

UFRRJ
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

DISSERTAÇÃO

**CARACTERÍSTICAS FÍSICAS,
GERMINAÇÃO E CONSERVAÇÃO DE
SEMENTES DE CACTÁCEAS NATIVAS DA
COSTA FLUMINENSE**

Thaís Moreira Hidalgo de Almeida

2008



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**CARACTERÍSTICAS FÍSICAS, GERMINAÇÃO E
CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CACTÁCEAS NATIVAS DA
COSTA FLUMINENSE**

THAÍS MOREIRA HIDALGO DE ALMEIDA

Sob a Orientação do Professor
Higino Marcos Lopes

e Co-orientação do Professor
Antonio Carlos Silva de Andrade

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre em Ciências** no
Curso de Pós-Graduação em
Fitotecnia

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2008

571.862

A447c

T

Almeida, Thaís Moreira Hidalgo de,
1978-

Características físicas, germinação e
conservação de sementes de cactáceas
nativas da costa fluminense / Thaís Moreira
Hidalgo de Almeida. - 2008.

82 f. : il.

Orientador: Higino Marcos Lopes.

Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Instituto de Agronomia.

Inclui bibliografia.

1. Germinação - Metodologia -
Teses. 2. Sementes - Armazenamento -
Teses. 3. Fisiologia vegetal - Teses.
4. Cacto - Sementes - Viabilidade -
Teses. I. Lopes, Higino Marcos, 1961-.
II. Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Instituto de Agronomia.
III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE AGRONOMIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

THAÍS MOREIRA HIDALGO DE ALMEIDA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 28/02/2008

Higino Marcos Lopes. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Eduardo Fontes Araújo. Dr. UFV

João Sebastião de Paula Araújo. Dr. UFRRJ

AGRADECIMENTOS

Os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que de alguma maneira me auxiliaram durante a trajetória do mestrado e colaboraram para a elaboração dessa dissertação, em especial:

A Deus por ter me dado esta oportunidade na vida e me abençoado em toda a jornada;

Ao meu esposo, Marcos, pela paciência, incentivo e apoio em todos os momentos;

Ao Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ) pela minha liberação ao curso de mestrado;

À equipe da Coordenadoria de Coleções Vivas do JBRJ, em particular aos meus chefes, Claudio Nicoletti de Fraga e Ricardo Carneiro da Cunha Reis, pelas palavras de motivação e compreensão nos momentos de ausência;

À minha família pelo incentivo aos meus estudos, demonstrando total confiança nos meus empreendimentos;

Ao Prof. Dr. Higino Marcos Lopes pela confiança em mim depositada na orientação durante o desenvolvimento do trabalho;

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Silva de Andrade pela prontidão e dedicação recebidas na forma de co-orientação, ao longo da realização deste trabalho;

À Alba Regina Pereira pela amizade valiosa, estímulo constante e contribuição mais do que importante nos momentos decisivos;

Às equipes do Laboratório de Controle de Qualidade de Sementes (Instituto de Agronomia, UFRRJ) e Laboratório de Sementes (JBRJ), em particular a Elania Rodrigues da Silva, Ana Paula Martins Cruz, Charles Roger da Silva, Ricardo Matheus e, em especial, a Marina de Jesus Fernandes pelo apoio e amizade sempre presentes;

À equipe do Laboratório de Biologia Molecular (JBRJ) pelo auxílio neste trabalho, em particular a Dra. Luciana Ozorio Franco;

À biblioteca do JBRJ, em particular as amigas Rosana Simões Medeiros e Maria da Penha Fernandes Ferreira;

À Nara Lúcia Vasconcellos querida amiga, sempre portadora de palavras de ânimo;

Ao Marcus Nascimento Santos, companhia amiga nas idas e vindas pela Avenida Brasil;

Ao Bruno Rezende Silva e a Aline Cavalcante de Souza pela companhia e ajuda nas viagens para coleta das sementes;

Ao Prof. Dr. João Sebastião de Paula Araújo por sua dedicação ao ministrar a disciplina de plantas ornamentais;

Ao Prof. Dr. Maurício Ballesteiro por sua paciência em me auxiliar na difícil tarefa de entender a estatística;

À Dra. Ariane Luna Peixoto pela ajuda imprescindível no momento oportuno;

Aos colegas e amigos Marco Antônio Silvestre Gomes, André Luiz S. Resende, Fábio Mathias Corrêa, Mônica Gouvea Malheiros, Luciana Ferrari Espíndola, Luiza São Thiago Martins, Amanda Carvalho, Bruno Linhares e João Henrique Wolff.

RESUMO GERAL

ALMEIDA, Thais Moreira Hidalgo de. **Características físicas, germinação e conservação de sementes de cactáceas nativas da costa fluminense.** Seropédica: UFRRJ, 2008. 82 p. (Dissertação, Mestrado em Fitotecnia) Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

As características físicas, germinação e conservação de sementes de quatro espécies de cactáceas ocorrentes nas áreas litorâneas do estado do Rio de Janeiro, *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley foram avaliadas neste estudo. O primeiro experimento, montado em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial, testou dois substratos (ágar 1% e “sobre papel”) e três temperaturas (20°C, 25°C e 20-30°C) utilizando quatro repetições de 40 sementes. Os parâmetros de avaliação foram porcentagem de germinação (plântulas normais) e tempo médio de germinação (ANAVA e Tukey; $P < 0,05$). De acordo com a análise de germinação, as melhores temperaturas e substratos para a germinação de sementes de *C. fernambucensis* são 20°C e ágar; para *C. fluminensis*, 20°C e 20-30°C, tanto no substrato papel como em ágar, para *P. arrabidaei*, 25°C em ágar e para *P. ulei* em papel a 20, 25 e 20-30°C e ágar a 20 e 25°C. O uso de ágar 1% se mostrou adequado a germinação das sementes destas cactáceas, sendo necessários, no entanto, estudos que levem a redução da incidência de problemas fitossanitários. Em outro experimento foram avaliados os efeitos de armazenamento e teor de água das sementes sobre o percentual e o tempo médio de germinação destas quatro espécies. Para melhor definição dos sais a serem usados na secagem das sementes para este experimento, foram construídas isotermas de adsorção utilizando-se o método gravimétrico, estático, com soluções salinas saturadas. As isotermas de todas as espécies revelaram um padrão sigmoidal inverso com o acréscimo de teor de água das sementes em função do aumento da umidade relativa do ar. No experimento de conservação, também montado em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial, foram testadas três diferentes condições de armazenamento (controle, 30 dias a 10°C e 30 dias a -196°C) sob três diferentes teores de água, próximos a 5, 7 e 9% (base seca), utilizando quatro repetições de 40 sementes (ANAVA e Tukey; $P < 0,05$) e nas seguintes condições: *C. fernambucensis* em ágar a 20°C, *C. fluminensis* e *P. ulei* em papel a 20°C e *P. arrabidaei* em ágar a 25°C. As quatro espécies demonstraram tolerância a desidratação e a temperatura sub-zero. A viabilidade e o vigor das sementes não apresentaram alterações quando armazenados com teores de água próximos a 7%, tanto em câmara fria a 10°C como criopreservado a -196°C. A criopreservação pode ser recomendada para o armazenamento das espécies estudadas.

Palavras chave: Metodologia de germinação, criopreservação, cactáceas.

GENERAL ABSTRACT

ALMEIDA, Thaís Moreira Hidalgo de. **Germination, conservation and physical characteristics of seeds of native cacti species from fluminense coast.** Seropédica: UFRRJ, 2008. 82 p. (Dissertação, Mestrado em Fitotecnia) Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

Germination, conservation and physical characteristics of seeds of four cacti species that occurs on Rio de Janeiro State coastal regions, *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley and *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley were evaluated in this study. The first experiment, mounted in a completely randomized design and factorial system, tested two substrates (agar 1% and paper) and three temperatures (20°C, 25°C and 20-30°C) using four replicates of 40 seeds. The evaluation parameters were germination percentage (normal seedlings) and germination average time (ANOVA and Tukey; $P < 0,05$). According to the germination analysis, the best combination of temperature and substrate is 20°C in agar for *C. fernambucensis*, 20°C and 20-30°C in paper or agar for *C. fluminensis*, 25°C in agar for *P. arrabidaei* and 20, 25 and 20-30°C in paper, as well as, 20 and 25°C in agar for *P. ulei*. The use of agar 1% was suitable for germination of this cacti seeds, being necessary, however, studies that lead to reduction in the incidence of plant health problems. In another experiment the effects of storage and seed water content were evaluated on the germination percentage and germination average time of these four species. To better define the salts to be used in the seed drying process for this experiment, adsorption isotherms were built using static gravimetric method, with saturated salt solutions. The isotherms of all species showed a reverse sigmoidal pattern with increase of seed water content according to the increase in relative humidity. In the conservation experiment, also arranged in completely randomized design and factorial system, three different storage conditions (control, 30 days at 10°C and 30 days at -196°C) under three levels of water content, around 5, 7 and 9% (dry basis) were tested, with four replicates of forty seeds (ANOVA and Tukey; $P < 0,05$) at the following conditions: *C. fernambucensis* in agar at 20°C, *C. fluminensis* and *P. ulei* in paper at 20°C and *P. arrabidaei* in agar at 25°C. All four species showed dehydration and sub-zero temperature tolerance. Seed viability and vigour showed no changes when stored with water content around 7%, at 10°C and cryopreserved at -196°C. Cryopreservation can be recommended for the storage of this cacti species.

Key words: Germination methodology, cryopreservation, cacti.

SUMÁRIO

1. Introdução Geral	1
Capítulo I - Características físicas e germinação de sementes de cactáceas sob diferentes condições de temperatura e substratos	3
2. Resumo	4
3. Abstract	5
4. Introdução	6
5. Revisão de Literatura	7
5.1. Conservação de Cactaceae	7
5.2. Ecologia e localização geográfica	8
5.3. Paisagismo e ornamental	10
5.4. Biologia	10
5.5. Florescimento e frutificação	11
5.6. Morfologia e fisiologia de sementes e plântulas	11
5.7. Germinação	13
5.8. Temperatura.....	13
5.9. Substratos	14
6. Material e Métodos	16
6.1. Obtenção de frutos e sementes	16
6.2. Extração das sementes	17
6.3. Teor de água e morfologia de sementes	17
6.4. Germinação	18
6.5. Delineamento e análise estatística	19
7. Resultados e Discussão	20
7.1. Número, tamanho, morfologia de sementes e teor de água	20
7.2. Germinação	23
7.2.1. <i>Cereus fernambucensis</i>	24
7.2.2. <i>Coleocephalocereus fluminensis</i>	27
7.2.3. <i>Pilosocereus arrabidae</i>	29
7.2.4. <i>Pilosocereus ulei</i>	31
8. Conclusões	35
9. Referências Bibliográficas	36
Anexo I	40
Anexo II	42
Capítulo II - Conservação de sementes de cactáceas nativas da costa fluminense .	43
10. Resumo	44

11. Abstract	45
12. Introdução	46
13. Revisão de Literatura	48
13.1. Água	48
13.2. Higroscopicidade	49
13.3. Tolerância à dessecação	50
13.4. Secagem de sementes	51
13.5. Viabilidade e longevidade	52
13.6. Isotermas de sorção	52
13.7. Conservação, armazenamento e criopreservação	54
14. Material e Métodos	56
14.1. Isotermas de sorção	56
14.2. Armazenamento e criopreservação	57
14.3. Delineamento e análise estatística	58
15. Resultados e Discussão	59
15.1. Isotermas de sorção	59
15.2. Secagem de sementes	62
15.3. Armazenamento e criopreservação	63
15.3.1. <i>Cereus fernambucensis</i>	64
15.3.2. <i>Coleocephalocereus fluminensis</i>	66
15.3.3. <i>Pilosocereus arrabidae</i>	70
15.3.4. <i>Pilosocereus ulei</i>	72
16. Conclusões	76
17. Referências Bibliográficas	77
Anexo III	81

ÍNDICES DE TABELAS

Capítulo I

Tabela 1:	Classes de tamanho para sementes de cactos	12
Tabela 2:	Resumo de análise de variância dos dados realizada para cada uma das características avaliadas	19
Tabela 3:	Média e desvio padrão do número de sementes por fruto das espécies coletadas em abril de 2007	20
Tabela 4:	Comprimento e largura (milímetros) de sementes de <i>C. fernambucensis</i> , <i>C. fluminensis</i> , <i>P. arrabidae</i> e <i>P. ulei</i>	22
Tabela 5:	Peso médio de mil sementes (gramas) e teor de água (%) de sementes de <i>C. fernambucensis</i> , <i>C. fluminensis</i> , <i>P. arrabidae</i> e <i>P. ulei</i>	22
Tabela 6:	Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função de temperatura e do substrato	24
Tabela 7:	Porcentagem média de germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função da temperatura e do substrato	25
Tabela 8:	Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função da temperatura e do substrato	25
Tabela 9:	Porcentagem média de plântulas de <i>C. fernambucensis</i> com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato	26
Tabela 10:	Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>C. fluminensis</i> em função da temperatura e do substrato	27
Tabela 11:	Porcentagem média de germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função de temperatura e substrato	28
Tabela 12:	Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função de temperatura e substrato	28
Tabela 13:	Porcentagem média de plântulas de <i>C. fluminensis</i> com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato	28
Tabela 14:	Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>P. arrabidae</i> em função da temperatura e do substrato	29
Tabela 15:	Porcentagem média de germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função de temperatura e substrato	29
Tabela 16:	Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função de temperatura e substrato	30

Tabela 17: Porcentagem média de plântulas de <i>P. arrabidae</i> com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato	31
Tabela 18: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>P. ulei</i> em função da temperatura e do substrato	31
Tabela 19: Porcentagem média de germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função de temperatura e substrato	32
Tabela 20: Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função de temperatura e substrato	33
Tabela 21: Porcentagem média de plântulas de <i>P. ulei</i> com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato	33
Tabela 22: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função de temperatura e substrato	40
Tabela 23: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>C. fernambucensis</i> em função de temperatura e substrato	40
Tabela 24: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função de temperatura e substrato ...	40
Tabela 25: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>C. fluminensis</i> em função de temperatura e substrato	40
Tabela 26: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função de temperatura e substrato	41
Tabela 27: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>P. arrabidae</i> em função de temperatura e substrato .	41
Tabela 28: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função de temperatura e substrato	41
Tabela 29: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>P. ulei</i> em função de temperatura e substrato	41

Capítulo II

Tabela 30: Substâncias utilizadas para a construção das isotermas de sorção e suas umidades relativas proporcionadas a 15°C	56
Tabela 31: Resumo da análise de variância dos resultados obtidos para cada um das características avaliadas	58
Tabela 32: Valores de teor de água (%) esperados e obtidos na secagem com sais das sementes de <i>C. fernambucensis</i> , <i>C. fluminensis</i> , <i>P. arrabidae</i> e <i>P. ulei</i>	62
Tabela 33: Valores de teor de água (%) utilizados no experimento de conservação de sementes	63
Tabela 34: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie <i>C. fernambucensis</i>	64
Tabela 35: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função do armazenamento e do teor de água	64
Tabela 36: Porcentagem média de germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função de armazenamento e teor de água	64
Tabela 37: Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função de armazenamento e teor de água	66
Tabela 38: Porcentagem média de plântulas de <i>C. fernambucensis</i> com sintomas de doenças em função de armazenamento e teor de água ..	66
Tabela 39: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie <i>C. fluminensis</i>	66
Tabela 40: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>C. fluminensis</i> em função do armazenamento e do teor de água	67
Tabela 41: Porcentagem média de germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função de armazenamento e teor de água	68
Tabela 42: Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função de armazenamento e teor de água	69
Tabela 43: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécies <i>P. arrabidae</i>	70
Tabela 44: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>P. arrabidae</i> em função do armazenamento e do teor de água	70
Tabela 45: Porcentagem média de germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função de armazenamento e teor de água	71
Tabela 46: Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função de armazenamento e teor de água	72

Tabela 47	Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie <i>P. ulei</i>	72
Tabela 48:	Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de <i>P. ulei</i> em função do armazenamento e do teor de água	72
Tabela 49:	Porcentagem média de germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função de armazenamento e teor de água	73
Tabela 50:	Tempo médio em dias para germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função de armazenamento e teor de água	74
Tabela 51:	Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função de armazenamento e teor de água	81
Tabela 52:	Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>C. fernambucensis</i> em função de armazenamento e teor de água	81
Tabela 53:	Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função de armazenamento e teor de água	81
Tabela 54:	Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>C. fluminensis</i> em função de armazenamento e teor de água	81
Tabela 55:	Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função de armazenamento e teor de água	82
Tabela 56:	Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>P. arrabidae</i> em função de armazenamento e teor de água	82
Tabela 57:	Quadro da análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função de armazenamento e teor de água	82
Tabela 58:	Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de <i>P. ulei</i> em função de armazenamento e teor de água	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1: Espécime de <i>Cereus fernambucensis</i>	8
Figura 2: Espécime de <i>Coleocephalocereus fluminensis</i>	9
Figura 3: Espécime de <i>Pilosocereus arrabidae</i>	9
Figura 4: Espécime de <i>Pilosocereus ulei</i>	10
Figura 5: Vista panorâmica da Restinga de Grumari, localizada no Rio de Janeiro - RJ	16
Figura 6: Maciço costeiro localizado entre as praias Grande e Graçainha, Arraial do Cabo - RJ	17
Figura 7: Frutos das espécies <i>C. fernambucensis</i> , <i>C. fluminensis</i> , <i>P. arrabidae</i> e <i>P. ulei</i>	20
Figura 8: Sementes das espécies <i>C. fernambucensis</i> , <i>P. arrabidae</i> , <i>P. ulei</i> e <i>C. fluminensis</i>	21
Figura 9: Fases da germinação de <i>C. fernambucensis</i>	23
Figura 10: Fases da germinação de <i>C. fluminensis</i>	23
Figura 11: Fases da germinação de <i>P. arrabidae</i>	23
Figura 12: Fases da germinação de <i>P. ulei</i>	23
Figura 13: Germinação de sementes de <i>C. fernambucensis</i> em função do tempo (dias)	24
Figura 14: Plântulas de <i>C. fernambucensis</i> com sintomas de doenças	26
Figura 15: Germinação de sementes de <i>C. fluminensis</i> em função do tempo (dias)	27
Figura 16: Germinação de sementes de <i>P. arrabidae</i> em função do tempo (dias)	30
Figura 17: Germinação de sementes de <i>P. ulei</i> em função do tempo (dias)	32

Capítulo II

Figura 18: Isoterma de adsorção de sementes de <i>C. fernambucensis</i> sob temperatura de 15°C	59
Figura 19: Isoterma de adsorção de sementes de <i>C. fluminensis</i> sob temperatura de 15°C	60
Figura 20: Isoterma de adsorção de sementes de <i>P. arrabidae</i> sob temperatura de 15°C	60
Figura 21: Isoterma de adsorção de sementes de <i>P. ulei</i> sob temperatura de 15°C	61
Figura 22: Plântulas de <i>C. fernambucensis</i> formadas depois de criopreservadas por 30 dias, com teor de água de 7%	65

Figura 23: Germinação de <i>C. fernambucensis</i> com teores de água de 5%, 7% e 9%	65
Figura 24: Plântulas de <i>C. fluminensis</i> formadas depois de criopreservadas por 30 dias, com teor de água de 9%	67
Figura 25: Germinação de <i>C. fluminensis</i> com teores de água de 5%, 7% e 9% ..	68
Figura 26: Plântulas de <i>P. arrabidae</i> formadas depois de criopreservadas por 30 dias, com teor de água de 5%	70
Figura 27: Germinação de <i>P. arrabidae</i> com teores de água de 5%, 7% e 9%	71
Figura 28: Plântulas de <i>P. ulei</i> formadas depois de criopreservadas por 30 dias, com teor de água de 5%	73
Figura 29: Germinação de <i>P. ulei</i> com teores de água de 5%, 8% e 11%	74

1. INTRODUÇÃO GERAL

A grande biodiversidade existente no Brasil distribui-se nos diversos biomas que o compõem. Os ecossistemas costeiros são alguns destes biomas responsáveis por abrigar esta riqueza biológica. As áreas, formadas por restingas, mangues, dunas e costões rochosos, são de grande importância por se apresentarem como ligação entre os ecossistemas terrestres e marinhos, e terem funções ecológicas como a prevenção de intrusão salina e de erosão costeira, sendo fonte de abrigo e suporte à reprodução e à alimentação de um grande número de espécies que habitam os oceanos. A biodiversidade exerce papel fundamental nestes mecanismos reguladores. Estas formações vegetais têm sofrido impactos antrópicos em todas as regiões do país. Na região Sudeste em particular, a industrialização, urbanização excessiva, especulação imobiliária, turismo descontrolado, extrativismo mineral e políticas públicas equivocadas são alguns dos responsáveis pelos maiores danos (BRASIL, 2002).

As características edafoclimáticas oferecidas nas restingas funcionam como fatores limitantes a muitas espécies vegetais. Solos arenosos, salinidade, baixa disponibilidade de água e altas temperaturas são alguns dos desafios a serem vencidos pelas plantas e algumas famílias vegetais apresentam-se em melhores condições de colonizar ambientes tão adversos (BRASIL, 2002). A família Cactaceae é uma delas. Esta família botânica tem sua distribuição quase que exclusiva no continente americano, sendo conhecida apenas uma espécie, *Rhipsalis baccifera*, que tem distribuição no neotrópico e paleotrópico. O Brasil possui 37 gêneros nativos, dos quais 28 ocorrem no leste brasileiro abrigando 130 espécies; destas, 12 gêneros e 88 espécies são endêmicos desta região (TAYLOR & ZAPPI, 2004). Contudo, há carência de informações sobre as espécies sul-americanas. Godínez-Álvarez *et al* (2003) afirmam que a maior parte da literatura faz referência aos cactos da América Central e do Norte.

Dentre os 113 gêneros com 1.306 espécies conhecidas no mundo (HUNT, 1999), 13 gêneros com 45 espécies ocorrem no estado do Rio de Janeiro (CALVENTE *et al*, 2005). Destas, 23 são do gênero *Rhipsalis* (52% do total do estado), cinco são do gênero *Schlumbergera* (12%), três dos gêneros *Lepismium* e *Pilosocereus* (7% cada), duas são dos gêneros *Hatiora* e *Pereskia* (4% cada) e uma espécie listada para cada um dos gêneros: *Brasiliopuntia*, *Cereus*, *Coleocephalocereus*, *Epiphyllum*, *Melocactus*, *Hylocereus* e *Opuntia*, perfazendo 1% para cada gênero.

A propagação de cactos pode ser feita sexuada ou assexuadamente. A propagação sexuada tem por vantagem a manutenção da variabilidade genética das espécies (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000).

A germinação das sementes é influenciada por fatores intrínsecos a elas, como viabilidade e dormência, e também por fatores ambientais. Entre estes, água, temperatura e oxigênio exercem influência direta sobre o processo (MARCOS FILHO, 2005). A faixa de temperatura em que o processo germinativo ocorre é, em geral, ampla e varia entre as espécies. Dentro desta faixa, existem temperaturas consideradas ótimas para a germinação, nas quais um maior número de sementes germina em menor tempo. (CARDOSO, 2004).

Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000) afirmam que, para as sementes de cactáceas, as temperaturas mais favoráveis à germinação estão entre 17°C e 34°C, sendo a temperatura ótima em torno de 25°C.

Características do solo também influenciam a germinação por afetarem diretamente a disponibilidade de água. Algumas espécies de cactáceas necessitam de condições edáficas específicas e somente são encontradas em tipos particulares de solos, como foi observado para *Neobuxbaumia tetetzo* e *Stenocereus gummosus* entre outras (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

A conservação *in situ*, por meio do manejo das áreas naturais de ocorrência destas espécies, deve estar aliada à conservação *ex situ*. Dentre as possíveis formas de conservação *ex situ*, os bancos de sementes se apresentam como um dos mais eficientes, tendo ótima relação custo-benefício (BRASIL, 2001).

Condições adequadas de temperatura e umidade durante o armazenamento das sementes podem aumentar sua longevidade. Estes bancos, armazenando em geral sementes com 5% de teor de água a -20°C, têm mostrado eficácia na manutenção da viabilidade por décadas (SANTOS, 2001).

Novas técnicas, contudo, têm surgido com potencial de aumentar a longevidade das sementes. Entre elas, a criopreservação, que estabelece o armazenamento de materiais biológicos em nitrogênio líquido, a -196°C, ou em sua fase de vapor, a -150°C, com propósito de conservação genética (PRITCHARD, 1995).

Os estudos mostram que a habilidade de sobreviver a estas temperaturas varia entre as espécies. Assim sendo, a criopreservação deve ser precedida de estudos que mostrem a eficácia deste método sobre a longevidade das sementes (TOUCHELL & DIXON, 1993).

A família Cactaceae encontra-se incluída no apêndice II do livro de espécies ameaçadas do CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora), em virtude de várias espécies que a compõem estarem ameaçadas de extinção (HUNT, 1999). As quatro espécies escolhidas neste estudo são litorâneas e ocorrem naturalmente em áreas de grande pressão antrópica. Três delas apresentam apelo para sua conservação: *Coleocephalocereus fluminensis* tem sido considerado vulnerável no município do Rio de Janeiro (PREFEITURA DO RIO DE JANEIRO, 2007), *Pilosocereus arrabidaei* encontra-se proximamente ameaçado de extinção (IUCN, 2007) e *Pilosocereus ulei* é endêmico da região de Cabo Frio e tem sofrido pela redução dos ambientes onde ocorre (ZAPPI, 1994).

Este trabalho teve como objetivos avaliar as características físicas e morfológicas das sementes das espécies *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley, e os efeitos de substrato, temperatura e armazenamento sobre a germinação e o vigor destas sementes.

CAPÍTULO I

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE CACTÁCEAS SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E SUBSTRATO

2. RESUMO

A germinação de sementes de quatro espécies de cactáceas ocorrentes nas áreas litorâneas do estado do Rio de Janeiro, *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley, foi avaliada neste estudo. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado e esquema fatorial, com dois substratos (ágar 1% e “sobre papel”) e três temperaturas (20°C, 25°C e 20-30°C), utilizando quatro repetições de 40 sementes, a avaliação foi feita por meio da porcentagem de germinação (plântulas normais) e o tempo médio de germinação (ANAVA e Tukey; $P < 0,05$). De acordo com a análise de germinação, as melhores temperaturas e substratos para a germinação de sementes de *C. fernambucensis* são 20°C e ágar; para *C. fluminensis*, 20°C e 20-30°C, tanto no substrato papel como em ágar; para *P. arrabidae*, 25°C em ágar e para *P. ulei* em papel a 20, 25 e 20-30°C e ágar a 20 e 25°C. O uso de ágar 1% se mostrou adequado à germinação das sementes destas cactáceas, sendo necessários, no entanto, estudos que levem à redução da incidência de problemas fitossanitários.

Palavras chave: Temperatura, substrato, cactáceas.

3. ABSTRACT

Seed germination of four cacti species that occurs on Rio de Janeiro State coastal regions, *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley and *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley was evaluated in this study. The experiment was mounted in completely randomized design and in a factorial system, with two substrates (agar 1% and paper) and three temperatures (20°C, 25°C and 20-30°C), using four replicates of 40 seeds, assessment was made by germination percentage (normal seedlings) and germination average time (ANOVA and Tukey; $P < 0,05$). According to the germination analysis, the best combination of temperature and substrate is 20°C in agar for *C. fernambucensis*, 20°C and 20-30°C in paper or agar for *C. fluminensis*, 25°C in agar for *P. arrabidaei* and 20, 25 and 20-30°C in paper, as well as, 20 and 25°C in agar for *P. ulei*. The use of agar 1% was suitable for germination of this cacti seeds, being necessary, however, studies that lead to reduction in the incidence of plant health problems.

Key words: Temperature, substrate, cacti.

4. INTRODUÇÃO

As restingas, presentes ao longo de todo o litoral, apresentam características edafoclimáticas que funcionam como fatores limitantes a muitas espécies vegetais. Solos arenosos, salinidade, baixa disponibilidade de água e altas temperaturas são alguns dos desafios a serem vencidos pelas plantas (BRASIL, 2002).

As espécies que compõem a família Cactaceae têm, em sua maioria, ocorrência em ambientes áridos ou semi-áridos das Américas, apresentando diversas adaptações às condições de estresse ambiental. Apesar desta habilidade, a observação de que um maior número de plantas jovens de cactos é recrutado sob a proteção de plantas perenes indica que a germinação e a fase juvenil destas espécies são mais sensíveis às condições de estresse (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

A germinação de espécies de ambientes áridos tende a ocorrer mais rapidamente que de espécies que ocorrem em ambientes com alta disponibilidade de água (Jurado & Westoby, 1992 *apud* Flores & Briones, 2001). O rápido estabelecimento no ambiente é uma estratégia que permite o aproveitamento de condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento vegetal (FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

A temperatura é um dos fatores ambientais que influencia a germinação. A faixa de temperatura em que o processo germinativo ocorre é, em geral, ampla e depende não apenas das características da espécie, mas também das condições ambientais durante a produção e armazenamento das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Godínez-Álvarez *et al.* (2003) afirmam que diferenças nas características do solo também influenciam a germinação por afetarem a disponibilidade de água. Algumas espécies de cactáceas necessitam de condições edáficas específicas e somente são encontradas em tipos particulares de solos, como foi observado para *Neobuxbaumia tetetzo* e *Stenocereus gummosus* entre outras.

Segundo Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000), a propagação de cactáceas também pode ser feita assexuadamente; contudo, com vistas à conservação da biodiversidade, a propagação sexuada tem por vantagem a manutenção da variabilidade genética, permitindo sua conservação *ex situ* em instituições com esta finalidade e sua reintrodução na natureza, devolvendo aos ambientes naturais parte de sua diversidade perdida.

Assim, os estudos de germinação de sementes são importantes para a conservação de espécies ameaçadas de extinção, pois permitem o conhecimento das condições mais adequadas para a avaliação da germinação de sementes conservadas em bancos de sementes, além de fornecerem informações para a otimização da produção de plantas de diferentes espécies, caso haja a necessidade de recuperação de área degradada com reintrodução da espécie na natureza (ZAMITH & SCARANO, 2004).

Nas Regras para Análise de Sementes são encontradas instruções para o teste de germinação de duas espécies da família Cactaceae, contudo nenhuma das quatro espécies estudadas está contemplada (BRASIL, 1992).

Este trabalho teve como objetivo avaliar as características físicas e morfológicas, a germinação e o vigor de sementes das espécies *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley sob diferentes condições de temperatura e substratos.

5. REVISÃO DE LITERATURA

5.1. Conservação de Cactaceae

A conservação da biodiversidade depende da adequada compreensão dos ecossistemas, das espécies animais e vegetais que os compõem e das relações existentes entre os elementos naturais (RAVEN *et al.*, 2001).

Alguns ecossistemas apresentam-se mais impactados que outros. O estado do Rio de Janeiro, por exemplo, possui sua cobertura vegetal representada pela floresta pluvial atlântica e seus ecossistemas associados como a restinga e o mangue, reduzida a 17% da área original. A grande biodiversidade e ocorrência endêmica de muitas espécies na Mata Atlântica fazem do Rio de Janeiro um dos maiores centros de endemismo do Brasil, estado que se destaca como uma importante região a ser preservada (CALVENTE *et al.*, 2005).

O grau de singularidade biológica que as cactáceas representam em termos de endemismo de gêneros e espécies, justifica a importância da conservação das mesmas (TAYLOR & ZAPPI, 2004). Os cactos apresentam diversas adaptações morfológicas e fisiológicas para a sobrevivência sob condições de estresse ambiental, como por exemplo, a baixa disponibilidade de água. Estas adaptações estão relacionadas às vias fotossintéticas, suas habilidades de armazenamento de água e outras que permitem a otimização no uso da água (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

Pelo fato de grande número de espécies da família Cactaceae encontrar-se ameaçada de extinção, esta família foi incluída no apêndice II do livro de espécies ameaçadas do CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (HUNT, 1999). Algumas das razões para isto foram reunidas por Godínez-Álvarez *et al.* (2003) em sua revisão como sendo: 1) a restrição de distribuição e especificidade dos habitats ocupados pelos cactos, tornando-os propícios à extinção pela destruição das áreas onde ocorrem; 2) a particular sensibilidade a distúrbios ambientais em função das lentas taxas de crescimento e alta vulnerabilidade nos estádios iniciais das plântulas; 3) as coletas e comércios ilegais que aumentam a pressão sobre as populações de cactos e; 4) a freqüente associação dos habitats de ocorrência de espécies da família com áreas pobres em países em desenvolvimento, onde o crescimento desordenado das áreas urbanas e rurais tem levado à destruição de áreas naturais.

Nesse contexto, os estudos de germinação de sementes são importantes para a conservação de espécies ameaçadas de extinção, pois permitem o conhecimento das condições mais adequadas para a avaliação da germinação de sementes conservadas em bancos de sementes e criopreservação, além de fornecerem informações para a otimização da produção de plantas de diferentes espécies, caso haja necessidade de recuperação de área degradada com reintrodução da espécie na natureza. Informações como o tempo de germinação da espécie e a presença ou não de dormência em sementes são importantes dentro de um programa de produção de mudas, permitindo assim planejar a utilização dos espaços e a otimização do tempo (ZAMITH & SCARANO, 2004; ZAIDAN & BARBEDO, 2004).

5.2. Ecologia e localização geográfica

A família Cactaceae, constituída por 113 gêneros com aproximadamente 1.306 espécies, é dividida em três subfamílias: Pereskioideae (espécies com folhas persistentes), Opuntioideae (espécies com folhas redondas, quase sempre caducas) e Cactoideae (espécies sem folhas) (HUNT, 1999). As espécies desta família, comumente chamadas de cactos, habitam o continente americano tropical e subtropical, desde o norte do Canadá até a Patagônia na Argentina (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000).

Rizzini (1987) classifica as espécies de Cactaceae que ocorrem no Brasil em cinco grupos, em função do ambiente em que ocorrem: 1) silvícolas – que habitam florestas pluviais: amazônica e atlântica, com predominância de espécies epífitas; 2) savanícolas – no cerrado; 3) campestres – em campos rupestres de Minas Gerais; 4) litorâneas – no litoral brasileiro e; 5) xerófilas – bioma caatinga, abrangendo maior número de espécies.

As quatro espécies selecionadas para este estudo são litorâneas e fazem parte da subfamília Cactoideae, tribo Cereeae (TAYLOR & ZAPPI, 2004). São elas:

Cereus fernambucensis Lem. (Figura1), popularmente conhecido como cardo-ananá, ocupa áreas de restinga, tanto dunas arenosas como costões rochosos, do nível do mar até 100m de altitude, ao longo da costa brasileira do Rio Grande do Norte até São Paulo. Esta espécie é endêmica da região leste do Brasil (nordeste e sudeste) e, por apresentar extensa área de distribuição, não se encontra ameaçada de extinção (TAYLOR & ZAPPI, 2004).



Figura 1: Espécime de *Cereus fernambucensis*.

Coleocephalocereus fluminensis (Miq.) Backeb. (Figura 2), ocorre em áreas de afloramentos rochosos, conhecidos como inselbergs, ou lajedos na Mata Atlântica e áreas de restinga. É encontrado em regiões localizadas entre o nível do mar até 900m de altitude, desde a fronteira entre Bahia e Minas Gerais até o sudeste de Minas, Espírito Santo, Rio de Janeiro e em ilhas do estado de São Paulo. Embora seu status de conservação global não desperte grande preocupação por ocorrer geralmente em áreas inacessíveis (TAYLOR & ZAPPI, 2004), no município do Rio de Janeiro é considerado

vulnerável pela redução dos habitats onde ocorre por pressão antrópica (PREFEITURA DO RIO DE JANEIRO, 2007).



Figura 2: Espécime de *Coleocephalocereus fluminensis*.

Pilosocereus arrabidae (Lem.) Byles & G.D. Rowley (Figura 3), popularmente chamado de facheiro-da-praia, também ocorre em áreas de restinga, de forma densa ou espaçada próximo ao nível do mar, tendo distribuição do sul da Bahia e Espírito Santo até o Rio de Janeiro. Embora sua distribuição ocorra em ampla área, encontra-se proximamente ameaçado de extinção, em virtude do acelerado processo de modificação dos ambientes costeiros (TAYLOR & ZAPPI, 2004; IUCN, 2007).

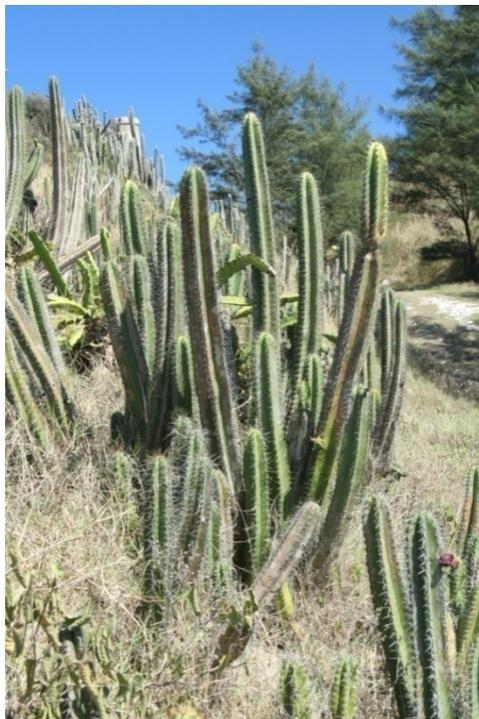


Figura 3: Espécime de *Pilosocereus arrabidae*.

Pilosocereus ulei (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley (Figura 4), conhecido popularmente como cabeça-de-velho, tem distribuição restrita à região de Cabo Frio,

município do Rio de Janeiro, ocorrendo em costões rochosos e áreas próximas ao nível do mar até 100m de altitude (ZAPPI, 1994). Por ser endêmico em uma área que sofre grande pressão antrópica, seus ambientes de ocorrência têm sido reduzidos.



Figura 4: Espécime de *Pilosocereus ulei*.

5.3. Paisagismo e ornamental

Salles (1982) já ressaltava a importância das cactáceas como plantas ornamentais, sendo desde antes daquela época cultivada em estufas e objeto de grande interesse na horticultura especializada, ao lado de outras suculentas.

Ainda hoje se observa esta realidade, onde os cactos têm destaque na decoração de casas e escritórios por sua beleza e facilidade de manutenção. Algumas espécies têm, por recomendação, uma única rega ao mês (JORNAL VALE PARAIBANO, 2001).

Um dos exemplos deste comércio pode ser visto no Vale do Paraíba, estado de São Paulo, onde existe a chamada Cactolândia, um horto comercial que produz mensalmente 20 mil plantas e abastece os mercados de São Paulo e de alguns estados do sul do país. A produção embora já tenha sido outrora direcionada para a Europa, hoje é totalmente absorvida pelo mercado interno, com tendência de crescimento da demanda (JORNAL VALE PARAIBANO, 2001).

5.4. Biologia

Os cactos apresentam o caule modificado em cladódios aplanados ou cilíndricos, dotados de botões meristemáticos, chamados aréolas, de onde emergem os tricomas, cerdas, flores, frutos e novos ramos (FREITAS, 1990/1992).

Entre os cactos podem ser consideradas as seguintes formas de vida: cactos colunares (longos cladódios com costelas, medindo mais de 2,0 metros de altura);

cactos em forma de barril (cladódios com costelas e altura máxima entre 0,5-2,0 metros); cactos globosos (cladódios semi-esféricos simples ou múltiplos); cilindropuntias (opuntias com cladódios cilíndricos) e platiopuntias (opuntias com cladódios achatados) (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

A propagação assexuada também é observada em muitos cactos. Godínez-Álvarez *et al.* (2003) afirmam que esta habilidade é comum em espécies do gênero *Opuntia*, embora plantas de outros gêneros como: *Lophocereus*, *Myrtillocactus*, *Pachycereus* e *Stenocereus*, também possam se propagar vegetativamente por meio da produção de ramos.

5.5. Florescimento e frutificação

Godínez-Álvarez *et al.* (2003) salientam que a idade reprodutiva das espécies de cactos é muito variável, podendo ser de poucos anos em *Mammillaria magnanimamma* ou mesmo superior a 90 anos como observado em *Neobuxbaumia macrocephala*. A fenologia reprodutiva também varia entre as espécies e as diferentes formas de vida. Enquanto espécies de diferentes gêneros de cactos globosos, como *Mammillaria*, *Sclerocactus* e *Turbinicarpus*, começam a reproduzir no início do inverno, diferentes gêneros de cactos colunares podem se reproduzir no outono/inverno (*Cereus*, *Myrtillocactus*, *Pachycereus*, *Pilosocereus*, *Selenicereus*, *Stenocereus*) e espécies do gênero *Opuntia* produzem flores e frutos na primavera/verão (*O. brunneogemma*, *O. compressa* e outras) ou no inverno (*O. spinosissima*). Zamith & Scarano (2004), observaram a frutificação de *Pilosocereus arrabidae*, em restingas do município do Rio de Janeiro, ocorrendo entre os meses de março a novembro.

Fatores ambientais, como o início do período chuvoso e a quantidade de precipitação anual, podem estar relacionados a variações interanuais no período e na intensidade dos eventos reprodutivos dos cactos, como as observadas nas espécies *Carnegia gigantea*, *Lophocereus schottii*, *Mammillaria crucigera*, *Neobuxbaumia macrocephala*, *Pachycereus pringlei* e *Stenocereus queretaroensis*. (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

O número de frutos produzidos por planta e de sementes produzidas por fruto varia de acordo com a espécie e a forma-de-vida. Frutos de cactos colunares podem produzir mais de 1000 sementes, enquanto que em cactos globosos este número é inferior a 100. Em cactos-barril, cilindropuntias e platiopuntias, a quantidade de sementes por fruto varia entre 10 e 200 (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003). Em cactáceas dos gêneros *Epitelantha* e *Pereskia* podem ser encontrados frutos com apenas uma a cinco sementes. Além disso, a variação no número de sementes por fruto ocorre também entre os frutos da mesma espécie (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000).

5.6. Morfologia e fisiologia de sementes e plântulas

Benzing (1980) afirma que as sementes, juntamente com os grãos de pólen, constituem os únicos estádios móveis do ciclo de vida de uma planta. Esta característica permite a colonização de novas áreas. Além desta, outras características são imprescindíveis para que esta função seja cumprida, entre elas a maior resistência à

dessecação e a extremos de temperaturas e a não dependência de luz, umidade e nutrientes para sua sobrevivência entre os momentos de dispersão e germinação.

As sementes de uma espécie tendem a apresentar uma grande uniformidade em relação ao peso, forma, morfologia, tipo e quantidade de reserva nutricional, dispersabilidade e comportamento germinativo. Somente o número de sementes produzidas por planta pode ser fortemente afetado pelo ambiente (BENZING, 1980).

Entre as espécies, no entanto, as sementes podem apresentar diferenças consideráveis. Em Cactaceae isto acontece, tanto em termos de forma e tamanho, como também de estrutura, características do embrião e cor da testa. De maneira geral, sementes maduras de cactos apresentam as seguintes estruturas: testa, embrião, endosperma, perisperma (na maioria dos grupos primitivos), cobertura de arilo (que caracteriza a subfamília Opuntioideae), funículo e hilo (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000).

O comprimento das sementes pode ser definido de várias formas. Em sementes simétricas é comum medir-se o eixo perpendicular ao hilo e em sementes assimétricas mede-se a maior dimensão da semente como sendo o comprimento (BARTHLOTT & HUNT, 2000).

Em sua obra, Barthlott & Hunt (2000) trazem a proposta de classificação das sementes de cactos em seis diferentes classes de tamanho, como detalhado na tabela 1.

Tabela 1: Classes de tamanho para sementes de cactos (Barthlott & Hunt, 2000).

Extremamente grande	4.0-4.8 mm
Muito grande	3.0-3.9 mm
Grande	2.0-2.9 mm
Médio	1.2-1.9 mm
Pequeno	0.9-1.1 mm
Muito pequeno	0.3-0.8 mm

Salles (1982), estudando a morfologia de sementes e plântulas de cinco espécies de cactáceas ocorrentes na Restinga de Jacarepaguá, entre elas, *Cereus fernambucensis*, *Coleocephalocereus fluminensis* e *Pilosocereus arrabidae*, mediu o tamanho das sementes destas espécies chegando aos seguintes números: 2,58 e 1,86mm; 1,05 e 0,88mm; 1,65 e 1,14mm, como comprimento e largura respectivamente. Baseado nestas informações, pode-se afirmar que *C. fernambucensis* possui sementes grandes, *C. fluminensis* sementes pequenas e *P. arrabidae* sementes de tamanho médio.

O peso das sementes também é muito variável. Barthlott & Hunt (2000) citam dois exemplos extremos em que sementes de *Bloosfeldia liliputana* pesam cerca de 0,037mg e as sementes de *Pachycereus marginatus* chegam a pesar 7,67mg. Para as três espécies estudadas por Salles (1982), foram encontrados valores intermediários a estes, sendo 1,8mg a média de peso das sementes de *C. fernambucensis*, 0,5mg a média para *C. fluminensis* e 0,3mg para *P. arrabidae*; estes dados, no entanto não se encontram associados aos teores de água das sementes no momento da pesagem, o que dificulta comparações com valores a serem encontrados.

A cor das sementes também varia dentro da família. Ela depende da espessura, pigmentação e ornamentação do tegumento e pode ser na maioria dos casos, preta, marrom, amarelada ou acinzentada. Muitas sementes, contudo, tendem a escurecer com a idade ou o processo de secagem (BARTHLOTT & HUNT, 2000).

