisonis* apresentaram média de comprimento de 39,1 mm, largura de 22,4 mm, espessura de 16,1 mm e massa de 7,2 g cada semente. O teor de água das sementes no momento da montagem do experimento foi de 7,7% e as temperaturas do substrato e das plântulas em cada câmara de germinação pode ser vista na Figura 1.

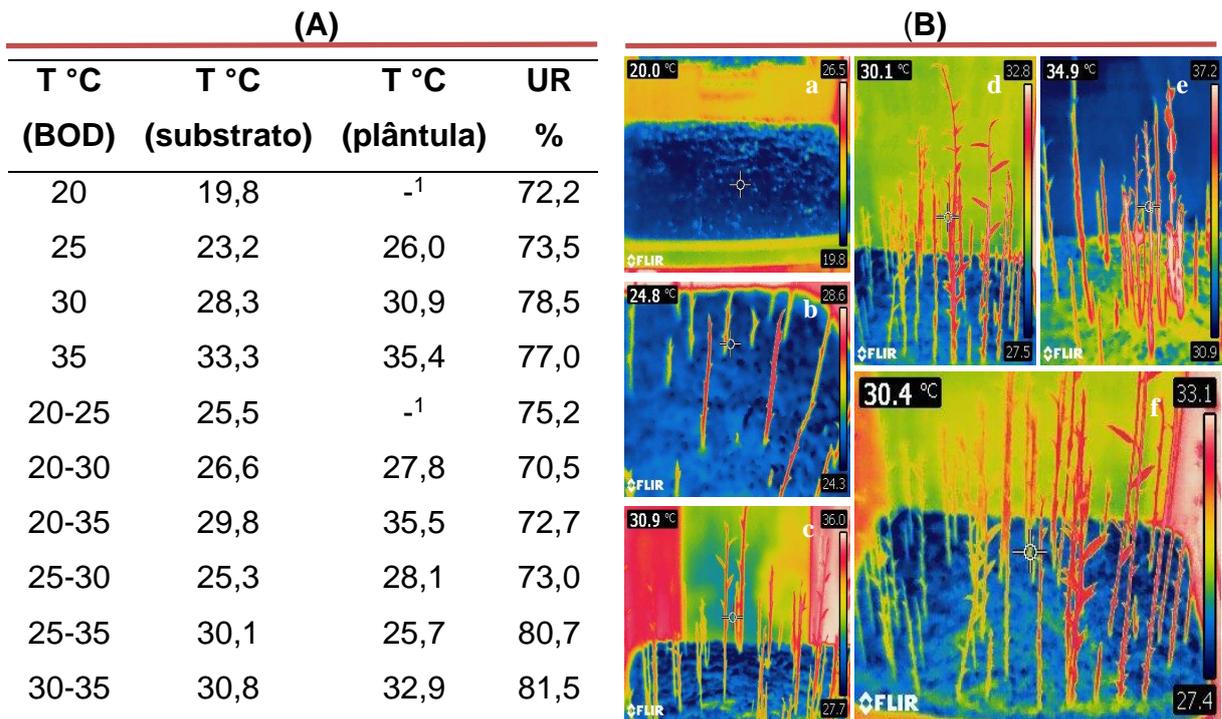


Figura 1. (A) Temperaturas (T °C) das câmaras de germinação tipo BOD, do substrato e das plântulas e a umidade relativa média em cada tratamento e (B) imagens termográficas dos tratamentos a. 20 °C, b. 25 °C, c. 25-35 °C, d. 30 °C, e. 35 °C, f. 30-35 °C aos 53 dias de montagem do experimento de emergência. ¹Não houve germinação nas temperaturas fixa de 20 °C e alternada de 20-25 °C.

Dentre os tratamentos, houve diferença significativa para todas as características de emergência, vigor e fenotipagem analisadas (Figura 2). Destaca-se que os tratamentos 20 e 20-25 °C não constam na Figura 2 por não produzirem plântulas.

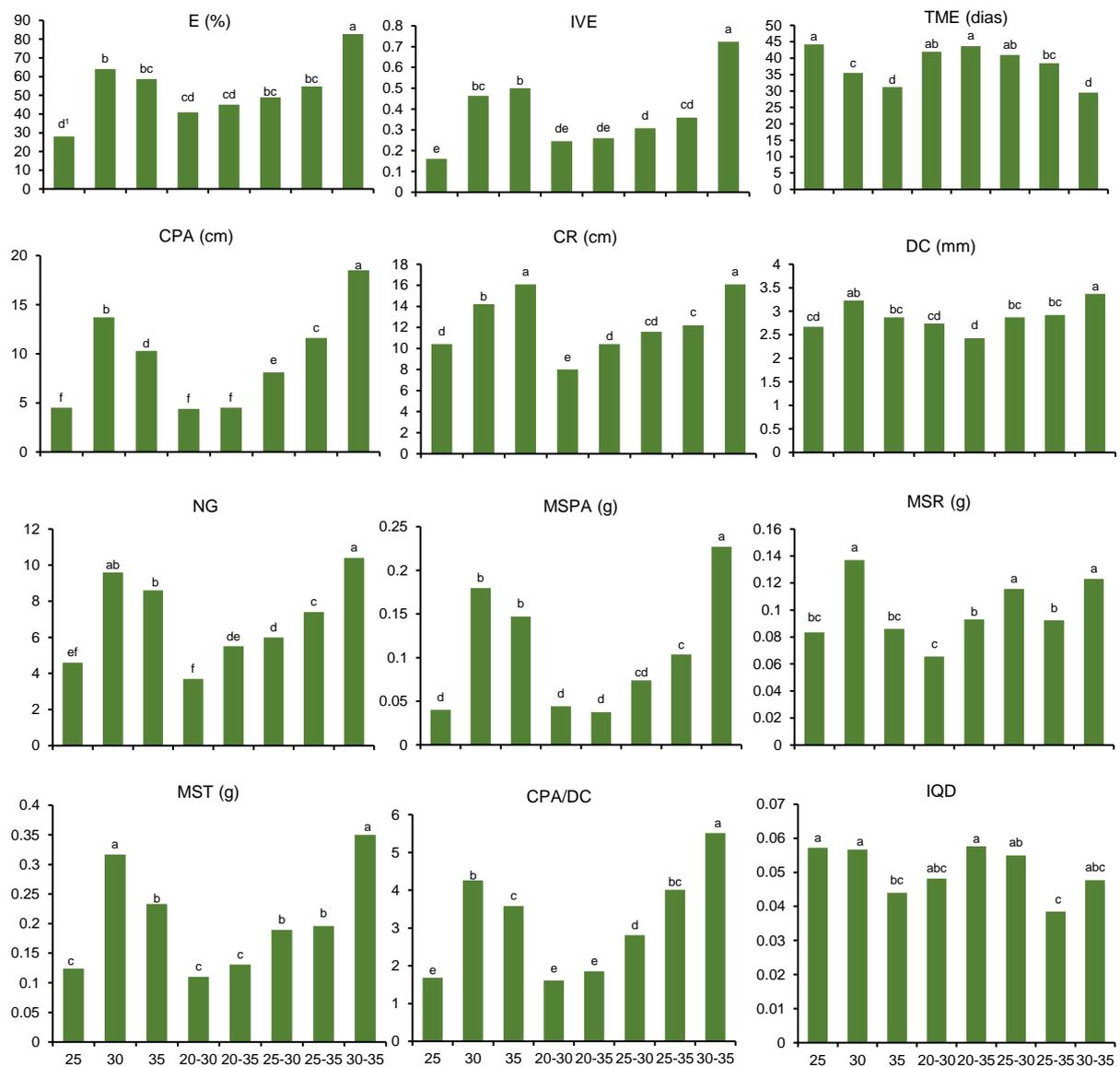


Figura 2. Emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de emergência (TME), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), diâmetro do coleto (DC), número de gemas (NG), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca de raízes (MSR), massa seca total (MST), relação comprimento da parte aérea e diâmetro do coleto (CPA/DC) e índice de qualidade de Dickson (IQD) de *L. pisonis* aos 53 dias em temperaturas controladas em câmaras de germinação tipo BOD. ¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna dentro de cada variável entres as diferentes temperaturas fixas e alternadas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A temperatura de 30-35 °C proporcionou resultados superiores para todas as características estudadas, produzindo mudas de maior qualidade. Dentre as temperaturas fixas, a de 30 °C foi a que proporcionou maior emergência (Figura 2).

As sementes em processo de germinação na temperatura de 30-35 °C tiveram redução de 52,4% de H₂O₂ comparada a semente recém-colhida, não diferindo entre os tempos de 10 e 20 dias (Figura 3).

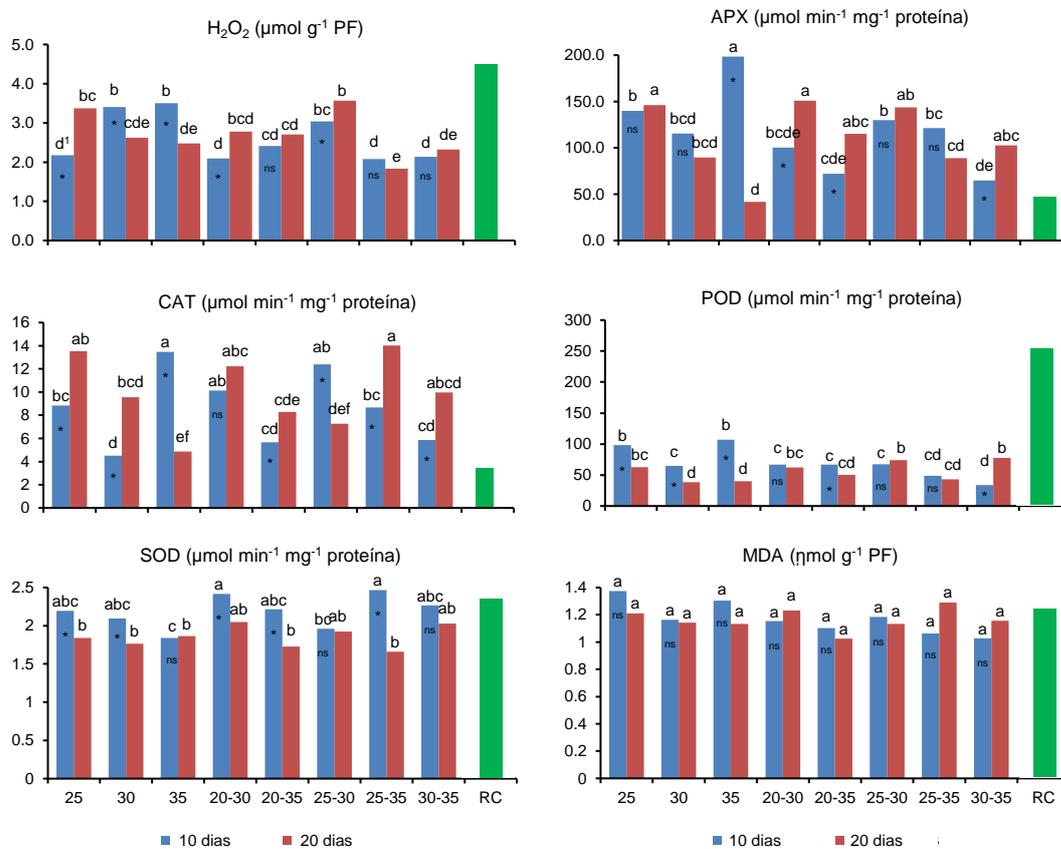


Figura 3. Peróxido de hidrogênio (H₂O₂, μmol g⁻¹ peso fresco), ascorbato peroxidase (APX, μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína), catalase (CAT, μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína), peroxidase (POD, μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína), superóxido dismutase (SOD, μmol min⁻¹ mg⁻¹ proteína) e malondialdeído (MDA, ηmol g⁻¹ peso fresco) em sementes de *L. pisonis* aos 10 e 20 dias após montagem do experimento de emergência em cada temperatura e na semente recém-colhida (RC, barra verde). *Significativo (p<0,05) e ^{ns}Não significativo pelo teste F na linha dentro de cada temperatura entre os tempos de avaliação de 10 e 20 dias. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre as

diferentes temperaturas, em cada tempo de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Abreviação: PF. Peso fresco. RC. Sementes recém-colhidas, não submetidas a nenhum tratamento de temperatura.