A germinação de sementes e sobrevivência de plântulas de cactos, sob condições naturais, são auxiliadas pela presença de plantas perenes. Sob as condições ambientais que prevalecem nos ambientes áridos, estas espécies facilitadoras, também conhecidas por plantas focais, fornecem condições físicas e bióticas benéficas ao estabelecimento e crescimento de indivíduos jovens. As plantas focais, além de reduzir a diferença entre as temperaturas máxima e mínima do solo e a evapotranspiração, provêm proteção contra predadores e atração de dispersores de sementes, aumentando também a disponibilidade de nutrientes do solo sob suas copas. Contudo, há relatos de plântulas de cactos que se estabeleceram na ausência de plantas focais, principalmente cactos globosos, como *Ariocarpus fissuratus*, *Epithelantha bokei* e *Mammillaria magnimamma* (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

Rochas no solo e outras irregularidades também podem beneficiar a germinação de sementes e sobrevivência das plântulas, ao reduzir a radiação solar e a temperatura, preservando a umidade no solo (GODÍNEZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2003).

5.7. Germinação

O processo de germinação de sementes tem início com a embebição, quando há a retomada das atividades metabólicas e crescimento do embrião. Biologicamente, a germinação poderia ser considerada como o rompimento do tegumento pela raiz primária. Entretanto, em termos de tecnologia de sementes, a germinação representa a formação de plântulas nas quais se possam avaliar as estruturas normais de suas partes constituintes e, conseqüentemente, seu potencial de sobrevivência (BORGES & RENA, 1993; MARCOS FILHO, 2005).

Diversos fatores influenciam a viabilidade e o vigor das sementes. Dentre estes, os principais são água, temperatura e luz. Contudo, outros fatores, como a imaturidade do embrião, salinidade, idade da semente, hormônios de plantas e compostos inibitórios da testa, podem também afetar este processo (ROJAS-ARÉCHIGA & VÁZQUEZ-YANES, 2000; CARDOSO, 2004). A disponibilidade de água parece ser o fator mais importante para a germinação de sementes de cactos, uma vez que este é o mais limitante sob as condições que predominam nas áreas onde geralmente ocorrem.

5.8. Temperatura

As plantas apresentam uma temperatura ou faixa térmica considerada ótima para a germinação. Nesta, maior número de sementes germinam em menor tempo. Muitas vezes, a temperatura que promove a maior germinabilidade, não é a mesma na qual as sementes exibem a maior velocidade de germinação (CARDOSO, 2004).

Para as sementes de cactáceas, as temperaturas mais favoráveis à germinação estão entre 17°C e 34°C, sendo a temperatura ótima em torno de 25°C. Para Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000), de forma geral, as sementes desta família germinam melhor sob temperaturas alternadas do que sob temperaturas constantes

Entretanto, como a maioria dos estudos utiliza somente temperaturas constantes, há necessidade de estudos que aprofundem este conhecimento.

O regime de temperaturas alternadas (20-30°C) é recomendado pelas Regras para Análise de Sementes para a germinação das cactáceas *Cactus spp.* e *Carnegie gigantea* (BRASIL, 1992).

Ortega-Baes & Rojas-Aréchiga (2007), avaliando a germinação do cacto colunar *Trichocereus terscheckii* (Pfeiff.) Britton & Rose sob sete temperaturas constantes, que variaram entre 10°C e 40°C, relataram que a germinação foi maior e equivalente entre si nas temperaturas de 15, 20 e 25°C.

Já Godínez-Álvarez & Valiente-Banuet (1998), testando a germinação de sementes de oito diferentes espécies de cactos (*Coryphanta pallida* Britton & Rose, *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, *Ferocactus flavovirens* (Scheidw.) Britton & Rose, *Ferocactus latispinus* (Haw.) Britton & Rose, *Myrtillocactus geometrizans* (Mart.) Console, *Neobuxbaumia tetetzo* (J.M. Coult.) Backeb., *Pachycereus hollianus* (Weber) Buxb. e *Opuntia puberula* Pfeiff.) sob temperatura constante de 17°C e alternada de 20-25°C (12h/12h), observaram que cinco apresentaram percentuais equivalentes de germinação sob as duas condições e em somente três foram observados decréscimos significativos de germinação sob temperatura constante, quando comparado à temperatura alternada. Entretanto, Flores & Briones (2001), estudando *P. hollianus* e *N. tetetzo*, observaram que a temperatura ótima foi de 26°C.

Outra espécie de cacto colunar ocorrente no México, *Stenocereus queretaroensis*, (F.A.C. Weber) Buxb., também apresentou ótimo de temperatura tanto em regime constante de 25°C, como alternado de 25-35°C (BARRERA & NOBEL, 2003).

Para *Pilosocereus arrabidae*, Lucas & Frigeri (1990) estudando uma população existente em Guarapari, ES, relataram que a germinação é superior e equivalente nos tratamentos em regime constante de temperatura de 25°C ou alternado de 25-30°C (12h/12h). Trabalhando com esta mesma espécie, mas proveniente de Arraial do Cabo, RJ, Martins (2007) definiu como ótimo de temperatura 20°C constante ou 20-25°C (20h/4h) alternadas.

5.9. Substratos

Diferentes substratos podem ser utilizados para testes de germinação de sementes. Todos apresentam vantagens e desvantagens a serem consideradas. Nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) são propostos como substratos: papel mata-borrão e de filtro, pano de algodão, areia e solo de boa qualidade.

O papel, amplamente usado, tem por vantagem a fácil observação da emergência da raiz primária, sem a necessidade de qualquer manipulação. No entanto, pode ser facilmente inundado com excesso de água ou seco quando submetido a temperaturas mais altas. Mesmo quando usado na forma de rolos, sem a desvantagem da falta ou excesso de água, exige manipulação para observação e impede o seu uso para estudos que envolvam o fotoblastismo. Para substratos como areia, solo e vermiculita, por sua vez, não são observadas estas desvantagens. Entretanto, estes dificultam a observação das sementes em germinação e são inviáveis quando as sementes são muito pequenas (FERREIRA *et al.*, 2001).

Outra opção de substrato para germinação é o ágar. Rosa & Ferreira (1998) afirmam que este, quando de boa qualidade e usado na concentração de 1%, evita problemas de seca ou inundação e também de visualização da germinação, sendo muito vantajoso. Abreu *et al.* (2005), contudo, afirmam que mesmo em ágar há o problema da desidratação, quando utilizadas temperaturas mais elevadas, como 25°C e 30°C, em testes conduzidos por períodos mais longos. Além disso, este meio favorece a contaminação por microrganismos (FRANCO & FERREIRA, 2002).

Diferentes espécies vegetais respondem de diferentes maneiras aos substratos existentes. Andrade *et al.* (1999) avaliando a germinação de *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae) nos substratos areia, solo e vermiculita, observaram maior percentual e velocidade de germinação na vermiculita. A espécie *Drymis brasiliensis* Miers. (Winteraceae), no entanto, teve respostas germinativas superiores em papel de filtro, areia e ágar, em detrimento da vermiculita (ABREU *et al.*, 2005). O substrato papel também é indicado para a germinação de *Cactus spp.* e *Carnegia gigantea*, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992).

A leguminosa *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, popularmente conhecida como angico, por sua vez, apresentou percentuais de germinação mais elevados em areia e vermiculita, em comparação com papel germitest (MELO *et al.*, 2005).

Substratos alternativos também podem ser utilizados, como no trabalho de Pacheco *et al.* (2007), onde foram testados papel, areia, pó de coco e Tropstrato® para a germinação de *Apeiba tibourbou* Aubl. (Tiliaceae); as condições ótimas para germinação foram proporcionadas pela areia e pelo pó de coco.

6. MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Sementes do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (JBRJ) e no Laboratório de Controle de Qualidade de Sementes do Departamento de Fitotecnia, do Instituto de Agronomia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ em Seropédica - RJ.

Foram estudadas sementes de quatro espécies de cactos *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley. Estas espécies fazem parte da subfamília Cactoideae, tribo Cereeae, considerada a mais importante tribo do leste brasileiro, que reúne cactos que, entre outras características, são colunares e possuem cladódios com costelas (TAYLOR & ZAPPI, 2004).

6.1. Obtenção de frutos e sementes

Frutos maduros foram coletados em novembro de 2006 (*Cereus fernambucensis*) e abril de 2007 (*Pilosocereus arrabidaei*, *Pilosocereus ulei*) no maciço costeiro situado entre as praias Grande e Graçainha, município de Arraial do Cabo - RJ e de *Coleocephalocereus fluminensis* na Restinga de Grumari, município do Rio de Janeiro - RJ. O transporte dos frutos foi feito em sacos plásticos até o laboratório.

A restinga de Grumari, localizada na zona oeste do município do Rio de Janeiro, encontra-se protegida por lei municipal que estabelece a APA de Grumari (Lei Mun. nº 944, de 30/12/86). Sua área é de 1,3km² e seus limites são o Morro Catete e a Ponta da Praia Funda (ARAÚJO & MACIEL, 1998) (Figura 5).

O município do Rio de Janeiro apresenta clima, segundo a classificação de Köppen, tropical quente e úmido (Aw), com temperatura média de 23,7°C, máxima absoluta de 38,2°C, mínima absoluta de 11,1°C e precipitação média anual de 1172,9mm, com chuvas distribuídas ao longo do ano (DNMET, 1992 *apud* ZAMITH & SCARANO, 2004).



Figura 5: Vista panorâmica da Restinga de Grumari, localizada no Rio de Janeiro - RJ.

Em Arraial do Cabo foram feitas coletas em um maciço costeiro situado entre as praias Grande e Graçainha, retratado na Figura 6. Neste município o clima é semi-árido quente (Bsh), segundo classificação de Köppen (DUARTE, 1998 *apud* MARTINS, 2007), com temperatura média anual de 23°C e a precipitação média anual de 823mm (KRUEL-FONSECA & PEIXOTO, 2004).



Figura 6: Maciço costeiro localizado entre as praias Grande e Graçainha, Arraial do Cabo - RJ.

6.2. Extração das sementes

A extração das sementes foi feita manualmente, espremendo-se os frutos sobre uma peneira fina com lavagem subsequente em água corrente para a completa retirada da polpa e mucilagem.

As sementes permaneceram por 48 horas em câmara de secagem a 20% de umidade relativa e, depois de secas, foram transferidas para frascos herméticos de vidro, previamente identificados, e armazenadas em câmara fria a 10°C em presença de sílica. Os frutos coletados foram individualmente beneficiados, secos e armazenados.

6.3. Teor de água e morfologia de sementes

O teor de água foi determinado em três repetições de 25 sementes pelo método de estufa a 103°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 17 horas ($\pm 1\text{h}$) e os resultados expressos em porcentagem em base seca. O peso de mil sementes de cada uma das espécies foi calculado pela pesagem de oito amostras de 100 sementes e os resultados expressos em gramas (BRASIL, 1992).

Como os frutos foram beneficiados individualmente, o número médio de sementes por fruto foi estimado a partir do peso de mil sementes e do peso total de sementes de cada fruto. O tamanho médio das sementes, comprimento e largura, foi obtido a partir da medição individual com paquímetro digital de 25 sementes de cada espécie, escolhidas aleatoriamente.

6.4. Germinação

Em virtude da grande variação encontrada na maturação dos frutos na natureza e do desconhecimento dos estádios de desenvolvimento das sementes em função da coloração do fruto, foi realizado um experimento preliminar para verificar a viabilidade das sementes. Para isso dez sementes de cada um dos frutos coletados foram semeadas separadamente em placas de Petri ($\varnothing=9\text{cm}$), sobre papel germitest a 20°C constante e fotoperíodo de 8 horas. Este estudo preliminar permitiu a seleção dos frutos cujas sementes apresentaram percentual de germinação superior a 70%.

Além disso, foi feita uma seleção das sementes, com auxílio de um microscópio estereoscópico, para a retirada das sementes morfologicamente com distúrbios, quais sejam: chochas, de coloração marrom clara e as mal-formadas.

Os testes de germinação foram conduzidos em germinadores tipo B.O.D., equipados com quatro lâmpadas fluorescentes do tipo “luz do dia” de 20 Watts de potência, com irradiância de $90\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e sob fotoperíodo de oito horas.

Foram avaliados dois substratos; sobre papel (Qualy – J. Prolab®) e ágar 1% (Sigma®), e três temperaturas; 20°C constante, 25°C constante e 20°C - 30°C alternadas, sob fotoperíodo de 8 horas, sendo a maior temperatura na presença de luz. As sementes foram previamente lavadas com hipoclorito de sódio 1%, por 3 minutos, para retirada de impurezas e restos de polpa, seguida de tríplex enxágüe em água destilada.

Para cada tratamento, foram utilizadas quatro repetições de 40 sementes em placas de Petri ($\varnothing=9\text{cm}$), com duas folhas de papel germitest ou 25 ml de ágar, previamente autoclavados. As placas com papel foram umedecidas com 2,5 ml de água e diariamente pesadas para monitoramento da necessidade de reposição de água no substrato.

A partir da avaliação diária do número de sementes germinadas, foram calculadas a porcentagem de germinação (PG) e o tempo médio de germinação (TMG) para cada tratamento.

O tempo médio de germinação foi calculado segundo a fórmula de Ferreira & Borghetti (2004):

$$\text{Tempo médio} = \frac{\sum n_i \cdot t_i}{\sum n_i}$$

onde n_i representa o número de sementes germinadas no intervalo de tempo t_{i-1} e t_i .

O critério para avaliar a germinação foi a formação de plântulas normais, assim consideradas aquelas com raiz primária e hipocótilo íntegro, pigmentado e retilíneo. Os cotilédones não foram considerados no critério de germinação em virtude de o tegumento da semente encobrir esta parte da plântula por período muito variável.

Os experimentos foram mantidos até que os valores de germinação não variassem e as curvas alcançassem a estabilização. As plântulas não foram retiradas da placa logo após sua contabilização para que pudessem se desenvolver e possibilitar sua repicagem para cultivo.

Ao final dos experimentos, o número de plântulas com sintomas de doenças foi contabilizado por placa. Uma placa de *Cereus fernambucensis*, que apresentou a mais elevada porcentagem de plântulas doentes foi encaminhada para o Laboratório de

Fitossanidade do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para identificação dos agentes fitopatogênicos existentes, conforme anexo II.

6.5. Delineamento e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com dois substratos e três temperaturas, em quatro repetições de 40 sementes por tratamento e por espécie.

A normalidade foi avaliada pelo Teste de Lilliefors e a homogeneidade das variâncias pelo Teste de Bartlett. Quando necessário, os dados de porcentagem de germinação foram transformados em arco seno $(\%/100)^{1/2}$ e do tempo médio de germinação em $\sqrt{TMG + 3/8}$, segundo Zar (1999).

A análise de variância foi aplicada de acordo com a tabela 2. Havendo significância no teste F para diferença entre os tratamentos, foi aplicado o Teste de Tukey para comparação das médias a 5% de probabilidade (RIBEIRO JÚNIOR, 2001).

Tabela 2: Resumo de análise de variância dos dados realizada para cada uma das características avaliadas.

Fonte de Variação	GL
Temperatura (T)	2
Substrato (S)	1
Interação S x T	2
Resíduo	18
Total	23

7. RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1. Número, tamanho, morfologia de sementes e teor de água

Nas coletas feitas em campo foram encontrados 11 frutos de *C. fluminensis*, sete frutos de *P. arrabidae* e 14 frutos de *P. ulei* (Figura 7). As sementes de *C. fernambucensis* já haviam sido coletadas em novembro de 2006, estavam divididas em dois lotes, definidos em função da coloração dos frutos e estavam armazenadas em câmara fria a 10°C e teor de água de 8% no Laboratório de Sementes do JBRJ.

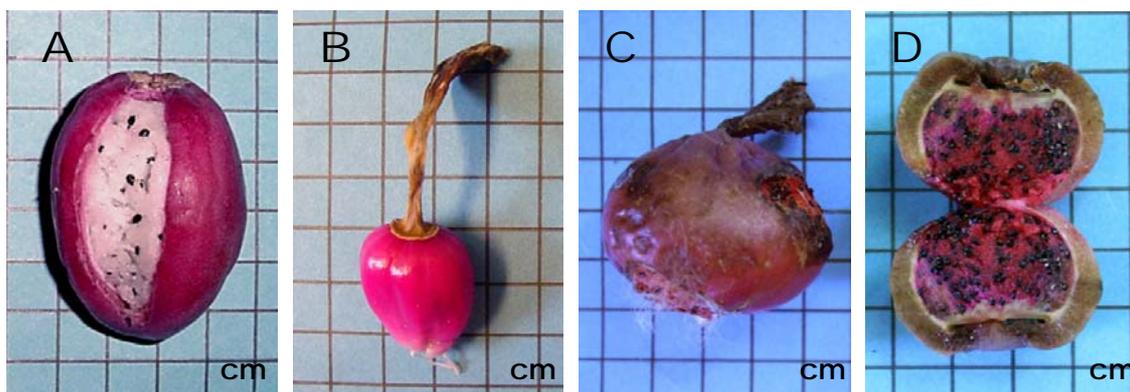


Figura 7: Frutos das espécies *C. fernambucensis* (A), *C. fluminensis* (B), *P. arrabidae* (C) e *P. ulei* (D).

A falta de informações a respeito da fenologia das espécies e a existência de frutos em diferentes fases de maturação foram algumas das dificuldades encontradas para a obtenção de grande quantidade de sementes de boa qualidade. Martins (2007) relata problemas similares a estes e suas observações permitiram a otimização da coleta de frutos maduros neste trabalho.

O número de sementes por fruto variou tanto entre as espécies (Tabela 3), como entre os frutos da mesma espécie. Ele só pode ser estabelecido para três das quatro espécies que foram estudadas: *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*.

Tabela 3: Média e desvio padrão do número de sementes por fruto das espécies coletadas em abril de 2007.

	Sementes por fruto	
	Média	Desvio Padrão
<i>C. fluminensis</i>	659	182
<i>P. arrabidae</i>	1299	626
<i>P. ulei</i>	1471	610

Entre as três espécies avaliadas, aquelas pertencentes ao gênero *Pilosocereus* foram as que apresentaram maior número de sementes por fruto, tendo *P. ulei* e *P.*

arrabidae, 1471 e 1299, respectivamente. Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000) afirmam que para *Pilosocereus chrysacanthus* o número de sementes por fruto pode ser superior a 1000. Citam também os trabalhos de Léon de La Luz & Dominguez-Cadena (1991) e Weiss *et al.* (1995) que reportaram a existência de até 1500 e 500 sementes para *Stenocereus gummosus* e *Selenicereus megalanthus*, respectivamente. *C. fluminensis*, apresentando número médio de sementes por fruto igual a 659, também mostra estar dentro da variação encontrada na família.

O experimento preliminar, realizado para a verificação da viabilidade das sementes provenientes dos diversos frutos/lotos das quatro espécies, revelou diferenças entre a germinação destes.

Tendo como critério de seleção de frutos, aqueles com percentual de germinação das sementes superior a 70%, foram escolhidos oito frutos de *C. fluminensis*, cinco frutos de *P. arrabidae* e oito frutos de *P. ulei*. Por conter sementes em quantidade suficiente, apenas o lote de maior percentual de germinação (100%) de *C. fernambucensis* foi usado. Este experimento, embora tenha levado a redução do número de frutos utilizados nos experimento e assim, reduzido o número total de sementes, mostrou-se útil para a seleção de sementes de boa qualidade pelas altas taxas de germinação conseguidas nos testes propostos.

Embora o tamanho das sementes de cactáceas seja muitas vezes avaliado somente através do seu comprimento (BARTHLOTT & HUNT, 2000), neste trabalho foram medidos tanto o comprimento como a largura, pelo fato de as sementes das espécies estudadas serem assimétricas, fato mais marcante em *C. fernambucensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*, que em *C. fluminensis*.

Dentre as quatro espécies estudadas, *C. fernambucensis* é a que apresenta as maiores sementes, com média de 2,48mm x 1,63mm (comprimento x largura), em seguida estão as de *P. arrabidae* (1,92mm x 1,28mm), *P. ulei* (1,59mm x 1,06mm) e *C. fluminensis*, que apresenta as menores sementes, em média 1,26mm x 0,90mm (Figura 8 e Tabela 4).

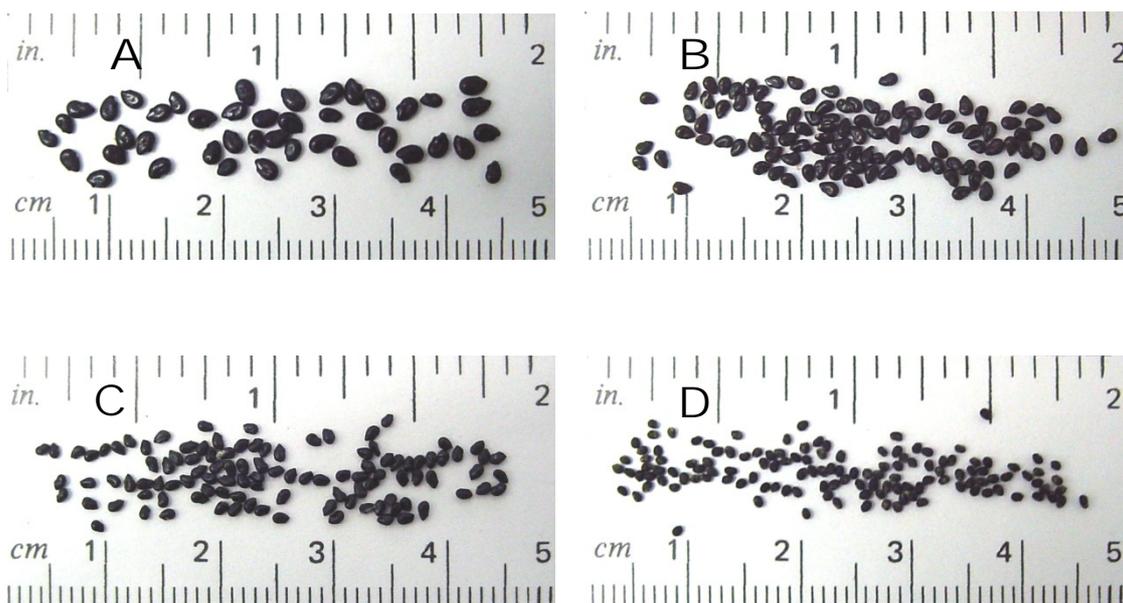


Figura 8: Sementes das espécies *C. fernambucensis* (A), *P. arrabidae* (B), *P. ulei* (C) e *C. fluminensis* (D).

O comprimento e a largura das sementes mostraram alguma variação quando comparados àqueles obtidos por Salles (1982) para *C. fernambucensis* (2,58 x 1,86mm), *C. fluminensis* (1,05 x 0,88mm) e *P. arrabidae* (1,65 x 1,14mm). Esta variação pode ser decorrente de diversos fatores, entre eles: a variabilidade intrínseca da espécie, a fertilidade do solo e a disponibilidade hídrica durante a formação das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Tabela 4: Comprimento e largura (milímetros) de sementes de *C. fernambucensis*, *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*.