As enzimas APX e CAT com 20 dias do processo de germinação aumentaram suas atividades em 58,2 e 69,9%, respectivamente. A POD aos 10 dias reduziu sua atividade em 86,6% e aos 20 dias aumentou em 128,9%. A enzima SOD não apresentou diferença significativa entre a semente recém-colhida e os tempos analisados (Figura 3).

A concentração de MDA não diferiu estatisticamente entre os tratamentos e nos tempos de 10 e 20 dias, apresentando média de $1,176 \mu\text{mol g}^{-1}$ peso fresco.

O contraste da temperatura 30-35 °C com as temperaturas recomendadas pela literatura (25, 30 e 20-30 °C) revela diferença significativa, na qual a temperatura de 30-35 °C possui maiores quantidade das enzimas antioxidantes APX, CAT e POD (Tabela 1).

Tabela 1. Contraste ortogonal entre as temperaturas e os tempos após montagem do experimento de emergência de *L. pisonis* para peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ascorbato peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD) e malondialdeído (MDA)

Efeito	H_2O_2	APX	CAT	POD	SOD	MDA
C ₁	-0,8240 ^{ns}	64,2 ^{ns}	-10,152*	104,9*	2,60*	0,043 ^{ns}
C ₂	-15,0712*	570,2*	42,573*	-1479,9*	-1,38 ^{ns}	-0,502 ^{ns}
C ₃	14,2472*	-506,0*	-52,725*	1584,8*	3,99*	0,546 ^{ns}
C ₄	-2,3537*	18,4 ^{ns}	2,485 ^{ns}	-220,2*	-0,09 ^{ns}	-0,206 ^{ns}
C ₅	-2,1720*	56,2*	6,584*	-176,3*	-0,33*	-0,077 ^{ns}
C ₆	-5,7973*	216,1*	13,389*	-532,9*	-0,36 ^{ns}	-0,010 ^{ns}
C ₇	-4,6952*	246,7*	25,193*	-599,3*	-1,41*	-0,115 ^{ns}
C ₈	1,2640*	160,9*	5,934 ^{ns}	127,8*	-0,08 ^{ns}	0,609 ^{ns}
C ₉	1,8208*	78,0 ^{ns}	5,442 ^{ns}	-70,4*	-0,43 ^{ns}	0,116 ^{ns}
C ₁₀	3,0848*	238,9*	11,376*	57,4*	-0,51 ^{ns}	0,725 ^{ns}
C ₁₁	3,7588*	423,0*	22,693*	281,9*	-0,66 ^{ns}	1,151 ^{ns}
C ₁₂	3,1288*	56,1 ^{ns}	0,055 ^{ns}	-174,6*	-1,36 ^{ns}	0,072 ^{ns}

C₁: Todas as temperaturas aos 10 dias vs. todas as temperaturas aos 20 dias; C₂: todas as temperaturas aos 10 dias vs. controle (sementes recém-colhidas); C₃: todas as temperaturas aos 20 dias vs. controle; C₄: 30-35 °C aos 10 dias vs. controle; C₅: 30-35°C aos 20 dias vs. controle; C₆: temperaturas recomendadas (25, 30 e 20-30 °C)

aos 10 dias vs. controle; C₇: temperaturas recomendadas aos 20 dias vs. controle; C₈: 30-35 °C aos 10 dias vs. temperaturas recomendadas aos 10 dias; C₉: 30-35 °C aos 20 dias vs. temperaturas recomendadas aos 20 dias; C₁₀: 30-35 °C independente dos dias vs. temperaturas recomendadas independente dos dias; C₁₁: 30-35 °C aos 10 dias vs. todas as temperaturas; C₁₂: 30-35 °C aos 20 dias vs. todas as temperaturas.

Para as enzimas CAT, POD e SOD tem diferença entre os tempos de 10 e 20 dias analisados. Todas as temperaturas diferiram das sementes recém-colhidas quanto APX, CAT, POD e H₂O₂ nos tempos analisados (Tabela 1).

As características bioquímicas das sementes em processo de germinação em cada temperatura constam na Figura 4. O AST obteve maiores concentrações em sementes recém-colhidas e nas submetidas a temperatura de 25 °C, contudo, não diferem estatisticamente das temperaturas de 30, 35 e 20-35 °C aos 10 dias. Após 20 dias, observou-se maior concentração de AST em sementes nas temperaturas de 20-30 e 20-35 °C, contudo, não diferindo da temperatura 25-30 °C. Para FST, a maior concentração foi observada na temperatura de 25-30 °C em ambos os tempos (Figura 4).

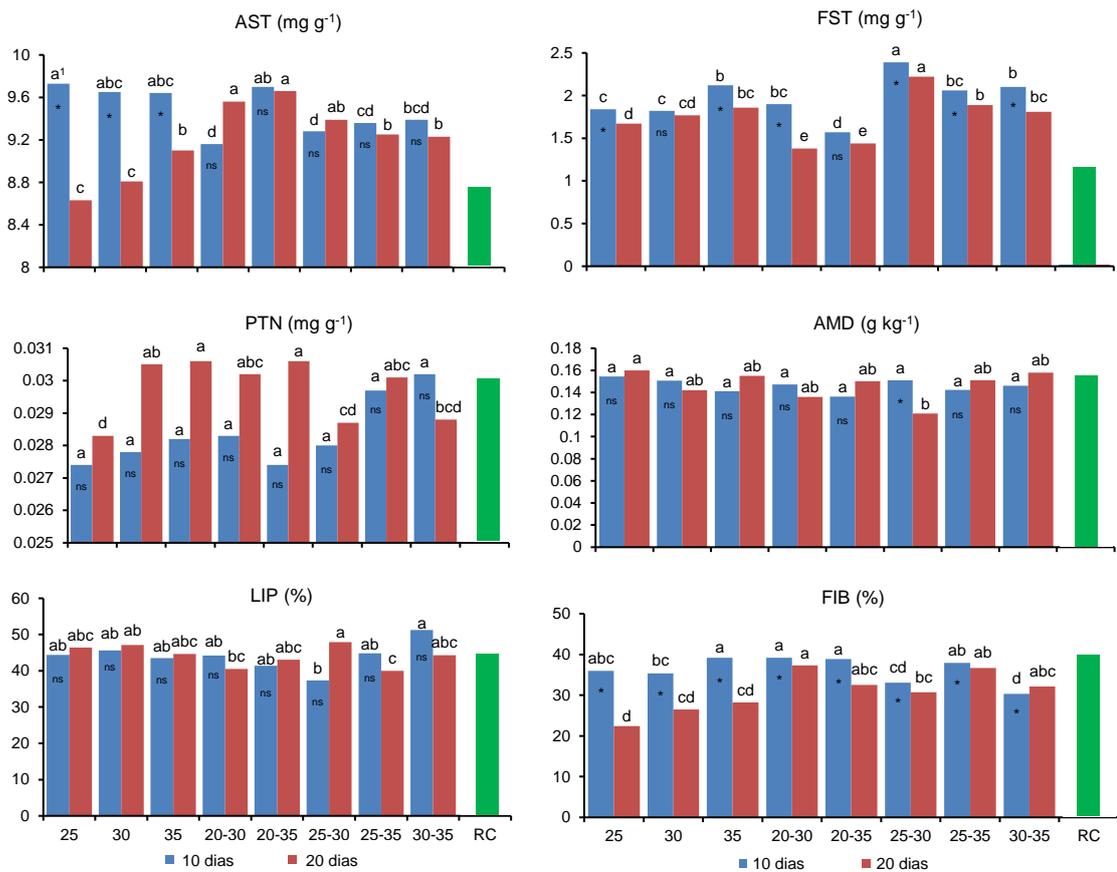


Figura 4. Açúcares solúveis totais (AST, mg g⁻¹), fenóis solúveis totais (FST, mg g⁻¹), proteínas (PTN, mg g⁻¹), amido (AMD, g kg⁻¹), lipídios (LIP, %) e fibras (FIB, %) em sementes de *L. pisonis* aos 10 e 20 dias após montagem do experimento de emergência em cada temperatura (T °C) e na semente recém-colhida (RC, barra verde). *Significativo (p<0.05) e ^{ns}Não significativo pelo teste F na linha dentro de cada temperatura entre os tempos de avaliação de 10 e 20 dias. ¹Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre as diferentes temperaturas, em cada tempo de avaliação, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). Abreviação: RC. Sementes recém-colhidas, não submetidas a nenhum tratamento de temperatura.

As temperaturas não influenciaram no armazenamento de PTN aos 10 dias, ocorrendo decréscimo aos 20 dias para as temperaturas 25; 25-30 e 30-35 °C. Também não influenciaram nas concentrações de AMD, exceto aos 20 dias, diminuindo na temperatura de 25-30 °C. A maior concentração de LIP foi observada após 10 dias nas temperaturas de 30-35 °C que promoveu a maior emergência de plântulas, diferindo somente da temperatura 20-30 °C. A temperatura 30-35 °C também promoveu a menor concentração de FIB aos 10 dias, não diferindo do

tratamento 25-30 °C. Aos 20 dias observa-se que a concentração de FIB foi menor em temperaturas constantes e maiores em temperaturas alternadas, exceto na temperatura 25-30 °C (Figura 4).

Houve diferença entre os tempos analisados para AST, FST, PTN e FIB. O contraste dos dados bioquímicos revela que as sementes submetidas à temperatura de 30-35 °C aos 10 dias possuem diferença significativa quanto aos FST, PTN, LIP e FIB comparado às temperaturas recomendadas de 25, 30 e 20-30 °C (Tabela 2).

Tabela 2. Contraste ortogonal entre as temperaturas e os tempos após montagem do experimento de emergência de *L. pisonis* para açúcares solúveis totais (AST), fenóis solúveis totais (FST), proteínas (PTN), amido (AMD), lipídios (LIP) e fibras (FIB)

Efeito	AST	FST	PTN	AMD	LIP	FIB
C ₁	2,295*	1,760*	-0,0109*	-0,0068 ^{ns}	-1,30 ^{ns}	43,18*
C ₂	5,843*	6,638*	-0,0087*	-0,0731 ^{ns}	-3,20 ^{ns}	-27,02*
C ₃	-3,547*	-4,878*	-0,0022 ^{ns}	0,0663 ^{ns}	1,90 ^{ns}	70,19*
C ₄	0,630*	0,955*	0,0007 ^{ns}	-0,0091 ^{ns}	6,76*	-9,27*
C ₅	0,468*	0,667*	-0,0006 ^{ns}	0,0026 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-7,50*
C ₆	2,263*	2,123*	-0,0049*	-0,0136 ^{ns}	0,75 ^{ns}	-8,32*
C ₇	0,713*	1,387*	0,0006 ^{ns}	-0,0258 ^{ns}	0,53 ^{ns}	-32,53*
C ₈	0,372 ^{ns}	-0,743*	-0,0070*	0,0139 ^{ns}	-19,52*	19,50*
C ₉	-0,690*	-0,615*	0,0026*	-0,0337 ^{ns}	0,93 ^{ns}	-10,04*
C ₁₀	-0,318 ^{ns}	-1,357*	-0,0044*	-0,0198 ^{ns}	-18,59*	9,46 ^{ns}
C ₁₁	0,802 ^{ns}	-1,002*	-0,0145*	0,0002 ^{ns}	-57,28*	47,16*
C ₁₂	-0,192 ^{ns}	-0,463 ^{ns}	0,0074*	-0,0873 ^{ns}	-0,82 ^{ns}	-10,23 ^{ns}

C₁: Todas as temperaturas aos 10 dias vs. todas as temperaturas aos 20 dias; C₂: todas as temperaturas aos 10 dias vs. controle (sementes recém-colhidas); C₃: todas as temperaturas aos 20 dias vs. controle; C₄: 30-35 °C aos 10 dias vs. controle; C₅: 30-35°C aos 20 dias vs. controle; C₆: temperaturas recomendadas (25, 30 e 20-30 °C) aos 10 dias vs. controle; C₇: temperaturas recomendadas aos 20 dias vs. controle; C₈: 30-35 °C aos 10 dias vs. temperaturas recomendadas aos 10 dias; C₉: 30-35 °C aos 20 dias vs. temperaturas recomendadas aos 20 dias; C₁₀: 30-35 °C independente dos dias vs. temperaturas recomendadas independente dos dias; C₁₁: 30-35 °C aos 10 dias vs. todas as temperaturas; C₁₂: 30-35 °C aos 20 dias vs. todas as temperaturas.