Espécies	Comprimento (mm)		Largura (mm)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
<i>C. fernambucensis</i>	2,48	0,19	1,63	0,15
<i>C. fluminensis</i>	1,26	0,09	0,90	0,08
<i>P. arrabidae</i>	1,92	0,10	1,28	0,06
<i>P. ulei</i>	1,59	0,15	1,06	0,10

De acordo com a classificação estabelecida por Barthlott & Hunt (2000), as sementes de *C. fernambucensis* podem ser consideradas grandes, dentro da variabilidade encontrada na família cactácea, enquanto que as sementes de *P. arrabidae*, *P. ulei* e *C. fluminensis* são classificadas como médias.

O peso de mil sementes também acompanhou esta seqüência, tendo *C. fernambucensis* o maior valor médio (2,052gr.), seguido por *P. arrabidae* (0,780gr.), *P. ulei* (0,498gr.) e *C. fluminensis* (0,378gr.) como mostra a Tabela 5.

Tabela 5: Peso médio de mil sementes (gramas) e teor de água (%) de sementes de *C. fernambucensis*, *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*.

Espécies	Peso de Mil Sementes (g)	Teor de Água (%)
<i>C. fernambucensis</i>	2,052 ± 0,06	10,31
<i>C. fluminensis</i>	0,378 ± 0,01	9,47
<i>P. arrabidae</i>	0,780 ± 0,01	8,48
<i>P. ulei</i>	0,498 ± 0,02	10,18

Para os valores de peso de mil sementes também foram identificadas diferenças em comparação com os dados fornecidos por Salles (1982). Contudo a não associação de seus dados aos teores de água respectivos, inviabiliza a discussão a este respeito.

As quatro espécies estudadas apresentam sementes com características de ambientes áridos, entre elas seu tamanho reduzido, a presença de cúpulas na testa que aumentam a área de contato com o solo e um tegumento duro e espesso que reduz os riscos de dessecação (BREGMAN & BOUMAN, 1983). Além disso, não apresentam dormência e assim, estão aptas a germinar na ocorrência de disponibilidade de água.

7.2. Germinação

Os processos germinativos das quatro espécies mostraram-se semelhantes entre si e seguiram o padrão de rompimento da testa, observado para diversas espécies desta família (BREGMAN & BOUMAN, 1983). Estas espécies possuem sementes com ruptura regular do tegumento no dorso e opérculo, através do qual a protrusão da raiz primária é facilitada.

De maneira geral, a germinação das sementes das quatro espécies se inicia após a embebição da semente (A nas figuras de 9 a 12) com uma ruptura dorsal dos tegumentos e a abertura do opérculo (B), através do qual há a protrusão da raiz primária (C). A plântula alongada e pigmentada, com predominância do hipocótilo e raiz rudimentar, perde então os tegumentos expondo seus dois cotilédones (D).

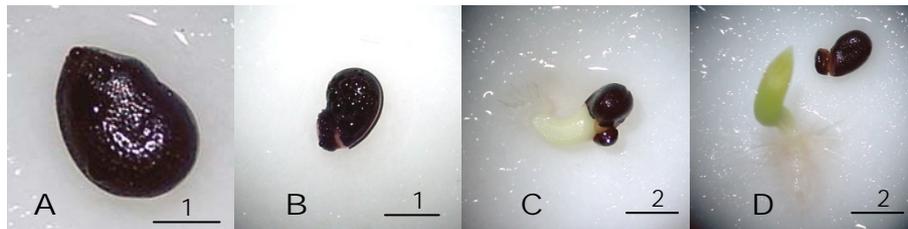


Figura 9: Fases da germinação de *C. fernambucensis*.

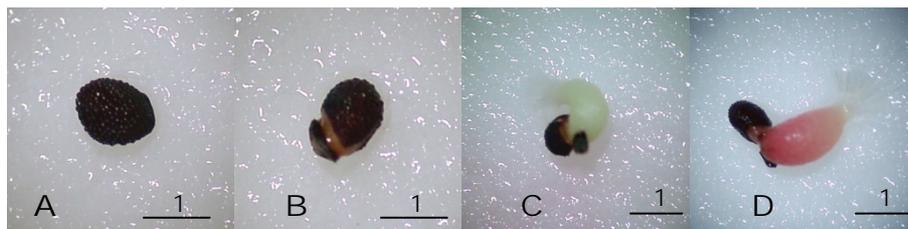


Figura 10: Fases da germinação de *C. fluminensis*.

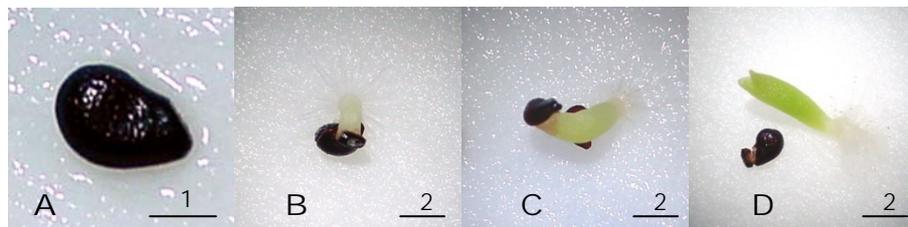


Figura 11: Fases da germinação de *P. arrabidae*.

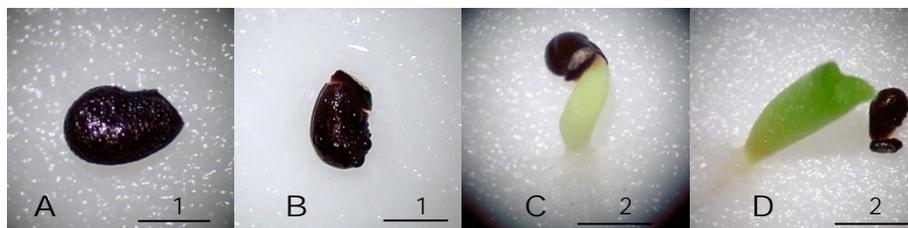


Figura 12: Fases da germinação de *P. uli*.

A análise de variância realizada para os dados obtidos com o experimento de germinação das quatro espécies mostrou diferenças significativas para os efeitos de substratos e temperaturas.

7.2.1. *Cereus fernambucensis*

As sementes de *C. fernambucensis* germinaram em todas as temperaturas e substratos testados e apresentaram protrusão de raiz primária a partir do quinto dia, sendo consideradas como germinadas a partir do sexto dia após a embebição (Figura 13). Foram observadas diferenças significativas na porcentagem de germinação e no tempo médio de germinação em função do substrato. O efeito da temperatura foi significativo sobre a porcentagem de germinação. Não foi observado o efeito da interação entre o substrato e temperatura sobre a germinação e tempo médio de germinação (Tabela 6).

Tabela 6: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *C. fernambucensis* em função de temperatura e do substrato.

FV	GL	PG	TMG
Temperatura	2	**	ns
Substrato	1	**	**
Temperatura x Substrato	2	ns	ns
Erro	18		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

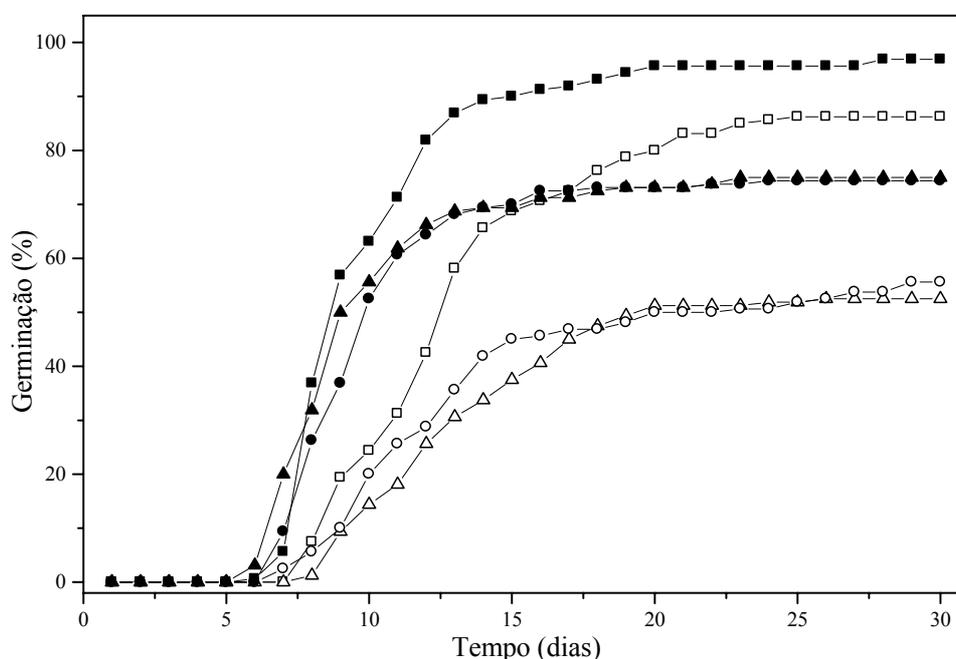


Figura 13: Germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função do tempo (dias). (■) 20°C ágar, (□) 20°C papel, (▲) 25°C ágar, (△) 25°C papel, (●) 20-30°C ágar, (○) 20-30°C papel.

Em ágar a 20°C foi observado o maior percentual (96,87%) de sementes germinadas (Figura 12 e Tabela 7). Quando as sementes foram colocadas sobre papel, nas temperaturas de 25°C e 20-30°C alternadas, estas apresentaram os mais baixos percentuais de germinação, próximos a 50%.

Os valores de germinação das sementes em ágar foram sempre superiores aos obtidos em papel, quando comparados na mesma temperatura. As diferentes características físicas e, conseqüentemente, a distribuição, evaporação e capacidade de retenção de água no ágar podem ter favorecido o processo de germinação neste substrato.

Tabela 7: Porcentagem média de germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função da temperatura e do substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (%G)
	Papel (%G)	Ágar (%G)	
20	86,25	96,87	91,56a
25	52,50	75,00	63,75b
20-30	55,62	74,37	65,00b
Média	64,79B	82,08A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O vigor das sementes de *C. fernambucensis*, refletido no tempo médio de germinação, também foi maior em ágar, em todas as temperaturas testadas. O menor tempo de germinação foi observado nas sementes incubadas em ágar a 25°C; nesta condição foram necessários 9,63 dias para a germinação (Tabela 8). Além disso, quando comparadas às médias de tempo para cada uma das temperaturas testadas, não se observou diferença significativa entre estas. Assim, a maior germinação de *C. fernambucensis* foi registrada na combinação de substrato ágar e temperatura constante de 20°C, nesta condição houve maior viabilidade e vigor das sementes.

Tabela 8: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função da temperatura e do substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (T dias)
	Papel (T dias)	Ágar (T dias)	
20	12,89	10,26	11,57
25	13,49	9,63	11,56
20-30	13,48	10,00	11,74
Média	13,28B	9,96A	

Letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Foram também observados problemas fitossanitários nas plântulas (Figura 14), sendo que o percentual de plântulas afetadas foi superior em ágar em relação ao papel em todas as temperaturas usadas (Tabela 9).

A análise vegetal realizada pelo Laboratório de Fitossanidade do Departamento de Fitotecnia da UFRRJ apontou para a existência de um complexo causal para a patologia observada nas plântulas, envolvendo: *Alternaria sp.*, *Rhizoctonia solani* e *Fusarium sp.* Contudo, o laudo ressalta a necessidade de outros estudos a serem realizados em plântulas germinadas em condições assépticas para a emissão de parecer conclusivo (Anexo II).



Figura 14: Plântulas de *C. fernambucensis* com sintomas de doenças.

Tabela 9: Porcentagem média de plântulas de *C. fernambucensis* com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato	
	Papel (%G)	Ágar (%G)
20	1,25	5,00
25	0,00	1,25
20-30	0,00	5,62

O ágar também proporcionou percentuais mais elevados de germinação e com menores tempos médios nas demais temperaturas testadas. Contudo, neste substrato foi observado também o maior número de plântulas com problemas fitossanitários. O melhor desempenho germinativo desta espécie em ágar pode estar relacionado ao fato deste substrato fornecer água à semente de maneira mais constante, diferentemente do papel para o qual havia necessidade de reposição diária de água, embora em nenhum momento este substrato tenha ficado seco durante o período experimental.

7.2.2. *Coleocephalocereus fluminensis*

A germinação também foi observada sob todas as temperaturas e substratos testados em *C. fluminensis*. Nesta espécie foram observadas interações significativas entre a temperatura e o substrato na porcentagem de germinação e tempo médio de germinação (Tabela 10).

Sementes com protrusão de raiz primária foram observadas desde o sexto dia e germinadas a partir do oitavo dia, como mostra a Figura 15, e resultou em percentuais elevados de germinação a 20°C e 20-30°C. A germinação de *C. fluminensis* foi máxima nas temperaturas de 20°C e 20-30°C, tanto em ágar como em papel, atingindo valores de 98,12% e 95,62%, respectivamente. A 25°C a germinação encontrada foi muito inferior, sendo de 15% em papel e 30% em ágar (Tabela 11).

Tabela 10: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *C. fluminensis* em função da temperatura e do substrato.

FV	GL	PG	TMG
Temperatura	2	**	**
Substrato	1	**	ns
Temperatura x Substrato	2	**	**
Resíduo	18		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

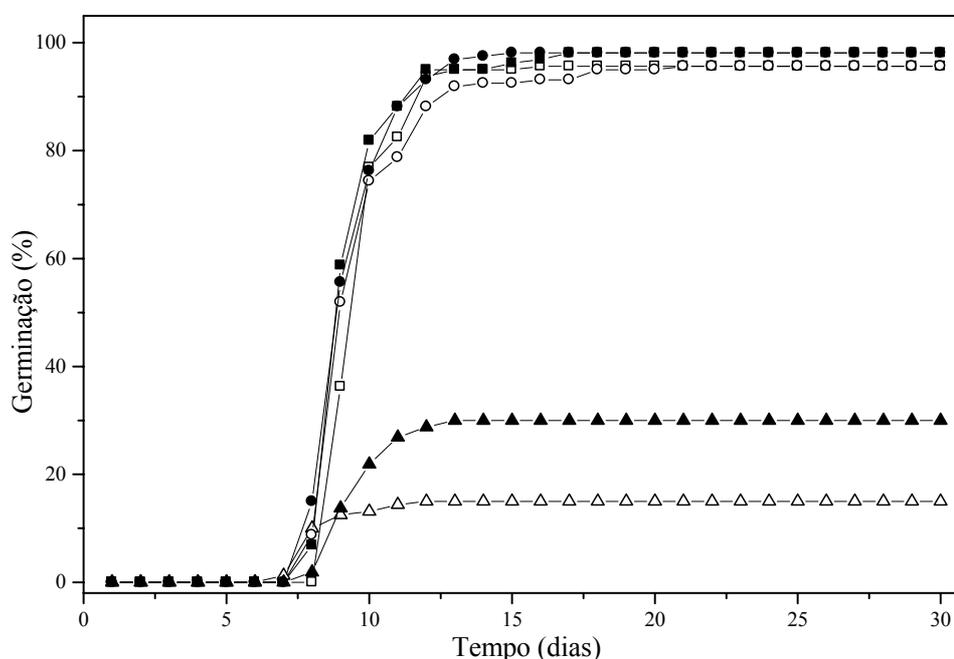


Figura 15: Germinação de sementes de *C. fluminensis* em função do tempo (dias). (■) 20°C ágar, (□) 20°C papel, (▲) 25°C ágar, (△) 25°C papel, (●) 20-30°C ágar, (○) 20-30°C papel.

Tabela 11: Porcentagem média de germinação de sementes de *C. fluminensis* em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (%G)
	Papel (%G)	Ágar (%G)	
20	95,62aA	98,12aA	96,87a
25	15,00bB	30,00bA	22,50b
20-30	95,62aA	98,12aA	96,87a
Média	68,75B	75,42A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

A germinação de *C. fluminensis*, embora tenha sido baixa a 25°C, ocorreu no menor tempo médio no substrato papel. Para as temperaturas de 20°C e 20-30°C os tempos médios foram equivalentes entre si e, dentre as temperaturas testadas, os mais elevados (Tabela 12).

Tabela 12: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *C. fluminensis* em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (T dias)
	Papel (T dias)	Ágar (T dias)	
20	9,99bA	9,73aA	9,86a
25	8,51aA	9,89aB	9,20b
20-30	10,04bA	9,68aA	9,86a
Média	9,51	9,76	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Problemas fitossanitários também ocorreram nas plântulas emergidas nos tratamentos com substrato ágar, tanto em regime de temperatura constante a 25°C, como em regime alternado de 20-30°C (Tabela 13).

Tabela 13: Porcentagem média de plântulas de *C. fluminensis* com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato	
	Papel (%G)	Ágar (%G)
20	0,00	0,00
25	0,00	13,12
20-30	0,00	30,62

Para *C. fluminensis* o percentual de germinação mais elevado foi observado nas condições de temperatura constante de 20°C e alternada 20-30°C, tanto em ágar como

em papel. A velocidade de germinação, no entanto, foi maior a 25°C que nas demais temperaturas. Para Marcos Filho (2005), o aumento de temperatura tende a aumentar a velocidade de germinação por reduzir a viscosidade da água e aumentar sua energia cinética, promovendo a embebição e as reações metabólicas. Contudo, o aumento de velocidade também leva a uma desorganização do processo germinativo, fazendo com que um menor número de sementes seja capaz de germinar (CARVALHO & NAKAGAWA, 1983). Quando incubadas em ágar, as plântulas apresentaram problemas fitossanitários, não registrados no substrato papel. Foi observado também que, quando incubadas na temperatura menos favorável (25°C), o ágar proporcionou germinabilidade equivalente ao dobro da observada em papel.

7.2.3. *Pilosocereus arrabidae*

Para esta espécie, foram observadas diferenças significativas para as interações entre os fatores temperatura e substrato (Tabela 14). A germinação, observada a partir do quinto dia, ocorreu em altos percentuais sob todas as condições testadas (Figura 16), sendo sempre superior a 70%. As sementes com protrusão de raiz primária foram registradas já a partir do quarto dia do início da avaliação.

Tabela 14: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *P. arrabidae* em função da temperatura e do substrato.

	FV	GL	PG	TMG
Temperatura		2	**	**
Substrato		1	ns	**
Temperatura x Substrato		2	**	**
Resíduo		18		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

Os maiores percentuais de germinação em *P. arrabidae*, equivalente a 90%, foram obtidos em papel a 20°C e em ágar a 25°C. Por outro lado, a menor resposta germinativa foi encontrada em papel sob regime alternado 20-30°C (Tabela 15).

Tabela 15: Porcentagem média de germinação de sementes de *P. arrabidae* em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (%G)
	Papel (%G)	Ágar (%G)	
20	90,62aA	85,62aA	88,12a
25	83,75abA	90,00aA	86,87ab
20-30	74,37bB	86,87aA	80,62b
Média	82,92	87,50	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

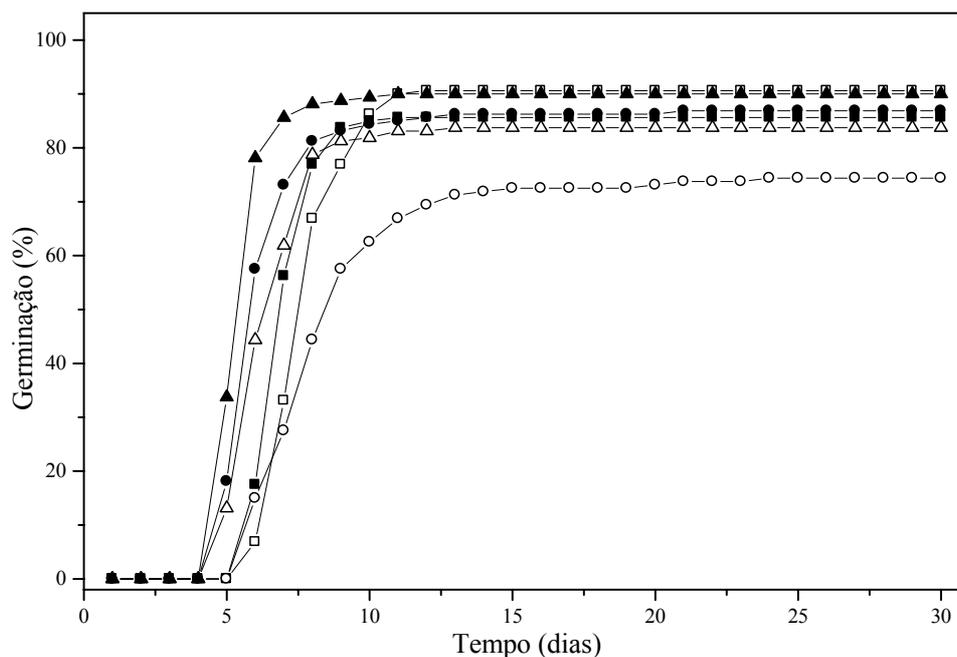


Figura 16: Germinação de sementes de *P. arrabidae* em função do tempo (dias). (■) 20°C ágar, (□) 20°C papel, (▲) 25°C ágar, (Δ) 25°C papel, (●) 20-30°C ágar, (○) 20-30°C papel.

A semeadura em ágar proporcionou uma média de tempo menor para a germinação de *P. arrabidae* que o substrato papel, quando comparados dentro da mesma temperatura. Além disso, a temperatura de 25°C propiciou as maiores velocidades de germinação, com os menores tempos médios observados, nos dois substratos. A combinação de 25°C em ágar apresentou-se como a de menor tempo médio para o processo germinativo (Tabela 16).

Tabela 16: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *P. arrabidae* em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (T dias)
	Papel (T dias)	Ágar (T dias)	
20	8,03bB	7,25cA	7,64b
25	6,70aB	5,85aA	6,28a
20-30	8,41bB	6,52bA	7,47b
Média	7,71B	6,54A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em *P. arrabidae* o percentual de plântulas que apresentou problemas fitossanitários foi mínimo e se concentrou no tratamento realizado com substrato papel a 20°C (Tabela 17).

Tabela 17: Porcentagem média de plântulas de *P. arrabidae* com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato	
	Papel (%G)	Ágar (%G)
20	1,25	0,00
25	0,00	0,00
20-30	0,00	0,00

As sementes de *P. arrabidae* mostraram melhor germinação quando em ágar a 25°C, com o maior percentual germinativo em menor tempo médio. Nesta espécie não foram observados problemas fitossanitários ocorridos em ágar. Lucas & Frigeri (1990), trabalhando com sementes desta espécie provenientes de Guarapari, ES, produzidas na primavera e semeadas sobre papel de filtro, concluíram como temperatura ótima para a germinação 25°C constantes ou 25-30°C (12h/12h) alternados.

Trabalhando com esta mesma espécie, mas com sementes coletadas em Arraial do Cabo, RJ, no mês de novembro, Martins (2007) definiu como ótimo de temperatura 20°C constante ou 20-25°C (20h/4h) alternados. As sementes utilizadas no presente trabalho também foram coletadas em Arraial do Cabo, mas no mês de abril. Elas foram portanto produzidas durante o verão, diferente daquelas usadas por Martins (2007) que, tendo sido coletadas em novembro, foram produzidas durante a primavera. Diferentes condições ambientais durante a produção das sementes podem ser responsáveis pela diferença observada na resposta germinativa desta espécie (MARCOS FILHO, 2005), sendo que temperaturas mais amenas durante a produção podem levar ao ótimo de temperatura mais baixo que em sementes produzidas sob temperaturas mais elevadas de verão.

7.2.4. *Pilosocereus ulei*

As sementes de *P. ulei* apresentaram percentuais germinativos equivalentes em todos os tratamentos realizados. Contudo, foram constatadas diferenças significativas tanto para os fatores isolados, quanto para a interação entre estes, com respeito ao tempo médio de germinação (Tabela 18).

Tabela 18: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *P. ulei* em função da temperatura e do substrato.

FV	GL	PG	TMG
Temperatura	2	ns	**
Substrato	1	ns	**
Temperatura x Substrato	2	ns	**
Resíduo	18		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

Nesta espécie a germinação também foi primeiramente observada no quinto dia experimental (Figura 17), com sementes com protrusão de raiz primária no quarto dia, e percentuais finais elevados em todos os tratamentos, próximos a 80%, como mostra a Tabela 19.

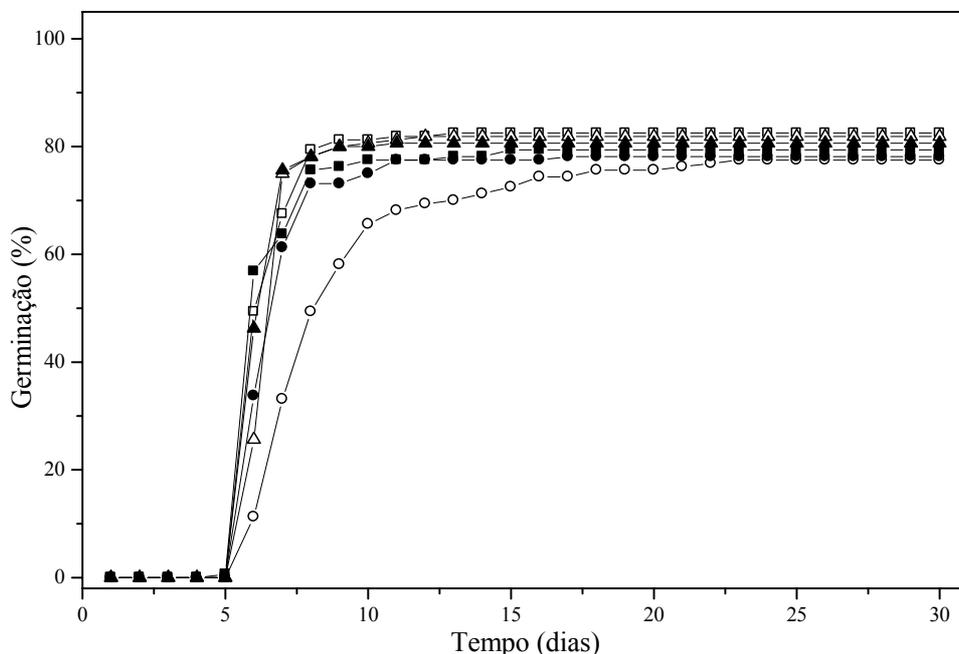


Figura 17: Germinação de sementes de *P. ulei* em função do tempo (dias). (■) 20°C ágar, (□) 20°C papel, (▲) 25°C ágar, (△) 25°C papel, (●) 20-30°C ágar, (○) 20-30°C papel.

Tabela 19: Porcentagem média de germinação de sementes de *P. ulei* em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (%G)
	Papel (%G)	Ágar (%G)	
20	82,50	79,37	80,94
25	81,87	80,62	81,25
20-30	77,50	78,12	77,81
Média	80,62	79,37	

O tempo médio de germinação de *P. ulei* também foi equivalente nos tratamentos realizados, à exceção do substrato papel em regime alternado de temperatura, que proporcionou o maior tempo médio observado (Tab. 20).

Tabela 20: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *P. ulei* em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato		Média (T dias)
	Papel (T dias)	Ágar (T dias)	
20	6,58aA	6,52aA	6,56a
25	6,86aA	6,53aA	6,69a
20-30	8,47bB	7,00aA	7,74b
Média	7,30B	6,69A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em *P. ulei*, embora tenham sido observados problemas fitossanitários em ambos os substratos, um percentual muito mais elevado foi registrado em ágar, sob as temperaturas de 20 e 25°C (Tabela 21).

Tabela 21: Porcentagem média de plântulas de *P. ulei* com sintomas de doenças em função de temperatura e substrato.

Temperatura (°C)	Substrato	
	Papel (%G)	Ágar (%G)
20	0,00	51,25
25	1,25	40,62
20-30	0,00	0,00

A germinação em ambientes áridos tem por característica a rapidez quando comparada com a germinação de espécies que ocorrem em ambientes com alta disponibilidade de água (Jurado & Westoby, 1992 *apud* Flores & Briones, 2001). Espécies ocorrentes nestes ambientes têm por estratégia o rápido estabelecimento no ambiente, aproveitando assim as condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento (FERREIRA & BORGHETTI, 2004).

A velocidade de germinação é influenciada por diversos fatores, dentre eles a velocidade de embebição. Para Borges & Rena (1993), a embebição é, por sua vez, influenciada pela forma da semente e sua superfície de contato com o meio. Além disso, o tamanho da semente em relação ao tamanho das partículas do solo e a topografia da testa são características que alteram as relações hídricas existentes entre o meio e a semente, justamente por terem influência direta na superfície de contato com o meio e na relação superfície-volume (CARDOSO, 2004).

A protrusão da raiz primária ocorreu poucos dias após o início da embebição, variando de quatro a seis dias para que as primeiras sementes das quatro espécies tivessem a raiz primária exposta. Álvarez *et al.* (2004), trabalhando com *Strombocactus disciformis* e *Turbincarpus pseudomacrolele* relataram que a protrusão de raiz primária destas espécies ocorreu nos primeiros três ou quatro dias. Para *P. arrabidae* a

protrusão de raiz primária também foi observada nos primeiros três ou quatro dias após a embebição, semelhante aos resultados de Lucas & Frigeri (1990) e Martins (2007).

A combinação, entre temperatura e substrato, que promoveu o máximo de germinabilidade no menor tempo médio, variou entre as quatro espécies. Esta depende não apenas das características genéticas de cada espécie, mas também das condições ambientais durante a produção das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

As temperaturas ótimas de germinação de todas as espécies testadas estão compreendidas dentro da faixa considerada como sendo a mais favorável à germinação de cactáceas, entre 17°C e 34°C. Contudo, em nenhuma delas foi claramente observada resposta germinativa mais favorável sob regime de temperatura alternada, como seria esperado, segundo as instruções das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) e as considerações de Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes (2000). Outros intervalos de temperatura e duração de termoperíodos podem ser investigados para melhor definição a este respeito, uma vez que foram reportados casos onde um intervalo de 10°C ou mais estimulou a germinação e também situações onde diferenças de apenas 1°C foram suficientes para a alteração da resposta germinativa (BASKIN & BASKIN, 1998).

Os substratos utilizados se mostraram adequados à germinação destas sementes, ambos permitindo fácil visualização e boa disponibilidade hídrica. O ágar teve ainda como vantagem permitir o melhor enraizamento das plântulas, mas para que seja amplamente utilizado faz-se necessária a investigação de métodos de desinfestação mais eficientes.

Os problemas fitossanitários foram encontrados em todas as espécies, apesar de não terem resultado em redução da germinação. A falta de sementes em grande quantidade não possibilitou o estudo mais aprofundado a este respeito, com o teste de outros protocolos possíveis, mas este é imprescindível para que se reduza a ocorrência de problemas fitossanitários sem que haja interferência na germinação.

Além disso, não houve tempo hábil nem sementes suficientes para a investigação detalhada dos problemas fitossanitários apresentados, assunto de grande importância para o desenvolvimento dos trabalhos de germinação com cactáceas.

De maneira geral, pode-se constatar a maior ocorrência de contaminação das plântulas quando a incubação foi feita em ágar, corroborando com os estudos de Franco & Ferreira (2002) que observaram ser este substrato efetivamente mais propício a proliferação de microrganismos.

8. CONCLUSÕES

- As determinações de tamanho e peso de mil sementes permitem classificar como grandes as sementes de *C. fernambucensis* e médias as sementes de *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*;
- As temperaturas e substratos testados permitem avaliar de forma eficiente a germinação e o vigor das sementes das quatro espécies de cactáceas;
- As melhores temperaturas e substratos para a germinação de sementes de *C. fernambucensis* são 20°C e ágar; para *C. fluminensis*, 20°C e 20-30°C, tanto no substrato papel como em ágar, para *P. arrabidae*, 25°C em ágar e para *P. ulei* em papel a 20, 25 e 20-30°C e ágar a 20 e 25°C;

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, Daniela Cleide A. de; NOGUEIRA, Antonio Carlos; MEDEIROS, Antonio Carlos de Souza. Efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* Miers. Winteraceae). *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 27, n.1, p.149-157, 2005.

ÁLVAREZ, Ricardo; GODÍNEZ-ÁLVAREZ, Héctor; GUZMÁN, Ulises; DÁVILA, Patricia. Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, v.75, p.7-16, 2004.

ANDRADE, Antonio Carlos Silva de; LOUREIRO, Marta Bruno; SOUZA, Andréa Damiana Oliveira; RAMOS, Flavio Nunes; CRUZ, Ana Paula Martins. Reavaliação do efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de palmitheiro (*Euterpe edulis* Mart.). *Revista Árvore*, Viçosa, v.23, n.3, p.279-283, 1999.

ARAÚJO, Dorothy Sue Dunn de; MACIEL, Norma Crud. Restingas Fluminenses: Biodiversidade e Preservação. *Boletim FBCN*, Rio de Janeiro, v.25, p.27-51. 1998.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. *Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. San Diego: Academic Press, 1998. 666p.

BARRERA, Erick de la; NOBEL, Park S. Physiological ecology of seed germination for the columnar cactus *Stenocereus queretaroensis*. *Journal of Arid Environments*, Amsterdã, v. 53, p.297-306, 2003.

BARTHLOTT, Wilhelm; HUNT, David. *Seed-diversity in the Cactaceae: subfamily Cactoideae*. Ed. David Hunt, 2000, 173p.

BENZING, David. H. *The Biology of the Bromeliads*. Califórnia: Mad River Press Inc., 1980, 305p.

BORGES, Eduardo Euclides de Lima; RENA, Alemar Braga. Germinação de sementes. In: Aguiar, Ivor Bergemann; Piña-Rodrigues, Fatima C. M.; Figliolia, Márcia Balistiero (Orgs.). *Sementes Florestais Tropicais*. 1ª ed. Brasília: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, v. 1, 1993. p. 83-135.

BRASIL. Ministério da Agricultura. LANARV/SNAD/MA. *Regras para Análise de Sementes*. Brasília, DF, 1992, 365p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade e Florestas. Projeto de Conservação e Utilização Sustentável da Diversidade Biológica Brasileira. *Biodiversidade Brasileira: Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros*. Brasília, DF, 2002. Disponível em http://www.mma.gov.br/estruturas/chm/_arquivos/biodivbr.pdf em 20/03/2007.

BREGMAN, R.; BOUMAN, F. Seed germination in Cactaceae. *Botanical Journal of Linnean Society*, v.86, p.357-374, 1983.

CALVENTE, Alice de Moraes; FREITAS, Maria de Fátima; ANDREATA, Regina Helena Potsch. Listagem, distribuição geográfica e conservação das espécies de cactaceae no estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v.56, n.87, p.141-162, 2005.

CARDOSO, Victor José Mendes. Germinação. In: Kerbauy, Gilberto Barbante. *Fisiologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S/A. 1ª Ed, 2004. p. 386-408.

CARVALHO, Nelson Moreira de; NAKAGAWA, João. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Campinas: Fundação Cargill. 2ª Ed, 1983. 429p.

FRANCO, Elci Terezinha Henz; FERREIRA, Alfredo Gui. Tratamentos pré-germinativos em sementes de *Didymopanax morotoni* (Aubl.) Dcne. Et Planch. *Ciência Florestal*. Santa Maria, v.12, n.1, p.1-10, 2002.

FERREIRA, Alfredo Gui; BORGHETTI, Fabian. Interpretação de resultados de germinação. In: FERREIRA, Alfredo Gui; BORGHETTI, Fabian. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 209-222.

FERREIRA, Alfredo Gui; CASSOL, Bibiana; ROSA, Shirley Galli Taylor da; SILVEIRA, Tânia Sales da; STIVAL, Ana Lúcia; SILVA, Adriana Andreoli. Germinação de sementes de asteraceae nativas do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta botânica brasílica*. São Paulo, v.15, n.2, p.231-242, 2001.

FLORES, Joel; BRIONES, Oscar. Plant life-form and germination in a Mexican inter-tropical desert: effects of soil water potencial and temperature. *Journal of Arid Environments*. Amsterdã, v.47, p.485-497, 2001.

FREITAS, M. F. Cactaceae da Área de Proteção Ambiental da Massambaba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*. Rio de Janeiro, v.42/44, p.67-91, 1990/1992.

GODÍNEZ-ÁLVAREZ, Héctor; VALVERDE, Teresa; ORTEGA-BAES, Pablo. Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*. New York, v.69, n.2, p.173-203, 2003.

GODÍNEZ-ÁLVAREZ, Héctor; VALIENTE-BANUET, Alfonso. Germination and early seedling growth of Tehuacan Valley cacti species: the role of soils and seed ingestion by dispersers on seedling growth. *Journal of Arid Environments*. Amsterdã, v. 39, p. 21-31, 1998.

HUNT, D. (Comp.) *Cites Cactaceae Checklist*. 2 ed. Kent. Whitstable Litho Ltd, Whitstable, 1999, 315p.

IUCN. *IUCN Red List of Threatened Species*, IUCN Species Survival Commission, The World Conservation Unit. Disponível em <http://www.iucnredlist.org/search/search-basic> em 20/03/2007.

JORNAL VALE PARAIBANO. *Cactos aquecem negócios no campo*. Disponível em <http://jornal.valeparaibano.com.br/2001/04/03/ani/cacto.html> em 02/07/2007.

KRUEL-FONSECA, Viviane Stern da; PEIXOTO, Ariane Luna. Etnobotânica na Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo, RJ, Brasil. *Acta botanica brasílica*. São Paulo, v.18, n.1, p.177-190, 2004.

LUCAS, N.M.C.L.; FRIGERI, R.B.C. Características germinativas das sementes de *Pilosocereus arrabidaei* (Lem) Byl & Rowl (Cactaceae). *Anais do II Simpósio de Ecossistemas da Costa Sul e Sudeste Brasileira: Estrutura, Função e Manejo*, Águas de Lindóia, v.3, p.467-477, 1990.

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

MARTINS, Luiza São Tiago. *Germinação de sementes de Pilosocereus arrabidaei (Lem.) Byl. & Row (Cactaceae) de Arraial do Cabo, Rio de Janeiro*. Dissertação de Mestrado, Pós-graduação em Botânica, Escola Nacional de Botânica Tropical do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, RJ, 2007.

MELO, Rafael Rodolfo de; FERREIRA, André Gonçalves; JUNIOR, Francisco Rodolfo. Efeito de diferentes substratos na germinação de sementes de angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan) em condições de laboratório. *Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal*. n.5, 2005. Disponível em http://www.artigocientifico.com.br/uploads/artc_1153974123_31.pdf em 25/06/2007.

ORTEGA-BAES, P.; ROJAS-ARÉCHIGA, M. Seed germination of *Trichocereus terscheckii* (Cactaceae): Light, temperature and gibberellic acid effects. *Journal of Arid Environments*. Amsterdã, v.69, p.169-176, 2007.

PACHECO, Mauro Vasconcelos; MATOS, Valdevez Pontes; FERREIRA, Rinaldo Luiz Caraciolo; FELICIANO, Ana Lícia Patriota. Germinação de sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. Em função de diferentes substratos e temperaturas. *Scientia forestalis*. Piracicaba, n.73, p.19-25, 2007.

PREFEITURA DO RIO DE JANEIRO, *Espécies ameaçadas de extinção no município do Rio de Janeiro*. Disponível em http://www.rio.rj.gov.br/smac/esp_est.php em 20/03/2007.

RAVEN, Peter H.; EVERT, Ray F.; EICHHORN, Susan E. *Biologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001, 6ª ed., 906p.

RIBEIRO JÚNIOR, José Ivo. *Análises Estatísticas no SAEG*. Viçosa: UFV, 2001, 301p.

RIZZINI, C. Cactáceas: Os segredos da sobrevivência. *Ciência Hoje*. São Paulo, n.30, p.30-39, 1987.

ROJAS-ARÉCHIGA, Mariana; VÁZQUEZ-YANES, Carlos. Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*. Amsterdã, v.44, p.85-104, 2000.

ROSA, Shirley G.T da; FERREIRA, Alfredo G. Germinação de sementes de espécies medicinais do Rio Grande do Sul: *Bromelia antiacantha* Bert.; *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) Macbride e *Talinum patens* (Jacq.) Willdenov. *Acta Botanica Brasílica*. São Paulo, v.12, n.3, p.515-522, 1998.

SALLES, Heliane Genófre. Expressão Morfológica de Sementes e Plântulas – Cactaceae. Dissertação de Mestrado UFRJ. Rio de Janeiro. 1982. 105p.

TAYLOR, Nigel; ZAPPI, Daniela. *Cacti of Eastern Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew. 2004. 499p.

ZAIDAN, Lilian B.P.; BARBEDO, Claudio J. Quebra de dormência em sementes. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Org.) *Germinação: do básico ao aplicado*. São Paulo: Artmed, 2004. p.135-146.

ZAMITH, Luiz Roberto; SCARANO, Fábio Rubio. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, São Paulo, v.18, n.1, p.161-176, 2004.

ZAPPI, Daniela C. *Pilosocereus (Cactaceae): The genus in Brazil*. Ed. David Hunt, Royal Botanic Gardens, Kew, 1994, 160p.

ZAR, Jerrold H. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall, 4ª Ed, 1999, 663pp.

ANEXO I

Tabela 22: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	3948,44	1974,22	20,81	0,00
Substrato	1	1794,01	1794,01	18,91	0,00
Interação T x S	2	147,39	73,70	0,78	****
Resíduo	18	1707,81	94,88		

Coefficiente de Variação = 13,26

Tabela 23: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *C. fernambucensis* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	0,16	0,081	0,12	****
Substrato	1	66,23	66,23	100,05	0,00
Interação T x S	2	1,57	0,78	1,18	0,33
Resíduo	18	11,92	0,66		

Coefficiente de Variação = 7,00

Tabela 24: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *C. fluminensis* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	29502,08	14751,04	745,32	0,00
Substrato	1	266,67	266,67	13,47	0,00
Interação T x S	2	208,33	104,17	5,26	0,02
Resíduo	18	356,25	19,79		

Coefficiente de Variação = 6,17

Tabela 25: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *C. fluminensis* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	2,31	1,15	6,20	0,01
Substrato	1	0,38	0,38	2,03	0,17
Interação T x S	2	3,85	1,93	10,36	0,00
Resíduo	18	3,35	0,19		

Coefficiente de Variação = 4,47

Tabela 26: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *P. arrabidae* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	258,33	129,17	4,13	0,03
Substrato	1	126,04	126,04	4,03	0,06
Interação T x S	2	314,58	157,29	5,03	0,02
Resíduo	18	562,50	31,25		

Coefficiente de Variação = 6,56

Tabela 27: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *P. arrabidae* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	8,83	4,41	50,55	0,00
Substrato	1	8,23	8,23	94,18	0,00
Interação T x S	2	1,56	0,78	8,92	0,00
Resíduo	18	1,57	0,09		

Coefficiente de Variação = 4,14

Tabela 28: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *P. ulei* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	57,81	28,91	0,41	****
Substrato	1	9,37	9,37	0,13	****
Interação T x S	2	14,06	7,031	0,10	****
Resíduo	18	1281,25	71,18		

Coefficiente de Variação = 10,55

Tabela 29: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *P. ulei* em função de temperatura e substrato.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Temperatura	2	6,67	3,34	36,17	0,00
Substrato	1	2,29	2,29	24,81	0,00
Interação T x S	2	2,23	1,11	12,09	0,00
Resíduo	18	1,66	0,09		

Coefficiente de Variação = 4,34

ANEXO II



INSTITUTO DE AGRONOMIA
DEPT^o DE FITOTECNIA



Laudo de Análise Vegetal

Requerente: Thais Hidalgo – Mestranda do CPGF/UFRRJ

Responsável pela análise: Prof. João Araujo

Amostras: plântulas de cactos germinadas *in vitro*

Espécie: *Cereus fernambucensis*

Procedência: sementes coletadas em restingas fluminenses

Data da Coleta: ?

Data de Recebimento: 13/11/2007

Desenvolvimento de necrose de tecidos da radícula e caule, provocando anelamento, com conseqüente interrupção do fluxo de seiva. Nas regiões necróticas observou-se desenvolvimento de coloração marrom-escuro e sinais de fungos, sobretudo esporos.

- 1) Fungo *Alternaria* sp.
- 2) Fungo *Rhizoctonia solani*
- 3) Fungo *Fusarium* sp.

Obs: até o presente momento não é possível laudo conclusivo quanto ao agente fitopatogênico principal. Como informado existe um complexo causal envolvido nessa patologia. Novas amostras de plântulas germinadas em condições assépticas devem ser encaminhadas para análise.

Técnicas empregadas:

- Isolamento cultural *in vitro* (meios BDA, DYGS e King B)
- Microscopia ótica
- Caracterização morfológica, fisiológica e bioquímica

Seropédica, 18 de março de 2007

João Araujo

UFRRJ/IA/DF

Prof. João S. de Paula Araujo

Eng. Agr. Ph.D.