Os FST, PTN e LIP na temperatura de 30-35 °C diferem das temperaturas recomendadas independente dos tempos analisados. Todas as temperaturas aos 10 e 20 dias foram diferentes do controle quanto ao AST, FST e FIB (Tabela 2).

Na Figura 5 vê-se as regiões de ocorrência da *L. pisonis*, os mapas com as médias de temperaturas máximas dos estados brasileiros em cada mês, média anual das temperaturas máximas e a classificação climática de Köppen.

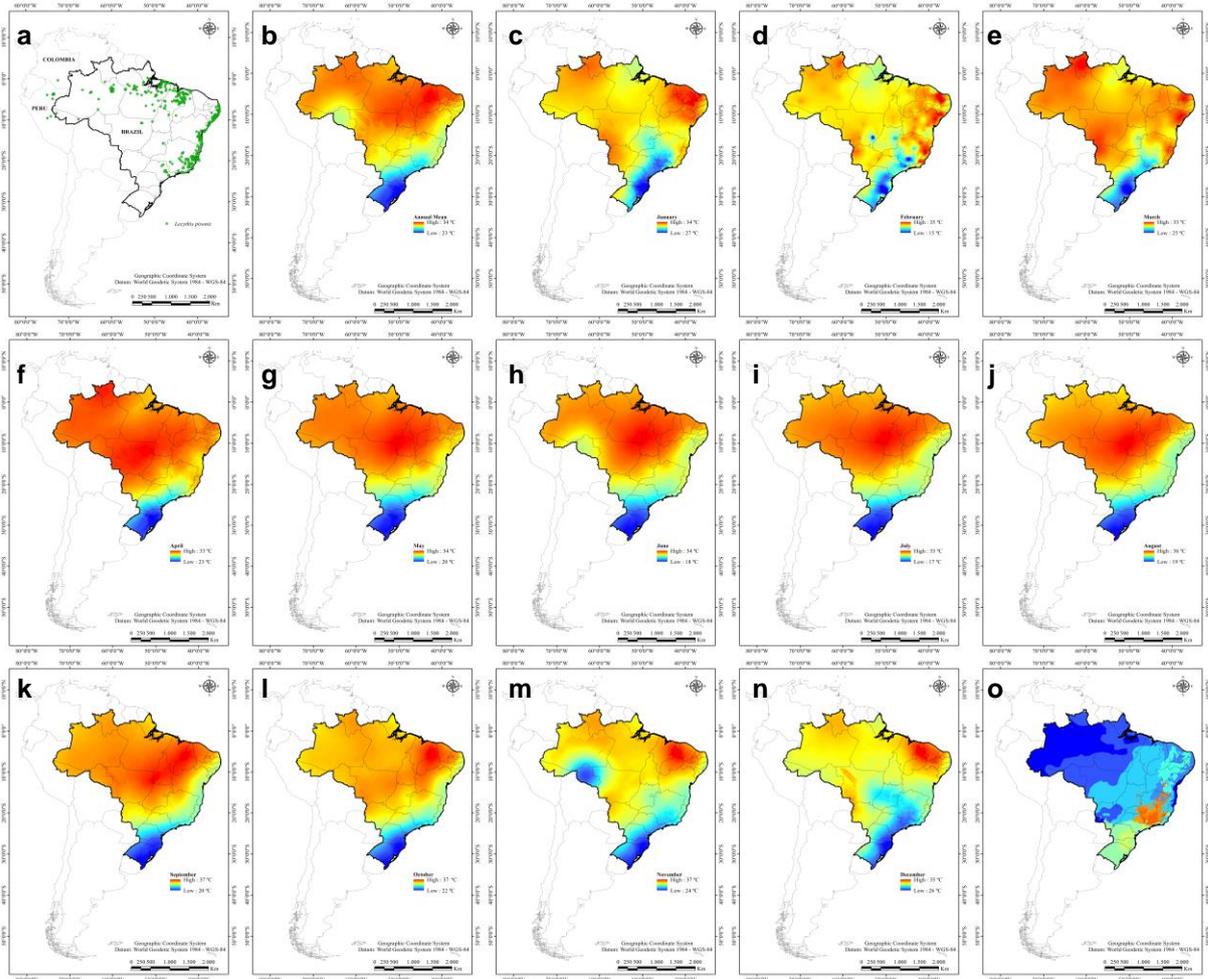


Figura 5. a. Distribuição de *L. pisonis* no Brasil, Colombia e Peru; médias das temperaturas máximas brasileiras: b. anuais; c. em janeiro; d. em fevereiro; e. em março; f. em abril; g. em maio; h. em junho; i. em julho; j. em agosto; k. em setembro; l. em outubro; m. em novembro; n. em dezembro; o. classificação climática de Köppen para o Brasil.

A distribuição da espécie *L. pisonis* é na região litoral do Brasil e na Amazônia internacional (Brasil, Peru e Colômbia). As médias das temperaturas máximas anuais dessas regiões variam de 28,5 a 34 °C. Nos meses de agosto a dezembro, a

temperatura varia de 28 a 37 °C nos locais de ocorrência da *L. pisonis*. As classificações dos climas dos locais de ocorrência é Af, clima quente sem estação seca; Am, clima quente com duas estações bem definidas, uma quente chuvosa e outra amena e seca; Aw, clima quente com chuva de verão; e com menor frequência Cwa, clima temperado com verão quente e úmido.

Na Figura 6 encontra-se os mapas com as médias das temperaturas mínimas brasileiras.