Instituto de Agronomia

Depto. de Fitotecnia / Clínica Vegetal

Universidade Federal do Rural do Rio de Janeiro

Rod. Br 465, Km 7, Seropédica / Brazil

23851-970

(021) 2682-1210 R. 229

araujoft@ufrj.br

CAPÍTULO II

CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE CACTÁCEAS NATIVAS DA COSTA FLUMINENSE

10. RESUMO

Condições adequadas de temperatura do ambiente e teor de água das sementes aumentam sua longevidade durante o armazenamento. Este estudo avaliou a conservação de sementes de quatro espécies de cactáceas, *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidaei* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley, em experimento onde foram testados os efeitos de armazenamento e teor de água das sementes sobre o percentual e o tempo médio de germinação. Para melhor definição dos sais a serem usados na secagem das sementes para este experimento, foram construídas isotermas de adsorção, utilizando-se o método gravimétrico, estático, com soluções salinas saturadas. As isotermas de todas as espécies revelaram um padrão sigmoidal inverso com o acréscimo de teor de água das sementes, em função do aumento da umidade relativa do ar. No experimento de conservação, montado em esquema fatorial, foram testadas três diferentes condições de armazenamento (controle, 30 dias a 10°C e 30 dias a -196°C) sob três diferentes teores de água, próximos a 5, 7 e 9% (base seca). Foram utilizadas quatro repetições de quarenta sementes em delineamento inteiramente casualizado (ANAVA e Tukey; $P < 0,05$) e nas seguintes condições: *C. fernambucensis* em ágar a 20°C, *C. fluminensis* e *P. ulei* em papel a 20°C e *P. arrabidaei* em ágar a 25°C. As quatro espécies demonstraram comportamento de armazenamento ortodoxo, com tolerância à desidratação e à temperatura sub-zero. A viabilidade e o vigor das sementes não apresentaram alterações quando armazenados com teores de água próximos a 7%, tanto em câmara fria a 10°C como criopreservado a -196°C. A criopreservação pode ser recomendada para o armazenamento das espécies estudadas.

Palavras chave: armazenamento, criopreservação, cactáceas.

11. ABSTRACT

Proper conditions of temperature and water content increases seed longevity during storage. This study evaluated the conservation of four cacti, *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley, seeds under different storage conditions, in an experiment where the effects of storage and seed water content were evaluated on the germination percentage and germination average time. To better define the salts to be used in the seed drying process for this experiment, adsorption isotherms were built using static gravimetric method, with saturated salt solutions. The isotherms of all species showed a reverse sigmoidal pattern with increase of seed water content according to the increase in relative humidity. In the conservation experiment, also arranged in factorial system, three different storage conditions (control, 30 days at 10°C and 30 days at -196°C) under three levels of water content, around 5, 7 and 9% (dry basis) were tested. Four replicates of forty seeds were used in a completely randomized design (ANOVA and Tukey; P<0,05) at the following conditions: *C. fernambucensis* in agar at 20°C, *C. fluminensis* and *P. ulei* in paper at 20°C and *P. arrabidae* in agar at 25°C. All four species showed orthodox storage behavior, with dehydration and sub-zero temperature tolerance. Seed viability and vigour showed no changes when stored with water content around 7%, at 10°C and cryopreserved at -196°C. Cryopreservation can be recommended for the storage of this cacti species.

Key words: storage, cryopreservation, cacti.

12. INTRODUÇÃO

A conservação da biodiversidade vegetal pode ser realizada através de estratégias que assegurem a sobrevivência das espécies dentro de seus ecossistemas naturais ou fora deles, conhecidas como conservação *in situ* e *ex situ*, respectivamente. Métodos para conservação *ex situ* incluem bancos de sementes, coleções vivas de plantas em jardins botânicos e coleções *in-vitro* (BRASIL, 2001).

Os bancos de sementes apresentam ótima relação custo-benefício (BRASIL, 2001). Eles permitem a manutenção de altos níveis de viabilidade por décadas ao armazenar sementes que sejam tolerantes à desidratação, com aproximadamente 5% de teor de água a -20°C (PRITCHARD, 1995; SANTOS, 2001).

As sementes representam a forma natural de perpetuação da maior parte das espécies vegetais. Para cumprirem esta função, apresentam características próprias e peculiares que permitem o sucesso nesta tarefa. Entre elas, prescindir de água talvez seja a mais fascinante, isto porque a água é um elemento fundamental para a vida vegetal, tendo grande importância em todas as etapas do ciclo de vida de uma planta (MARCOS FILHO, 2005).

A tolerância à dessecação, demonstrada por tantas sementes, é constatada através da habilidade que estas sementes têm de reativar seu metabolismo sob condições ambientais favoráveis, após terem seu teor de água reduzido a níveis muito baixos. Desta forma, a relação existente entre a água e as sementes é de grande importância, pois permite manejar o nível de hidratação das sementes de forma a prolongar sua longevidade e, conseqüentemente, aumentar as chances de conservação da diversidade biológica (CASTRO *et al.*, 2004).

As sementes tolerantes à desidratação são chamadas de ortodoxas; também apresentam tolerância a temperaturas sub-zero e possuem maior longevidade quando armazenadas com baixos teores de água e sob baixas temperaturas. Contrariamente, as chamadas sementes recalcitrantes são sensíveis à desidratação e não tolerantes a baixas temperaturas, com menor longevidade quando comparadas às sementes ortodoxas (MARCOS FILHO, 2005).

Além da água, outros fatores influenciam a velocidade de deterioração das sementes, tais como temperatura, concentração de oxigênio, qualidade fisiológica das sementes, presença de patógenos etc (MARCOS FILHO, 2005). Dentre eles, cabe ressaltar a importância da temperatura neste processo, além de sua interação com os demais fatores, principalmente a água (VILLELA & PERES, 2004).

Além das técnicas tradicionais de conservação, a técnica de criopreservação, que estabelece o armazenamento de materiais biológicos em nitrogênio líquido, a -196°C, ou em sua fase de vapor, a -150°C, também tem sido utilizada mais recentemente, com propósito de conservação genética por vários jardins botânicos que já aplicam esta metodologia para o armazenamento de sementes em médio e longo prazo (BRASIL, 2001).

O armazenamento criogênico de uma espécie deve ser precedido de estudos que mostrem a tolerância das sementes à dessecação e sua habilidade de sobreviver sob as temperaturas proporcionadas pelo nitrogênio líquido, conseqüentemente demonstrando a eficácia da criopreservação sobre a longevidade da semente (ARNOSTI JR *et al.*, 1999).

Em virtude do grande número de espécies vegetais existentes, prioridade deve ser dada àquelas que sofrem ameaças reais em seus ambientes naturais (BRASIL, 2001). Atualmente um grande número de espécies da família Cactaceae encontra-se ameaçada, tanto que a família como um todo se apresenta incluída no apêndice II do livro de espécies ameaçadas do CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (HUNT, 1999).

As quatro espécies escolhidas neste estudo são litorâneas, ocorrendo naturalmente em áreas de grande pressão antrópica. Três delas apresentam apelo para sua conservação: *Coleocephalocereus fluminensis* tem sido considerado vulnerável no município do Rio de Janeiro, *Pilosocereus arrabidae* encontra-se proximamente ameaçado de extinção (IUCN, 2007) e *Pilosocereus ulei* é endêmico da região de Cabo Frio e tem sofrido pela redução dos ambientes onde ocorre.

Este trabalho avaliou a viabilidade e o vigor das sementes de *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley após o armazenamento destas com diferentes teores de água em ambientes com baixas temperaturas.

13. REVISÃO DE LITERATURA

13.1. Água

A água é essencial à vida. Nela e por meio dela são realizados todos os processos dinâmicos das células vivas. Ela representa pelo menos 70% do conteúdo de células ativas e as sementes, com teor de água entre 5 e 15%, estão entre os tecidos vegetais mais secos existentes, podendo sobreviver por longos períodos de tempo praticamente sem ela (MARCOS FILHO, 2005; TAIZ & ZEIGER, 2006).

A água na semente pode ser descrita por um estado de energia, denominado energia potencial. O potencial de água da semente representa a soma dos potenciais osmótico, matricial e de pressão. Este, em condições normais, tende a ser sempre negativo, uma vez que o potencial osmótico da água na semente é sempre negativo por causa da existência de solutos nas células e o potencial matricial também apresenta valores negativos por causa das matrizes intracelulares capazes de reter água. O potencial de pressão é exercido quando a água, penetrando na célula, faz pressão contra as paredes celulares (VILLELA, 1998; MARCOS FILHO, 2005).

O potencial de água indica, em uma célula, qual a disponibilidade e atuação da água. Outra medida muito usada para a água existente dentro das células é o teor de água, que indica a proporção em massa de quantidade de água em relação a massa total da semente (MARCOS FILHO, 2005). Muitos pesquisadores têm argumentado em favor do uso da medida de potencial de água em detrimento do teor de água, afirmando que este é um indicador mais eficiente do *status* da água, que por sua vez pode atuar como um regulador nos processos de desenvolvimento e germinação da semente (VILLELA, 1998).

Em relação à atividade da água em tecidos vegetais, Vertucci (1993) descreveu cinco tipos de água de acordo com a mobilidade da molécula e as propriedades termodinâmicas da água.

A água do tipo 1 praticamente não apresenta mobilidade, sendo fortemente ligada às macromoléculas, e pode ser considerada como estrutural e permanece nos tecidos mesmo muitos secos, existente em tecidos com teores de água inferiores a 7,5% na base úmida. A água do tipo 2 forma uma película em torno das matrizes celulares, interagindo com os sítios hidrofílicos e atuando como solvente, apresenta propriedades semelhantes às da água livre e está presente em teores de água entre 7,5 e 20%. A água do tipo 3 estabelece pontes entre sítios hidrófobos das macromoléculas; ela exhibe propriedades de água livre, está sujeita ao congelamento e ocorre entre teores de água de 20 e 33%. A água do tipo 4 não apresenta interação com a superfície das macromoléculas, ocupando os espaços existentes entre elas, presente em teores de água entre 33 e 41%. A água do tipo 5, que também não apresenta ligações com as macromoléculas, possui características correspondentes a uma solução diluída e está presente em células com teor de água superior a 41%. (VERTUCCI, 1993).

A atividade fisiológica das sementes varia conforme o potencial de água existente. Quando a água existente é do tipo 1, as reações metabólicas são restritas, por ser considerada estrutural e a retirada desta água pode levar ao aumento na taxa de deterioração dos tecidos. Na presença de água do tipo 2 já são observadas algumas reações enzimáticas. Com a água tipo 3 há uma intensificação da respiração celular e início do metabolismo. Os tipos 4 e 5 preenchem os poros e compõem a solução celular

e sua presença é necessária para que o processo germinativo se complete (VERTUCCI, 1993).

Existem teores críticos de água para que o metabolismo se processe. Um exemplo disto é a exigência de um mínimo de 30 e 40% de água (em base úmida) para a germinação de sementes endospermáticas e cotiledonares, respectivamente (MARCOS FILHO, 2005).

13.2. Higroscopicidade

Alguns materiais possuem a propriedade de absorver ou ceder água ao ambiente, até que seja estabelecido um equilíbrio dinâmico entre o teor de água interno e a umidade relativa do ar ambiente. Esta propriedade é conhecida como higroscopicidade e o equilíbrio atingido neste ponto é chamado de equilíbrio higroscópico (MARCOS FILHO, 2005). A maioria das sementes apresenta esta propriedade e assim, sorvem (adquirem) ou dessorvem (cedem) água até que estejam em equilíbrio com o ar que as circunda (MERRIT *et al.*, 2003, TAIZ & ZEIGER, 2006).

A higroscopicidade de uma semente é determinada por vários fatores, entre eles: a permeabilidade de seu tegumento e sua composição química. Proteínas e carboidratos são consideradas substâncias de reserva hidrofílicas, com alta afinidade a água. Contrariamente, lipídeos são considerados hidrófobos, por apresentarem menos sítios de ligação com a água. Desta forma, diferentes composições químicas nas sementes afetam sua capacidade de sorção de água (MARCOS FILHO, 2005).

Comparando-se o teor de água de equilíbrio de sementes ricas em lipídeos e sementes amiláceas, observa-se que este é mais baixo no primeiro grupo, quando armazenadas sob condições ambientais semelhantes (VERTUCCI & ROOS, 1990; FANTINATTI *et al.*, 2005).

A umidade relativa do ar está diretamente relacionada à temperatura, de modo que quanto mais elevada a temperatura do ar, maior sua capacidade em armazenar vapor d'água. Um aumento na temperatura do ar sem a alteração da quantidade de água presente resulta na diminuição da umidade relativa (UR) (MERRIT *et al.*, 2003; MARCOS FILHO, 2005).

Por serem higroscópicas, as sementes apresentam seu teor de água diretamente relacionado à UR do ar, onde esta permanente troca de água sempre é feita no sentido de menor potencial hídrico (MARCOS FILHO, 2005). A relação estabelecida entre o teor de água de equilíbrio da semente e a UR do ar ambiente é denominada de atividade da água (ARAÚJO *et al.*, 2001) e é útil para indicar a disponibilidade de água nas células vivas (BROOKER *et al.*, 1992 *apud* CORRÊA *et al.*, 2006).

O conhecimento da atividade da água de uma espécie é essencial para a pesquisa sobre a secagem, armazenamento e longevidade de suas sementes (ARAÚJO *et al.*, 2001). Isto se deve ao fato de o teor de água das sementes ter influência direta sobre seu processo degenerativo, uma vez que a retirada de água reduz o metabolismo e retarda o crescimento de microrganismos, contribuindo para a conservação da viabilidade durante o armazenamento (MERRIT *et al.*, 2003, CORRÊA *et al.*, 2006).

13.3. Tolerância à dessecação

A tolerância à dessecação representa a habilidade que as sementes têm de sobreviver com reduzida quantidade de água e recuperar suas funções biológicas quando reidratadas; esta habilidade depende de uma série de fatores e não é encontrada em todas as sementes (MARCOS FILHO, 2005).

Somente as sementes classificadas como ortodoxas possuem esta tolerância. Ela se desenvolve depois de adquirida a capacidade germinativa (CASTRO *et al.*, 2004), já no final do processo de maturação das sementes e é perdida gradativamente durante o processo de embebição (CARDOSO, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

Em termos fisiológicos, a fase de dessecação representa a divisão entre o metabolismo direcionado ao desenvolvimento e aquele direcionado à germinação (CARDOSO, 2004)

As sementes ortodoxas são assim denominadas por terem um comportamento relativamente previsível durante o armazenamento, pois apresentam maior longevidade quando em condições de baixa temperatura e umidade. Contrariamente a estas estão as chamadas sementes recalcitrantes, que se comportam de maneira imprevisível e mostram-se sensíveis à dessecação e as baixas temperaturas, mantendo seu metabolismo ativo mesmo após a sua dispersão (VILLELA & PERES, 2004).

Além destas, existem também sementes que apresentam comportamento intermediário entre estas duas classes, tendo pequena resistência às baixas temperaturas e alguma tolerância à dessecação (HOR *et al.*, 2005; MARCOS FILHO, 2005).

Sementes recalcitrantes são produzidas por plantas que geralmente ocorrem em ambientes muito úmidos e com temperatura elevada, que fornecem condições adequadas para o rápido estabelecimento das plântulas, como por exemplo, espécies de mangue e as não-pioneiras de florestas tropicais (CARDOSO, 2004). As espécies recalcitrantes produzem sementes relativamente grandes, com teores de água variando entre 30% e 70% e com grande investimento no acúmulo de reservas, além de tegumentos mais permeáveis à água (MARCOS FILHO, 2005).

Diversos fatores estão associados à tolerância a dessecação em tecidos vegetais; entre eles, aspectos físicos como o tamanho reduzido do vacúolo, e fisiológicos como a produção de proteínas LEA (“late embryogenesis abundant”) e açúcares que funcionam como solutos protetores, preservando as estruturas de membranas e proteínas. Sistemas antioxidantes também são imprescindíveis para impedir que danos às estruturas celulares sejam causados por radicais livres, bem como mecanismos que impeçam a fusão das membranas e promovam reparos durante a reidratação (CASTRO *et al.*, 2004).

As proteínas LEA, sintetizadas em grande quantidade durante as etapas mais tardias do desenvolvimento das sementes, são hidrofílicas e termoestáveis e podem atuar de maneira a proteger os componentes celulares durante a desidratação (CARDOSO, 2004).

Açúcares, como a sacarose, rafinose e estaquiase, contribuem para o aumento da viscosidade do citoplasma, levando à formação de um estado vítreo, que impede a fusão de membranas e acentuadamente reduz a velocidade das reações químicas. Por retardar a degradação dos componentes da semente, acredita-se que o estado vítreo contribua para a longevidade de sementes secas; entretanto, permanecem muitas dúvidas a

respeito dos mecanismos envolvidos neste processo (CARDOSO, 2004; CASTRO *et al.*, 2004).

Sob temperaturas normais, sementes de soja (*Glycine max*) e milho (*Zea mays*) apresentam seu citoplasma em estado vítreo quando apresentam teor de água inferior a 9 e 10%, respectivamente (MARCOS FILHO, 2005).

Embora possa parecer simples que a desidratação aumente a longevidade de sementes ortodoxas, esta solução não representa um processo trivial. As diversas funções biológicas exercidas pela água aumentam a complexidade do processo e, para que haja sucesso, a dessecação tem que atingir um teor de água tal que seja baixo o suficiente para evitar a formação de gelo dentro da célula quando sob temperaturas subzero, mas não tão baixo que cause injúrias por falta de água (SANTOS, 2001).

13.4. Secagem de sementes

As sementes apresentam um teor de água considerado ótimo para o armazenamento, seja em temperaturas acima ou abaixo de zero. Este valor pode variar amplamente entre as espécies e pode ser dependente do conteúdo lipídico. Quando secas abaixo do teor de água considerado ideal, as sementes ficam sujeitas a injúrias físicas que podem levar à perda de viabilidade. Por outro lado, teores de água superiores ao ótimo também podem promover injúrias por permitir a formação de gelo intracelular (PRITCHARD, 1995; WALTERS & HILL, 1998).

Um estudo mostrou que o teor de água ótimo é aquele obtido através de equilíbrio higroscópico em umidades relativas do ar que variam de 20 a 25% a 25°C. (VERTUCCI & ROOS, 1993). Este valor tem sido debatido pela comunidade científica, mas de maneira geral há consenso que o teor de água mais favorável para o armazenamento de sementes ortodoxas se situe entre 2,6 e 10% (MARCOS FILHO, 2005).

Hong *et al.* (2005) relatam que sementes hermeticamente armazenadas com teor de água de 2%, a 20°C, apresentaram teores de água entre 40 e 46% após 10 anos. Quando armazenadas a -20°C pelo mesmo período, o teor de água não mostrou aumento significativo. Este estudo também revelou que a germinação de sementes de cenoura e cebola não apresentaram perda de viabilidade após 10 anos de armazenamento a -20°C, depois de submetidas ao processo de secagem e ultra-secagem a teores de água entre 5,5 e 6,8% (UR de equilíbrio 19,1-54,6% a 20°C) e entre 2 e 3,7% (UR de equilíbrio 9,8-10,6% a 20°C), respectivamente. Sob estas mesmas condições, no entanto, sementes de alface e amendoim mostraram decréscimo significativo na viabilidade, variando entre 3 e 8%, após 10 anos.

Francisco *et al.* (2007), trabalhando com feijão, observaram que a ultra-secagem das sementes até 3% de teor de água não resultou em diferenças significativas na germinação.

Entender a relação existente entre a temperatura de armazenamento, a UR do ambiente e o teor de água da semente é um passo essencial para que sejam desenvolvidos protocolos para o armazenamento de sementes (MERRIT *et al.*, 2003).

13.5. Viabilidade e longevidade

A viabilidade representa a capacidade que uma semente tem de germinar sob condições favoráveis; nem todas as sementes vivas encontram-se viáveis, uma vez que sementes dormentes, mesmo estando vivas, não estão aptas a germinação em virtude de bloqueios diversos. A longevidade, por outro lado, representa o período de tempo pelo qual a semente se mantém viva; esta característica é determinada pelo genótipo e diretamente influenciada pelo ambiente (CARDOSO, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

A deterioração das sementes, também chamada de envelhecimento, é inevitável. Assim como todos os demais organismos vivos, as sementes também seguem seu curso e, após a maturidade, envelhecem e morrem. Contudo a velocidade e intensidade com que isso ocorre podem ser alteradas pelas condições ambientais e as práticas de manejo (MARCOS FILHO, 2005).

A influência do ambiente não se restringe ao período pós-dispersão somente, mas também abrange as fases vegetativa e reprodutiva da planta, na qual as sementes se formaram. Dentre todos os fatores presentes no ambiente, a água e a temperatura representam os principais elementos responsáveis pela velocidade de envelhecimento (MARCOS FILHO, 2005).

Em nível celular, pode-se dizer que os principais responsáveis para a redução da longevidade são o aumento da peroxidação de lipídeos, o acúmulo de radicais livres, a deterioração das membranas e a redução na atividade de algumas enzimas (CARDOSO, 2004).

Godínez-Álvarez (2003) afirma que pouco se sabe a respeito do potencial das sementes de cactos permanecerem viáveis no solo por longos períodos de tempo, formando um banco de sementes enterradas em longo prazo. Informações a respeito da longevidade destas sementes sob condições controladas também não foram encontradas.

A única informação disponível sobre este assunto sugere que as sementes do cacto barril *Ferocactus wislizeni* podem permanecer viáveis no solo por pelo menos 18 meses. Adicionalmente, para várias espécies de *Mammillaria* tem sido reportada a retenção de frutos nos cladódios, que pode ter um papel ecológico similar aos bancos de sementes enterradas (GODÍNEZ-ÁLVAREZ, 2003).

13.6. Isotermas de sorção

O estudo da atividade de água pode ser feito mediante a avaliação de isotermas de sorção. Estas consistem em curvas que descrevem a relação entre o teor de água dos materiais e a atividade de água para temperatura e pressão constantes (MARCOS FILHO, 2005).

Para a construção desta curva de formato sigmóide são necessárias determinações de pontos de equilíbrio higroscópico da semente, sob mesma temperatura, em diferentes umidades relativas do ar (MARCOS FILHO, 2005). As diferentes umidades relativas podem ser obtidas através do uso de soluções saturadas de sais (VERTUCCI & LEOPOLD, 1987).

O período de tempo necessário para que se alcance o equilíbrio higroscópico é variável. Este é diretamente influenciado pela temperatura, teor de água da semente, UR do ar e permeabilidade do tegumento. Assim, quanto mais elevada a temperatura, maior

a diferença de potencial hídrico entre as sementes e o ambiente e quanto mais permeável for o tegumento, menor será o tempo necessário para que o equilíbrio seja estabelecido (ALMEIDA *et al.*, 1999; MARCOS FILHO, 2005).

Existem duas formas de se determinar uma isoterma de sorção: através do método gravimétrico, que mede a variação de umidade do material, e do método higrométrico, que avalia a variação da UR do ar. Além disso, estes métodos podem ser conduzidos sob condição estática, sem a movimentação do ar circundante, ou dinâmica, com a movimentação mecânica de fluido gasoso. (BONIFÁCIO *et al.*, 1993 *apud* LEHN & PINTO, 2004).

O formato sigmoidal exibido pelas isotermas é composto por três regiões, que correspondem a diferentes tipos de ligação da água. A região I é observada sob baixas umidades relativas, entre 0 e 20%, onde há um aumento rápido no teor de água das sementes, seguido por um ponto de inflexão que marca o início da região II. A partir deste ponto, ocorre o aumento mais gradual do teor de água sob umidades relativas entre 20 e 65%. Finalmente, o último ponto de inflexão em torno de 70% de UR que dá início a região III, onde há um novo aumento acentuado de teor de água (VERTUCCI & LEOPOLD, 1987; MERRIT *et al.*, 2003). Na região I a água nas sementes é mantida por ligações fortes, na região II as ligações são fracas e na região III a água presente é considerada multimolecular, com ligação muito fraca (VERTUCCI & LEOPOLD, 1987).

Segundo Walters & Hill (1998), o teor de água ótimo para o armazenamento de sementes se situa entre as regiões de sorção I e II, onde há saturação de sítios fortes de ligação de água.

Embora as isotermas sejam um método conveniente para avaliar o estado físico da água em tecidos (VERTUCCI & LEOPOLD, 1987), a imprecisão para a delimitação das zonas de transição entre suas regiões dificulta sua análise (MARCOS FILHO, 2005).

A sorção de água varia conforme a temperatura usada, pois teores de água de equilíbrio mais altos são obtidos com o uso de temperaturas mais baixas (MENKOV, 2000; ARAÚJO *et al.*, 2001, MESQUITA *et al.*, 2001; MERRIT *et al.*, 2003). Além disso, a espécie e a composição do material estudado também afetam a sorção, de forma que sementes com maior teor lipídico sorvem menos água que sementes amiláceas. As diferenças de sorção relacionadas à temperatura sugerem a ocorrência de mudanças conformacionais dos polímeros, disponibilizando maior ou menor número de sítios de ligação de água (VERTUCCI & LEOPOLD, 1987). Outra causa apontada é a diminuição das forças de atração com a elevação da temperatura, pelo aumento da energia cinética das moléculas de água (KUROZAWA *et al.*, 2005).

As isotermas de sorção podem ser construídas em duas direções: adsorção e dessorção. A isoterma de adsorção é feita a partir de sementes secas que, através do aumento da UR, tem um incremento de peso devido ao ganho de água. Contrariamente, a isoterma de dessorção utiliza sementes úmidas para medir a perda de peso, decorrente da saída de água sob diferentes umidades relativas. Os valores obtidos durante a adsorção e a dessorção sob uma mesma UR do ar não são os mesmos, o que constitui o fenômeno da histerese. A amplitude deste fenômeno, ou seja, da diferença entre as curvas de adsorção e dessorção, tende a decrescer com o aumento da temperatura (ARNOSTI JR. *et al.*, 1999; MARCOS FILHO, 2005).

O teor de água alcançado através da adsorção é inferior ao atingido através da dessorção, indicando que há maior gasto de energia para liberar moléculas de água que para ligá-las (MARCOS FILHO, 2005).

13.7. Conservação, armazenamento e criopreservação

A conservação *in situ* e *ex situ* de germoplasma representa uma medida de prevenção do processo de erosão genética. O armazenamento de sementes é uma das formas mais eficientes de conservação *ex situ* de recursos genéticos vegetais, por sua eficácia e baixo requerimento de custo e espaço. Bancos de sementes, armazenando sementes com 5% de teor de água (base úmida) a -20°C , têm conseguido manter altos níveis de viabilidade por décadas (PRITCHARD, 1995; SANTOS, 2001).

Há necessidade, contudo, de se obter informações relativas ao comportamento de armazenamento *ex situ* de muitas espécies, para que se possam desenvolver programas efetivos de bancos de sementes (MERRIT *et al.*, 2003).

A qualidade inicial das sementes é considerada por Toledo *et al.* (2007) como a principal influência à sua capacidade de conservação. As condições de armazenamento de sementes também têm forte influência em sua viabilidade e longevidade (VERTUCCI *et al.*, 1994). Evidências indicam que a criopreservação em nitrogênio líquido (NL) aumenta ainda mais o tempo de sobrevivência de sementes (PRITCHARD, 1995).

A criopreservação é um método de conservação de material biológico em nitrogênio líquido, a -196°C , ou em sua fase de vapor, a -150°C . Sob estas temperaturas os processos bioquímicos são tão reduzidos que a deterioração é virtualmente paralisada (PRITCHARD, 1995; SANTOS, 2001, WALTERS *et al.*, 2004). Desta maneira, calcula-se, através de equações matemáticas, que a viabilidade das sementes nestas condições possa ser aumentada em até 175 vezes. Esta suposição, contudo, baseia-se em duas premissas: a primeira é que existe uma função exponencial que descreve o efeito da temperatura na taxa de perda de viabilidade da semente e a segunda é que os efeitos da temperatura e do teor de água na perda de viabilidade das sementes são independentes. Evidências científicas ainda não existem para comprovar tal relação sob temperaturas criogênicas (PRITCHARD, 1995).

Existem diferentes formas de se proceder à criopreservação. Uma delas é reduzir de maneira controlada a temperatura do material, com o uso de equipamentos de congelamento programado, até um ponto em que se possa colocá-las em NL. Outra opção é o uso de substâncias crioprotetoras e há ainda a possibilidade de reduzir o teor de água das sementes promovendo a vitrificação do protoplasma das células, seguida da imersão direta em NL (MOLINA *et al.*, 2006; NUNES *et al.*, 2003; REED *et al.*, 2001). A etapa crucial para o sucesso de protocolos que envolvem a vitrificação, portanto, é a desidratação e não o congelamento em si (ENGELMANN *et al.*, 1997 *apud* SANTOS, 2001)

As sementes devem ter baixos teores de água para serem submetidas à criopreservação; existindo teores de água considerados ótimos para este armazenamento. O teor de água ótimo para cada espécie é variável e, embora seja esperado que a maioria das sementes ortodoxas responda favoravelmente ao tratamento criogênico, não é possível recomendar este procedimento para todas as sementes tolerantes à dessecação (PRITCHARD, 1995).

Muitas espécies, entretanto, com sementes tolerantes à dessecação, sob condições adequadas podem ser diretamente imersas em NL sem perda de viabilidade (STANWOOD, 1985 *apud* GONZÁLEZ-BENITO *et al.*, 1998). Algumas espécies podem ter inclusive seus percentuais de germinação aumentados com a criopreservação, por exemplo, reduzir a impermeabilidade do tegumento (PRITCHARD, 1988).

Touchell e Dixon (1993), avaliando 90 espécies da flora australiana, reportaram que, destas, somente 37 responderam positivamente à imersão direta em NL, 10 tiveram resposta favorável ao resfriamento lento até a temperatura criogênica, 31 apresentaram melhora nos índices de germinação após a criopreservação e 10 foram prejudicadas neste sentido. Mesmo estudando um grande número de espécies, estes pesquisadores não puderam estabelecer tendências que previssem a habilidade das espécies de sobreviver ao armazenamento em NL, a partir do teor de água, tamanho da semente ou ainda parentesco taxonômico.

Salomão (2002), trabalhando com 66 espécies brasileiras, constatou a viabilidade da técnica de criopreservação para estas, ressaltando, no entanto, a necessidade de maiores estudos que busquem determinar o teor de água ótimo para a criopreservação de algumas delas.

A variabilidade de resposta ao tratamento é tão grande que nem mesmo em espécies do mesmo gênero pode-se fazer predições. Dussert *et al* (1998), estudando quatro espécies de café, observaram diferenças na sensibilidade a dessecação entre estas. Além disso, a protrusão de raiz principal bem-sucedida após a criopreservação não necessariamente levou à formação de plântulas normais, sendo por isto importante uma avaliação estendida a todos os eventos relacionados até o estabelecimento de plântula.

Além da variabilidade genética, outros fatores podem afetar a resposta das sementes à exposição ao NL. Entre eles, a velocidade de resfriamento (ROOS & STANWOOD, 1981; TOUCHELL & DIXON, 1993), a velocidade de reaquecimento e a umidificação das sementes antes da semeadura. A reumidificação de sementes com teores de água inferiores a 8-12% tem sido sugerido como forma de se evitar injúrias por embebição (GONZÁLEZ-BENITO *et al*, 1998, HONG *et al.*, 2005).

Um estudo mais recente, envolvendo período mais longo de criopreservação, contudo, demonstrou que a viabilidade, que era tida como indefinida nestas condições, pode apresentar perdas, embora que pequenas, mas significativas em 20 anos. Uma das causas para a queda na viabilidade neste caso pode ser atribuída ao reaquecimento inadvertido e periódico dos lotes, ao serem obtidas amostras ao longo do tempo para testes de viabilidade (WALTERS *et al.* 2004).

14. MATERIAL E MÉTODOS

A determinação de isotermas e a avaliação da conservação de sementes foram realizadas com as espécies de cactáceas estudadas no capítulo anterior: *Cereus fernambucensis* Lem., *Coleocephalocereus fluminensis* (Miq.) Backeb., *Pilosocereus arrabidae* (Lem.) Byles & G.D. Rowley e *Pilosocereus ulei* (K. Schum.) Byles & G.D. Rowley.

14.1. Isotermas de sorção

Para entender melhor as propriedades de sorção de água das sementes e, assim, poder escolher os sais mais adequados para a secagem destas, foram determinadas isotermas de sorção para as quatro espécies.

As sementes destas espécies, já beneficiadas e armazenadas como descrito no item 6.2. do capítulo I, foram submetidas a processos de secagem, em presença de sais que proporcionassem umidade relativa conhecida, para que as sementes apresentassem diferentes teores de água.

A determinação das isotermas de adsorção foi feita através do método estático gravimétrico. Em virtude do número reduzido de sementes com alta viabilidade, as sementes que foram usadas nesta determinação haviam apresentado germinação inferior a 70% no experimento preliminar. As sementes foram primeiramente desidratadas em dessecadores com sílica gel constantemente regenerada para um teor de água próximo a 1% (base seca) e depois foram divididas em lotes de 50 sementes.

As diferentes umidades relativas avaliadas, variando de 1% a 98%, foram obtidas com soluções saturadas de diferentes sais e também ácido sulfúrico, segundo os procedimentos apresentados por Vertucci & Roos (1993) (Tabela 30).

Tabela 30: Substâncias utilizadas para a construção das isotermas de sorção e suas umidades relativas proporcionadas a 15°C (VERTUCCI & ROOS, 1993).

Substância	Sigla	Umidade Relativa
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄	1%
Hidróxido de sódio	NaOH	7,5%
Cloreto de lítio	LiCl	13%
Acetato de potássio	KAc	22,5%
Cloreto de magnésio	MgCl ₂	33%
Nitrato de magnésio	Mg(NO ₃) ₂	53%
Cloreto de sódio	NaCl	75%
Cloreto de potássio	KCl	86%
Fosfato de sódio dibásico	Na ₂ HPO ₄	98%

Cada solução foi colocada dentro de um frasco de vidro hermético, dotado de um suporte suspenso para o posicionamento das sementes que foram dispostas em

camada monogranular. Em cada frasco foram colocados separadamente três lotes de 50 sementes, cada um sendo uma repetição.

Os frascos foram mantidos em incubadora a uma temperatura de 15°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) e os lotes de sementes foram pesados em balança de precisão em intervalos regulares de sete dias até atingir massa constante, aqui definido como variação inferior a 0,001g em três medidas consecutivas.

O teor de água das sementes foi então determinado pelo método de estufa a 103°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) por 17 horas ($\pm 1\text{h}$) (BRASIL, 1992) em base seca, depois de armazenado por um período de 48 horas em envelope impermeável termoselado, para homogeneização do teor de água entre as sementes, procedimento realizado para as três repetições.

14.2. Armazenamento e criopreservação

Foram avaliadas três condições de armazenamento sob três diferentes teores de água das sementes. A partir das isotermas de sorção estabelecidas para cada uma das espécies na presença de cada um dos sais, foi realizada a secagem de três lotes de aproximadamente 650 sementes para teores de água próximos a 9%, 7% e 5% em base seca.

Dos três lotes com o mesmo teor de água, um deles foi imediatamente reidratado e semeado, sendo este o tratamento controle. O segundo lote foi acondicionado em embalagem impermeável e armazenado dentro de um recipiente contendo sílica, em câmara fria a 10°C por 30 dias. O terceiro foi acondicionado em um criotubo de 1ml, embalado em um envelope impermeável, e criopreservado através de sua imersão direta em nitrogênio líquido a -196°C por 30 dias. Decorrido o tempo, o lote criopreservado foi retirado do tanque de nitrogênio líquido e rapidamente reaquecido em banho-maria a 40°C por dois minutos.

Para cada tratamento foram usadas quatro repetições de 40 sementes, com determinação do teor de água anterior e posterior ao armazenamento, com três repetições de 50 sementes. Em todos os tratamentos, as sementes foram submetidas a uma reidratação em câmara de umidificação por 48 horas para prevenir contra injúrias por embebição (HONG *et al.*, 2005).

Os testes de germinação foram conduzidos em germinadores tipo B.O.D. equipados com quatro lâmpadas fluorescentes do tipo “luz do dia” de 20 Watts de potência (irradiância de $90\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) e fotoperíodo de oito horas. As temperaturas e substratos utilizados foram aqueles que proporcionaram maior percentual de germinação, em menor tempo médio, com menor ocorrência de problemas fitossanitários, para cada espécie, definidas de acordo com os resultados dos testes de germinação apresentados no capítulo anterior, que foram: para *C. fernambucensis* em ágar a 20°C, para *C. fluminensis* e *P. ulei* em papel a 20°C e para *P. arrabidae* em ágar a 25°C.

O teste de germinação foi conduzido utilizando placas de Petri ($\varnothing=9\text{cm}$) com duas folhas de papel germitest ou 25ml de ágar, previamente esterilizados em autoclave. As placas com papel foram umedecidas com 2,5ml de água e pesadas periodicamente para monitoramento da necessidade de reposição de água no substrato.

A partir da avaliação diária do número de sementes germinadas, foram calculadas a porcentagem de germinação (PG) e o tempo médio de germinação (TMG) para cada tratamento, segundo fórmula apresentada no item 6.4. do Capítulo I.

O critério para avaliar a germinação foi a formação de plântulas normais, assim consideradas aquelas com raiz principal e hipocótilo íntegro, pigmentado e retilíneo. Os cotilédones não foram considerados no critério de germinação, em virtude de o tegumento da semente encobrir esta parte da plântula por período muito variável. Os experimentos foram avaliados até a estabilização das curvas de germinação.

14.3. Delineamento e análise estatística

O delineamento do experimento de armazenamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial com três teores de água e três condições de armazenamento, em quatro repetições de 40 sementes. Os testes de Lilliefors, para verificação da normalidade de distribuição dos erros, e de Bartlett, para a homogeneidade das variâncias dos erros, ambos com nível de significância de 5%, foram realizados. Quando necessário, os dados de porcentagem de germinação foram transformados por arco seno $(%/100)^{1/2}$ (ZAR, 1999). Depois de atendidos os pressupostos da análise paramétrica a análise de variância (Tabela 31) foi aplicada.

Tabela 31: Resumo da análise de variância dos resultados obtidos para cada uma das características avaliadas.

Fonte de Variação	GL
Armazenamento (A)	2
Teor de água (T)	2
Interação A x T	4
Resíduo	27
Total	35

Valores de F significativos entre os teores de água ou entre os tratamentos de armazenamento tiveram suas médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Este procedimento também foi realizado quando a interação resultou em um valor de F significativo, identificando a melhor combinação de teor de água e modo de armazenamento das sementes para cada espécie. As análises estatísticas foram feitas com o auxílio do programa SAEG.

15. RESULTADOS E DISCUSSÃO

15.1. Isotermas de sorção

As sementes permaneceram nos frascos herméticos sob diferentes umidades relativas do ar por 28 dias. As alterações no peso das sementes das quatro espécies cessaram depois de 14 dias nestas condições; desta maneira, três avaliações semanais puderam ser feitas para garantir a existência de equilíbrio higroscópico.

A precisão das isotermas depende do equilíbrio a ser alcançado entre as sementes e o ambiente de armazenamento (MERRIT *et al.*, 2003). O tempo levado para o equilíbrio pode variar entre as espécies em função de diversos fatores. Arnosti Jr. *et al.* (1999), estudando *Brachiaria brizantha* reportaram a necessidade de 15 a 21 dias para o estabelecimento de equilíbrio. Lehn *et al.* (2004), pesquisando uma variedade de arroz, afirmaram ter obtido o equilíbrio dentro de 14 dias. As quatro espécies aqui estudadas apresentaram período de 14 dias para atingir o equilíbrio higroscópico em todas as umidades relativas e mostraram proximidade aos valores obtidos pelos demais autores citados.

As isotermas de sorção para as quatro espécies demonstraram que para as UR do ar utilizadas, foram obtidos valores de teor de água (base seca) entre 2 e 19% para *C. fernambucensis* (Figura 18), 1 e 28% para *C. fluminensis* (Figura 19), 3 e 26% para *P. arrabidae* (Figura 20) e 4 e 24% para *P. ulei* (Figura 21).

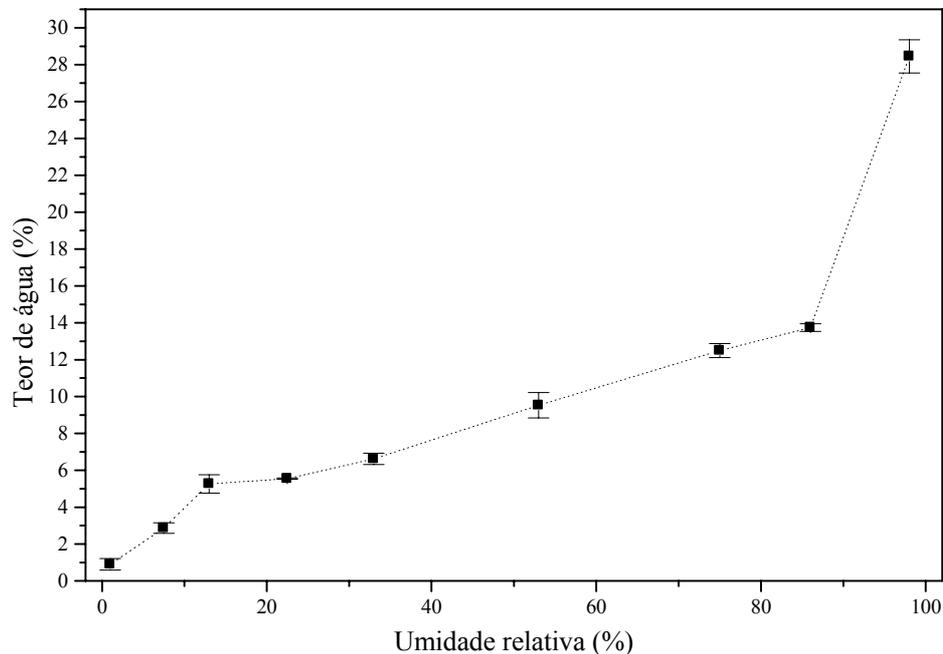


Figura 18: Isoterma de adsorção de água em sementes de *C. fernambucensis* sob temperatura de 15°C. Pontos representam média do teor de água (\pm desvio padrão) em base seca. Linha pontilhada representa apenas a ligação entre os pontos.

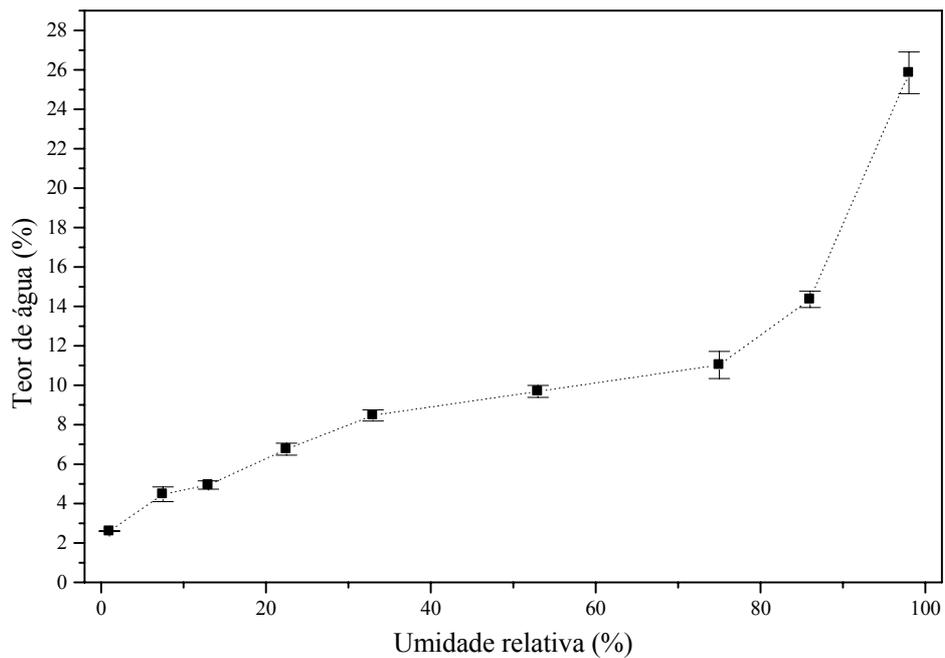


Figura 19: Isoterma de adsorção de água em sementes de *C. fluminensis* sob temperatura de 15°C. Pontos representam média do teor de água (\pm desvio padrão) em base seca. Linha pontilhada representa apenas a ligação entre os pontos.

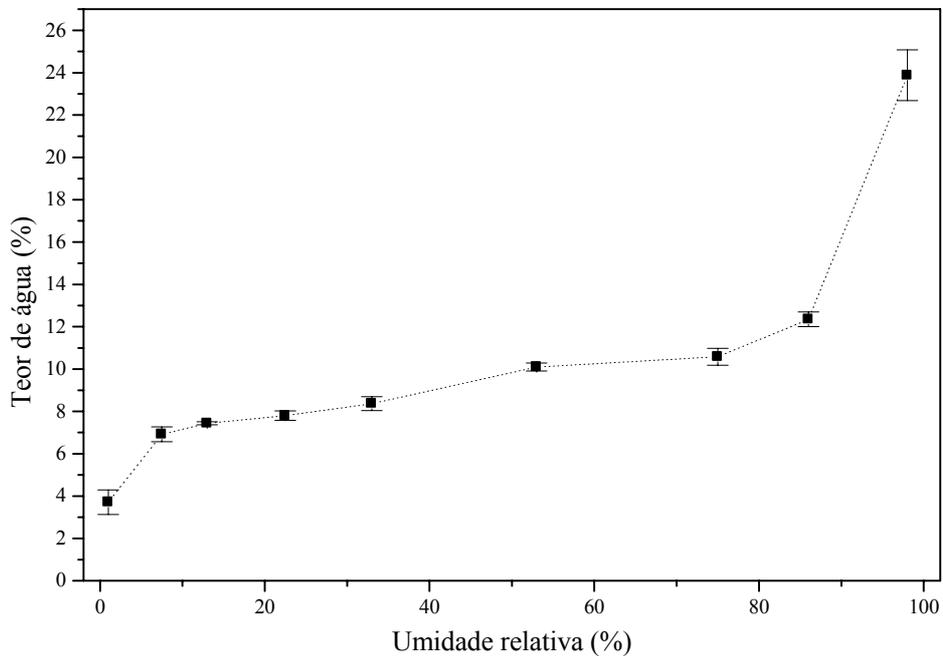


Figura 20: Isoterma de adsorção de água em sementes de *P. arrabidae* sob temperatura de 15°C. Pontos representam média do teor de água (\pm desvio padrão) em base seca. Linha pontilhada representa apenas a ligação entre os pontos.