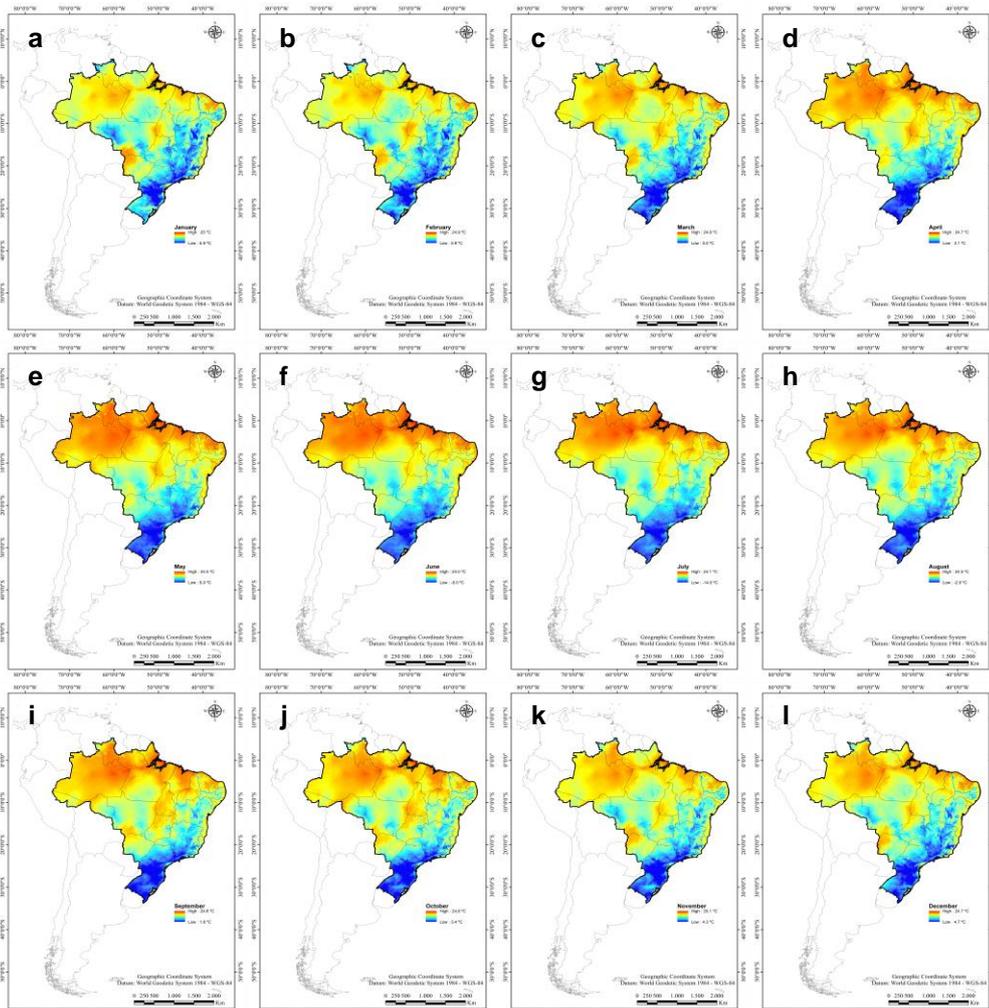


Figura 6. Média da temperatura mínima mensal no Brasil. a. janeiro; b. fevereiro; c. março; d. abril; e. maio; f. junho; g. julho; h. agosto; i. setembro; j. outubro; k. novembro; l. dezembro.

A temperatura mínima das regiões de ocorrência da sapucaia na Floresta Atlântica varia de -2 a 15°C dos meses de agosto a dezembro. Na região Amazônica as

temperaturas deste período são mais altas, superiores a 20 °C, mas não superando 25 °C.

6. DISCUSSÃO

O aquecimento global decorrente das mudanças climáticas faz com que as árvores aumentem a produção de diásporos. Este aumento exige muita energia, no qual as árvores produtoras de sementes e frutos pesados vão precisar de alguns anos para sua recuperação e poder ter novamente esta alta produção (KIJOWSKA-OBERC et al., 2021). Esta produção elevada não está relacionada com a alta qualidade das sementes, uma vez que muitas flores não são polinizadas, logo geram sementes inférteis. Não obstante, a temperatura é um dos fatores cruciais para a germinação das sementes e para o sucesso do desenvolvimento das plântulas. Sabendo a temperatura adequada e época de semeadura adequada, pode haver redução de custos com o aumento do estande final de mudas e com maior qualidade. Por sua importância aliada à inexistência de informações referente a este fator abiótico (temperatura) essencial à qualidade fisiológica das sementes, este trabalho é altamente relevante para a conservação desta promissora espécie por meio da propagação em ambiente controlado.

A temperatura de 30-35 °C alcançou as melhores avaliações das plântulas de *L. pisonis* (Figura 2), sendo identificada, neste trabalho, como temperatura ideal recomendada para a propagação desta espécie. Esta temperatura promoveu 32,7% a mais de emergência das plântulas para a espécie comparado a temperatura de 25 °C, encontrado por Rosa et al. (2020), assim como as temperaturas de 25, 30 e 20-30 °C que são recomendadas nas Instruções para análise de sementes de espécies florestais (BRASIL, 2013). As temperaturas fixas de 30 e 35 °C não foram tão eficientes como a combinação das duas, uma vez que a emergência a 30 °C foi 18,7% menor que a combinação e à 35 °C a redução foi de 24%, indicando que essa temperatura fixa já está iniciando o processo de inibição da germinação por alta temperatura. A temperatura elevada é uma forma de acumular as proteínas PIF nas células pelo relaxamento das estruturas do mRNA do PIF7. Essas proteínas estimulam diretamente a biossíntese de auxinas que está envolvida no crescimento

das plântulas, podendo ser um dos fatores responsáveis pela combinação da temperatura 30-35 °C ter promovido maior crescimento no presente trabalho (PERRELLA et al., 2022).

Os regimes de temperaturas alternadas são considerados eficazes na superação de dormência de sementes de quatro cultivares de *Solanum melongena* cvs. Aydin siyahi, Halep karasi, Kemer-27, Pala-49 reduzindo os níveis de ácido abscísico (ABA) encontrados após 72 horas de incubação no tratamento de alternância 35-20 °C - 16/8h. Como consequência, proporciona altas taxas de germinação e emergência (acima de 80%) com um dos menores tempos médio de germinação (4,6 e 6,7 dias). Além disso, foi observada correlação positiva entre as atividades das enzimas antioxidantes e a germinação, ou seja, com as altas taxas de germinação houve aumento na SOD e CAT (OZDEN et al., 2021). Resultado semelhante foi encontrado, no qual a temperatura de 30-35 °C aos 20 dias tiveram maiores concentrações destas enzimas.

Algumas temperaturas podem ser letais para as plantas, temperaturas elevadas ou muito baixas, apresentando desequilíbrio entre a produção de ERO e sua eliminação, causando estresse oxidativo das células. Isto pode danificar componentes das células vegetais comprometendo seu funcionamento, a exemplo, a redução na atividade bioquímica das plantas, pela perturbação da estrutura das membranas lipídicas, proteínas, carboidratos e DNA, e aumento da defesa anti-oxidativa como atividade das enzimas peroxidase e superóxido dismutase (SILVA et al., 2018; LUKIÉ et al., 2020).

A temperatura de 20 °C, foi considerada letal para a *L. pisonis*, já que impossibilitou a emergência de plântulas. Em todas as combinações com esta temperatura houve redução da emergência se comparada às fixas. Essas reduções foram de 28 (20-25 °C), 23 (20-30 °C) e 13,7% (20-35 °C), ressaltando que a combinação das menores temperaturas (20-25 °C) não produziu plântulas (Figura 2).

O H₂O₂ presentes nos peroxissomas e glioxissomas das sementes recém-colhidas aos 10 dias do processo germinativo foi reduzido em todos os tratamentos e as enzimas antioxidantes APX, CAT e POD aumentaram (Figura 3 e Tabela 1). Este aumento é devido a estas enzimas serem as principais neutralizadoras do H₂O₂ (MITTLER, 2002). Isto evidencia que as sementes de *L. pisonis* ao absorverem água e iniciarem o processo de germinação ativam as enzimas do sistema antioxidante para reduzir a concentração deste subproduto tóxico do metabolismo aeróbico. Além de

ativar as enzimas antioxidantes, H_2O_2 atua como molécula sinalizadora e participa da regulação da divisão e expansão celular (TURKAN, 2018). Já foi comprovado que a capacidade germinativa das sementes é dependente da resistência ao estresse oxidativo (KIBINZA et al., 2011), sugerindo que sob temperatura de 20 °C houve uma diminuição do metabolismo, não havendo a ativação enzimática necessária para reduzir a quantidade de H_2O_2 .

Os lipídios nas sementes de sapucaia variaram de 37,36 (25-30 °C aos 10 dias) a 51,24% (30-35 °C aos 10 dias). O que está de acordo com o relatado na literatura que é de 34,2 a 61,3% em matrizes de São Paulo (VALLILO et al., 1999). A maior concentração lipídica aos 10 dias promoveu maior emergência e vigor das plântulas. Os fenóis totais das sementes de sapucaia variaram de 1,15 mg g⁻¹ nas sementes recém-colhidas a 2,39 mg g⁻¹ em 10 dias a 25-30 °C (Figura 4), o que é 7,27 vezes maior ao encontrado por Demoliner et al. (2018b) (0,091 a 0,324 mg g⁻¹). Os fenóis possuem várias funções nos vegetais, dentre elas compostos de defesa e antioxidantes. Nas castanhas da *L. pisonis* a atividade antioxidante está correlacionada com os fenóis (BOUND et al., 2016; DEMOLINER et al., 2018b; DUDOIT et al., 2020).

O ponto de colheita da espécie *L. pisonis* é de agosto a outubro com recomendação de colocar para germinar as sementes recém-colhidas ou com até três meses de armazenamento. Nestes meses, o litoral brasileiro de São Paulo ao Rio Grande do Norte, possuem temperaturas médias máximas próximas ao encontrado no presente trabalho, assim como na Amazônia internacional (Brasil, Peru e Colômbia) com ocorrência da *L. pisonis* (Figura 5).

As classificações climáticas das regiões de ocorrência natural da *L. pisonis* sugere a adaptação da espécie à temperatura mais alta juntamente com alta umidade. Isto também foi verificado no presente trabalho, uma vez que a câmara de germinação com a temperatura de 30-35 °C obteve a maior umidade (81,5%). Isto mostra que a semeadura da *L. pisonis* pode ser feita, de acordo com as temperaturas máximas, nos meses de agosto a dezembro nos estados brasileiros de São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Maranhão, Tocantins, Amapá, Pará, Amazonas, Roraima, Acre, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás.

Considerando as temperaturas mínimas, os estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul dos meses de agosto a

dezembro não estão aptos para a semeadura de *L. pisonis*, visto que atingem temperaturas mínimas abaixo de 20 °C neste período. A sólida ocorrência da espécie nestes locais cuja temperatura mínima é abaixo da letal encontrada no trabalho, indica a plasticidade da espécie.

7. CONCLUSÕES

A temperatura alternada 30-35 °C maximiza a emergência, vigor e qualidade das mudas de *L. pisonis*, sendo considerada ideal para sua propagação.

O peróxido de hidrogênio reduz no processo germinativo das sementes de *L. pisonis* enquanto a atividade das enzimas APX e CAT aumentam na temperatura de 30-35 °C.

A maior quantidade de lipídios encontrada nas sementes de *L. pisonis* aos 10 dias é a 30-35 °C, no qual promove mudas com maior qualidade.

É recomendada a semeadura da sapucaia de acordo com as temperaturas máximas e mínimas durante os meses de agosto a dezembro na Floresta Atlântica (Espírito Santo, Bahia, Sergipe, Alagoas, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte) e na região amazônica (Maranhão, Tocantins, Amapá, Pará, Amazonas, Roraima e Acre).

8. AGRADECIMENTOS

Aos senhores Ernesto Muzzi, Adinea Saick e Davi Saick. À Reserva Natural Vale. Às agências Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Código de financiamento 309406/2016-1), Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) (EDITAL FAPES/CNPq N° 05/2017 - PRONEm - PROGRAMA DE APOIO A NÚCLEOS EMERGENTES. Contrato registrado no SICONV sob o nº 794009/2013 e Processo FAPES nº 72660945) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (Código de financiamento 001).

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, C. P. **Árvores frutíferas funcionais da Floresta Atlântica: diversidade fenotípica e molecular, composição hormonal, nutricional e antioxidante em *Lecythis pisonis* e *Lecythis lanceolata***. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo. Espírito Santo, 104f., 2020.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiological**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BOUND, D. J.; MURTHY, P. S.; SRINIVAS, P. 2,3-Dideoxyglucosides of selected terpene phenols and alcohols as potent antifungal compounds. **Food Chemistry**, v. 210, p. 371-380, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.127>.
- BRANDÃO, M. S.; PEREIRA, S. S.; LIMA, D. F.; OLIVEIRA, J. P. C.; FERREIRA, E. L. F.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C. Antinociceptive effect of *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) in models of acute pain in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 146, n. 1, p. 180-186, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.028>.
- BRASIL. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília: MAPA. 98p. 2013.
- BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília: MAPA/DAS/ACS. 395p. 2009.
- CHOI, Y.; LIM, C. H.; CHUNG, H. I.; KIM, Y.; CHO, H. J.; HWANG, J.; KRAXNER, F.; BIGING, G. S.; LEE, W. K.; CHON, J.; JEON, S. W. Forest management can mitigate negative impacts of climate and land-use change on plant biodiversity: Insights from the Republic of Korea. **Journal of Environmental Management**, v. 288, p. 112400, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112400>.
- DAWOOD, M. F. A.; AZOOZ, M. M. Insights into the oxidative status and antioxidative responses of germinating broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.) seeds in tungstate contaminated water. **Chemosphere**, v. 261, p. 127585, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127585>.

DEMOLINER, F.; POLICARPI, P. B.; RAMOS, J. C.; BASCUÑAN, V. L. A. F.; FERRARI, R. A.; JACHMANIÁN, I.; CASAS, A. F.; VASCONCELOS, L. F. L.; 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, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.028>.

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, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.050>.

DUDOIT, A.; MERTZ, C.; CHILLET, M.; CARDINAULT, N.; BRAT, P. Antifungal activity of Brazilian red propolis extract and isolation of bioactive fractions by thin-layer chromatography-bioautography. **Food Chemistry**, v. 327, p. 127060, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127060>.

ERGIN, S.; GÜLEN, H.; KESICI, M.; TURHAN, E.; IPEK, A.; KÖKSAL, N. Effects of high temperature stress on enzymatic and nonenzymatic antioxidants and proteins in strawberry plants. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 40, n. 6, p. 908-917, 2016. <https://doi.org/10.3906/tar-1606-144>

FAIZAN, M.; BHAT, J. A.; CHEN, C.; ALYEMENI, M. N.; WIJAYA, L.; AHMAD, P.; YU, F. Zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) induce salt tolerance by improving the antioxidant system and photosynthetic machinery in tomato. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 161, p. 122-130, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.002>.

KIBINZA, S.; BAZIN, J.; BAILLY, C.; FARRANT, J. M.; CORBINEAU, F.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H. Catalase is a key enzyme in seed recovery from ageing during priming. **Plant Science**, v. 181, n. 3, p. 309-315, 2011.

KIJOWSKA-OBERC, J.; STASZAK, A. M.; RATAJCZAK, E. Climate change affects seed aging? Initiation mechanism and consequences of loss of forest tree seed viability. **Trees**, v. 35, p. 1099-1108, 2021. <https://doi.org/10.1007/s00468-020-02072-w>.

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

LUKIĆ, N.; KUKAVICA, B.; DAVIDOVIĆ-PLAVŠIĆ, B.; HASANAGIĆ, D.; WALTER, J. Plant stress memory is linked to high levels of anti-oxidative enzymes over several weeks. **Environmental and Experimental Botany**, v. 178, n. 104166, p. 1-33, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104166>.

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

MITTLER, Ron. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in plant science**, v. 7, n. 9, p. 405-410, 2002.

MONKS, A.; MONKS, J. M.; TANENTZAP, A. J. Resource limitation underlying multiple masting models makes mast seeding sensitive to future climate change. **New Phytologist**, v. 210, p. 419-430, 2016. <https://doi.org/10.1111/nph.13817>.

ÖZACAR, M.; MEHDE, A. A.; MEHDI, W. A.; ÖZACAR, Z. Z.; SEVERGÜN, O. The novel multi cross-linked enzyme aggregates of protease, lipase, and catalase production from the sunflower seeds, characterization and application. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 173, p. 58-68, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.09.042>.

OZDEN, E.; LIGHT, M. E.; DEMIR, I. Alternating temperatures increase germination and emergence in relation to endogenous hormones and enzyme activities in aubergine seeds. **South African Journal of Botany**, v. 139, p. 130-139, 2021.

PERRELLA, G.; BÄURLE, I.; ZANTEN, M. Epigenetic regulation of thermomorphogenesis and heat stress tolerance. **New Phytologist**, Tansley review, p. 1-17, 2022. <https://doi.org/10.1111/nph.17970>.

R Development Core Team. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2017.

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. 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109383>.

SILVA, L. J. D.; DIAS, D. C. F. S.; SEKITA, M. C.; FINGER, F. L. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes of *Jatropha curcas* L. seeds stored at different maturity stages. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, p. e34978, 2018. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v40i1.34978>.

TAVANTI, T. R.; MELO, A. A. R.; MOREIRA, L. D. K.; SANCHEZ, D. E. J.; SILVA, R. S.; SILVA, R. M.; REIS, A. R. Micronutrient fertilization enhances ROS scavenging system for alleviation of abiotic stresses in plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 160, p. 386-396, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.040>.

TURKAN, Ismail. ROS and RNS: key signalling molecules in plants. **Journal of experimental botany**, v. 69, n. 14, p. 3313, 2018. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery198>.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S.; BADOLATO, E. S. G.; INOMATA, E. I. Caracterização química parcial das sementes de *Lecythis pisonis* Camb. (sapucaia). **Acta Amazônica**, v. 28, p. 131-140, 1998.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S.; CAMPOS, N. C.; MOITA NETO, J. M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 197-200, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00040-0).

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, n. 1, p. 59-66, 2000.

ZHANG, Y.; JIANG, D.; YANG, C.; DENG, S.; LV, X.; CHEN, R.; JIANG, Z. The oxidative stress caused by atrazine in root exudation of *Pennisetum americanum* (L.) K. Schum. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211, p. 111943, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111943>.