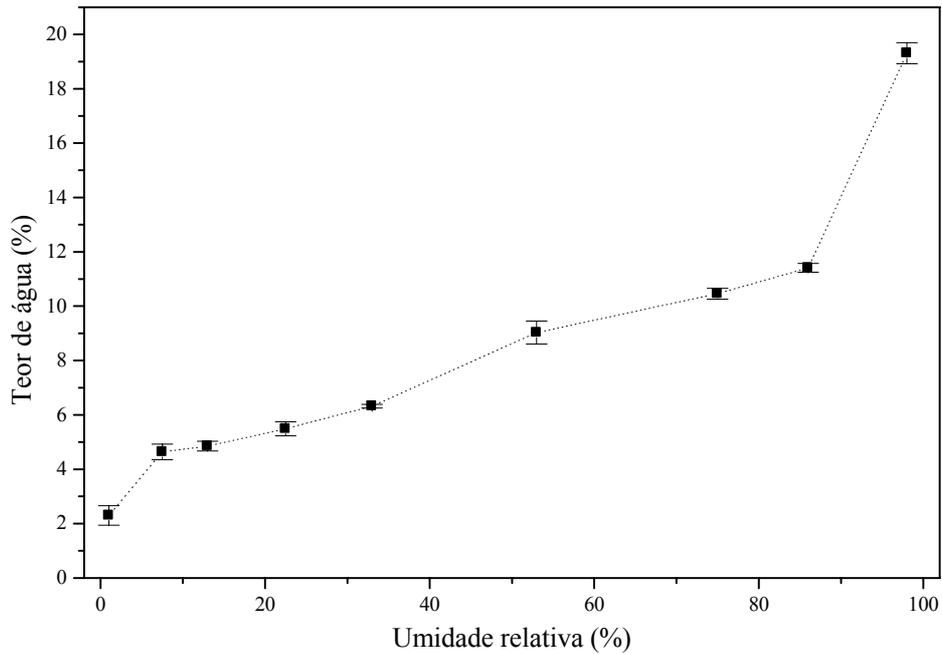


Figura 21: Isoterma de adsorção de água em sementes de *P. ulei* sob temperatura de 15°C. Pontos representam média do teor de água (\pm desvio padrão) em base seca. Linha pontilhada representa apenas a ligação entre os pontos.

Em todas as espécies foi observado que o teor de água das sementes é elevado em função da umidade relativa seguindo um padrão sigmoidal. Com um rápido aumento de hidratação antes do primeiro ponto de inflexão, localizado entre as umidades relativas de 7,5-13% aproximadamente, seguido de incremento mais lento até o segundo ponto de inflexão, observado em 86% de umidade relativa aproximadamente, quando novamente é observada uma hidratação mais rápida das sementes com o aumento da umidade relativa.

A variação de teor de água das sementes em função da UR mostra haver troca de água entre a semente e o ambiente através do tegumento; isto não ocorre em todas as sementes. Merrit *et al.* (2003), estudando quatro espécies, relataram a não variação do teor de água de sementes de *Acacia bivenosa* DC. quando estas apresentavam o tegumento intacto, sugerindo que as sementes desta espécie apresentam tegumento duro que restringe as trocas entre o interior da semente e o meio circundante. O registro de mudanças no teor de água das sementes destas cactáceas, em função da umidade relativa do ambiente, descarta esta possibilidade e mostra não haver restrição às trocas gasosas imposta pelo tegumento das sementes nas quatro espécies.

O padrão sigmoidal inverso, encontrado para o incremento do teor de água das sementes em função do aumento da umidade relativa, é esperado em sementes ortodoxas (MARCOS FILHO, 2005). As isotermas destas espécies puderam ser divididas em três regiões que refletem a força de ligação da água. Além disso, os pontos de inflexão parecem corresponder aos limites das propriedades de ligação da água, ocorrendo em umidades relativas similares para as diferentes espécies ortodoxas (Walters & Hill, 1998; Merrit *et al.*, 2003).

Walters & Hill (1998) trabalhando com diversas espécies ortodoxas entre elas trigo, arroz, tomate e amendoim mostraram que as isotermas destas espécies apresentaram o primeiro ponto de inflexão entre 10 e 20% de umidade relativa (limite entre regiões I e II) e o segundo ponto de inflexão próximo a 75% de umidade relativa, delimitando a zona de sorção III. As isotermas de adsorção das cactáceas estudadas apresentaram algumas similaridades com as determinadas por Walters & Hill.

A partir destes dados foram escolhidas as umidades relativas de secagem para as sementes que foram utilizadas no experimento de armazenamento. O uso de ácido sulfúrico foi descartado neste procedimento pela falta de informações a respeito de possíveis interferências e danos causados por este ao tegumento das sementes, que depois de tratadas seriam submetidas à germinação. Portanto, optou-se pelo uso de sílica gel constantemente regenerada que, apesar de poder proporcionar valores variáveis de umidade relativa, tem a capacidade de promover elevada desidratação das sementes, para obtenção dos valores mais baixos de teores de água a serem alcançados, por volta de 5%.

Além deste, foram escolhidos, para *C. fernambucensis* e *C. fluminensis*, $MgCl_2$ e $Mg(NO_3)_2$ por proporcionarem teores de água da ordem de 6 e 9%; e 7 e 10%, respectivamente. Para *P. arrabidae* foram selecionados KAc e $Mg(NO_3)_2$ e para *P. ulei* NaOH e $Mg(NO_3)_2$ por proporcionarem teores de água próximos a 7 e 10%, respectivamente.

15.2. Secagem de sementes

A secagem das sementes proporcionada pelos sais utilizados não alcançou os valores de teor de água esperados com base nas isotermas de sorção em seis das oito tentativas, distribuídas nas quatro espécies, como mostra a Tabela 32.

Tabela 32: Valores de teor de água (%) esperados e obtidos na secagem com sais das sementes de *C. fernambucensis*, *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*.

Espécie	Teores de Água (%)	
	Esperados	Obtidos
<i>C. fernambucensis</i>	6 e 9	9 e 10
<i>C. fluminensis</i>	7 e 10	7 e 9
<i>P. arrabidae</i>	7 e 10	7 e 9
<i>P. ulei</i>	7 e 10	5 e 11

Contudo, a disponibilidade reduzida do número de sementes não permitiu novas secagens, para a espécie *C. fluminensis*. Para *C. fernambucensis*, um novo lote de sementes foi desidratado com LiCl e foi obtido teor de água de 7%. Para *P. ulei*, o lote de sementes secas na sílica gel (com sementes suficientes para uma nova medição de teor de água) foi reidratado em câmara de umidificação até atingir o valor intermediário entre 5 e 11%, equivalente a 8%, conforme mostra a Tabela 33.

Tabela 33: Valores de teor de água (%) utilizados no experimento de conservação de sementes.

Espécie	Teores de Água (%)
	Utilizados
<i>C. fernambucensis</i>	5, 7 e 9
<i>C. fluminensis</i>	5, 7 e 9
<i>P. arrabidae</i>	5, 7 e 9
<i>P. ulei</i>	5, 8 e 11

A utilização de sementes com germinabilidade inferior a 70% para a construção das isotermas pode ter gerado as discrepâncias observadas entre os valores de teor de água esperados e os efetivamente alcançados com as sementes de alta germinabilidade, utilizadas no experimento de conservação. Isto porque os baixos percentuais de germinação, obtidos no experimento preliminar poderiam estar relacionados a diferenças no tegumento ou na composição química destas sementes, por variações no conteúdo de material de reserva, por exemplo, afetando assim sua higroscopicidade e proporcionando hidratação diferenciada (MARCOS FILHO, 2005).

A falta de sementes disponíveis não permitiu o aprofundamento no estudo desta questão, mas para permitir conclusões a este respeito novas isotermas de sorção teriam que ser construídas, utilizando-se sementes de boa germinabilidade.

15.3. Armazenamento e criopreservação

As quatro espécies apresentaram tolerância, tanto à dessecação, como à temperatura sub-zero, como é esperado em sementes com comportamento ortodoxo. Esta característica é muito favorável à conservação destas espécies, em virtude da maior longevidade apresentada em condições de baixa temperatura e umidade (CARDOSO, 2004; MARCOS FILHO, 2005).

O armazenamento em câmara fria também proporcionou condições adequadas à manutenção da viabilidade por 30 dias para as quatro espécies. Contudo, algumas diferenças no resultado entre as espécies foram observadas.

15.3.1. *Cereus fernambucensis*

As determinações de teor de água feitas antes e depois do armazenamento (Tabela 34), mostram que a mudança durante este período, tanto sob temperatura de -196°C como de 10°C, por 30 dias, praticamente não ocorreu.

Tabela 34: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie *C. fernambucensis*.

Armazenamento	Teor de água (%)		
Controle	5	7	9
Criopreservado	5	8	9
Câmara Fria	5	7	9

O percentual de germinação não mostrou diferenças significativas entre os diferentes teores de água e armazenamentos testados. Foi observada, no entanto, interação dos fatores para o tempo médio de germinação, além de diferenças significativas dentro dos fatores isoladamente (Tabela 35).

Tabela 35: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *C. fernambucensis* em função do armazenamento e do teor de água.

FV	GL	PG	TMG
Armazenamento	2	Ns	**
Teor de água	2	Ns	**
Armazenamento x Teor	4	Ns	**
Resíduo	27		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

A partir da Figura 22, pode-se observar altos percentuais de germinação de *C. fernambucensis*, os quais foram obtidos em todos os tratamentos realizados, sem diferirem estatisticamente entre si (Tabela 36).

Tabela 36: Porcentagem média de germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	7	9	
Controle	98,12	95,62	95,62	96,46
Criopreservado	94,37	96,87	91,87	94,37
Câmara Fria	90,62	92,50	95,00	92,71
Média	94,37	95,00	94,17	



Figura 22: Plântulas de *C. fernambucensis* formadas depois da criopreservação das sementes por 30 dias, com teor de água de 7%.

As primeiras sementes a apresentar protrusão da raiz primária foram observadas no sexto dia e contabilizadas como germinadas no sétimo dia experimental, como mostra a Figura 23.

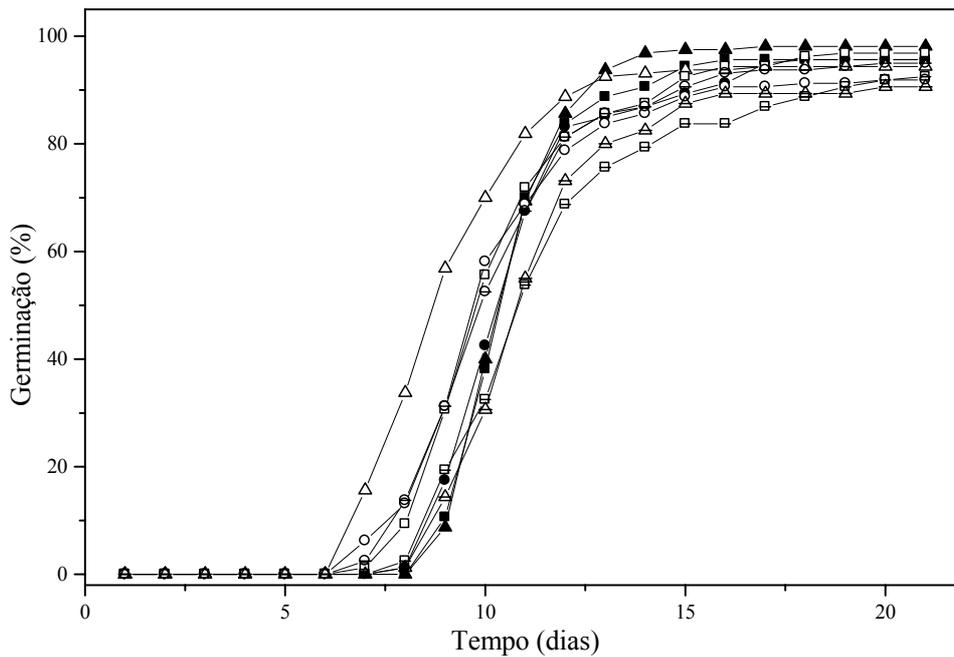


Figura 23: Germinação de *C. fernambucensis* com teores de água de (▲) 5% (■) 7% e (●) 9%. Símbolos sólidos – controle (sem armazenamento), símbolos vazados – armazenamento a -196°C e símbolos cortados – armazenamento a 10°C .

Os valores de tempo médio de germinação variaram entre os tratamentos, sendo o menor encontrado no tratamento de criopreservação a 5% de teor de água (Tabela 37).

Tabela 37: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	7	9	
Controle	10,99aB	11,02aAB	10,99aB	11,00b
Criopreservado	9,31aA	10,74bA	10,44bA	10,16 ^a
Câmara Fria	11,35bB	11,58bB	10,65aAB	11,19b
Média	10,55A	11,11B	10,69A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Também neste experimento foram observados problemas fitossanitários em *C. fernambucensis*, contudo o percentual de plântula afetadas variou entre os tratamentos e não seguiu nenhuma tendência entre os teores de água ou armazenamentos (Tabela 38).

Tabela 38: Porcentagem média de plântulas de *C. fernambucensis* com sintomas de doenças em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)		
	5	7	9
Controle	6,25	0,75	1,50
Criopreservado	7,25	4,75	14,25
Câmara Fria	8,00	21,00	6,50

Em *C. fernambucensis*, apesar de a germinabilidade ter se mantido inalterada em todas as condições testadas, o menor tempo médio para a germinação foi obtido após a criopreservação sob 5% de teor de água, indicando maior vigor nas sementes deste lote. De maneira geral, pode-se dizer que a velocidade de germinação foi maior entre as sementes criopreservadas que as não-armazenadas ou armazenadas a 10°C.

15.3.2. *Coleocephalocereus fluminensis*

Em *C. fluminensis* também foram registradas pequenas mudanças de teor de água antes e depois do armazenamento tanto criogênico como em câmara fria, como mostra a Tabela 39.

Tabela 39: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie *C. fluminensis*.

Armazenamento	Teor de água (%)		
Controle	5	7	9
Criopreservado	5	8	9
Câmara Fria	5	7	8

As características avaliadas mostraram diferenças significativas entre os tratamentos, tanto na interação entre teor de água e armazenamento, como para os fatores isoladamente (Tabela 40).

Tabela 40: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *C. fluminensis* em função do armazenamento e do teor de água.

FV	GL	PG	TMG
Armazenamento	2	**	**
Teor de água	2	**	**
Armazenamento x Teor	4	**	**
Resíduo	27		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

Na Figura 24 há um exemplo das plântulas obtidas de *C. fluminensis* neste experimento; nela está representado o tratamento de criopreservação com teor de água de 9%. Não foram registradas plântulas com problemas fitossanitários nos tratamentos realizados, à exceção do controle com teor de água de 9%, que teve 0,25% das plântulas afetadas.



Figura 24: Plântulas de *C. fluminensis* formadas depois da criopreservação das sementes por 30 dias, com teor de água de 9%.

A protrusão de raiz principal em *C. fluminensis* teve início no sétimo dia, com germinação das sementes a partir do oitavo dia (Figura 25).

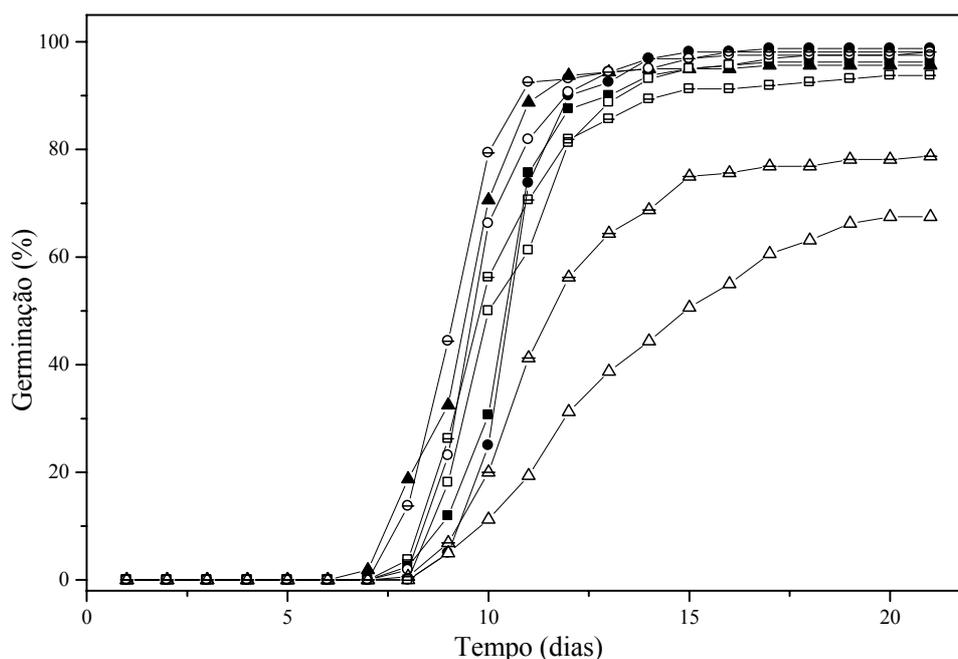


Figura 25: Germinação de *C. fluminensis* com teores de água de (▲) 5%, (■) 7% e (●) 9%. Símbolos sólidos - controle (sem armazenamento), símbolos vazados - armazenamento a -196°C e símbolos cortados - armazenamento a 10°C.

O percentual de germinação foi elevado e estatisticamente igual em todos os tratamentos, com exceção dos dois onde houve armazenamento com 5% de teor de água. Nestes a germinação foi inferior e diferiu entre si, com o tratamento de criopreservação tendo o pior desempenho percentual entre todas as condições testadas (Tabela 41).

Tabela 41: Porcentagem média de germinação de sementes de *C. fluminensis* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	7	9	
Controle	95,62aA	96,25aA	98,75aA	96,87a
Criopreservado	67,50bC	98,12aA	97,50aA	87,71b
Câmara Fria	78,75bB	93,75aA	98,12aA	90,21b
Média	80,62B	96,04A	98,12A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O tempo médio de germinação foi menor e estatisticamente igual nos tratamentos: controle a 5% de teor de água, criopreservado a 7 e 9% de teor de água e armazenado a 10°C com 9% de teor de água. Os maiores tempos médios foram observados nas sementes armazenadas a 5% de teor de água, tanto a 10°C como a -196°C (Tabela 42)

Tabela 42: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *C. fluminensis* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	7	9	
Controle	9,83aA	10,94bA	11,14bB	10,64a
Criopreservado	13,34bC	10,94aA	10,36aA	11,55b
Câmara Fria	11,68cB	10,69bA	9,77aA	10,71a
Média	11,62C	10,86B	10,42A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

As sementes de *C. fluminensis* mostraram queda significativa na germinação depois de armazenadas, em ambas as condições, com teor de água de 5%. O decréscimo germinativo foi ainda mais acentuado no lote submetido à criopreservação, quando comparado ao armazenado em câmara fria. Vertucci & Roos (1990) demonstraram haver um limite de tolerância para a desidratação de sementes, abaixo do qual há aumento nas taxas de deterioração, além de uma tendência deste teor de água ótimo para armazenamento aumentar com a diminuição da temperatura. Para *C. fluminensis*, o teor de água de 5% provavelmente encontra-se abaixo do teor de água ótimo para o seu armazenamento em baixa temperatura. Além disso, a temperatura sub-zero teve influência no aumento dos impactos negativos proporcionados pelo armazenamento sem as condições adequadas, conforme dados apresentados anteriormente por Buitink *et al.* (2000), para as sementes de *Impatiens walleriana* L. e *Pisum sativum* L.

Para Vertucci *et al.* (1994) o teor de água e a temperatura são fatores dependentes entre si sobre os efeitos na longevidade. Assim, um decréscimo acentuado no teor de água das sementes não substitui a refrigeração no armazenamento. Sementes sob teores de água reduzidos a nível extremos podem estar sujeitas a estresse por dessecação.

Os maiores tempos médios também foram observados nos lotes armazenados a 10°C e -196°C com 5% de teor de água. Segundo Marcos Filho (2005), a baixa velocidade de germinação, é um dos indicativos de menor potencial fisiológico, sendo uma das manifestações mais evidentes do processo de envelhecimento. Esta resposta corrobora com a hipótese de que as sementes com este teor de água encontravam-se sob estresse por desidratação, com taxas deteriorativas mais elevadas que sob os demais teores de água testados. Entretanto, cabe ressaltar que a alta velocidade de germinação encontrada no lote de sementes secas a 5%, mas semeadas no controle, mostra a tolerância desta espécie a este teor de água, mesmo que este tenha se mostrado inadequado ao longo do período de armazenamento.

As melhores condições de armazenamento para o período de 30 dias, de acordo com o tempo médio, foram os teores de água 7 e 9% associados a temperatura -196°C e o teor de água de 9% a 10°C.

15.3.3. *Pilosocereus arrabidae*

As alterações de teor de água, antes e depois do armazenamento, também foram mínimas nas sementes de *P. arrabidae*, como se observa na Tabela 43.

Tabela 43: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie *P. arrabidae*.

Armazenamento	Teor de água (%)		
Controle	5	7	9
Criopreservado	5	8	9
Câmara Fria	6	8	9

Nesta espécie não foram registradas diferenças significativas entre os percentuais de germinação para os diferentes tratamentos; com respeito ao tempo médio foram avaliadas diferenças estatísticas somente quanto ao teor de água (Tabela 44).

Tabela 44: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *P. arrabidae* em função do armazenamento e do teor de água.

FV	GL	PG	TMG
Armazenamento	2	Ns	ns
Teor de água	2	Ns	**
Armazenamento x Teor	4	Ns	ns
Resíduo	27		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

As plântulas de *P. arrabidae* não apresentaram problemas fitossanitários sob as condições testadas, na Figura 26 estão representadas as repetições feitas para o tratamento de criopreservação com teor de água de 5%.



Figura 26: Plântulas de *P. arrabidae* formadas depois da criopreservação das sementes por 30 dias, com teor de água de 5%.

O percentual germinativo das sementes foi alto e estatisticamente igual em todos os tratamentos (Tabela 45). As primeiras sementes a apresentar protrusão da raiz principal foram vistas no segundo dia, enquanto que a germinação propriamente dita foi observada entre o terceiro e oitavo dia (Figura 27).

Tabela 45: Porcentagem média de germinação de sementes de *P. arrabidae* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	7	9	
Controle	85,00	87,50	83,12	85,21 _{ns}
Criopreservado	87,50	93,12	92,50	91,04
Câmara Fria	91,25	80,62	87,50	86,46
Média	87,92 _{ns}	87,08	87,71	

ns- não significativo

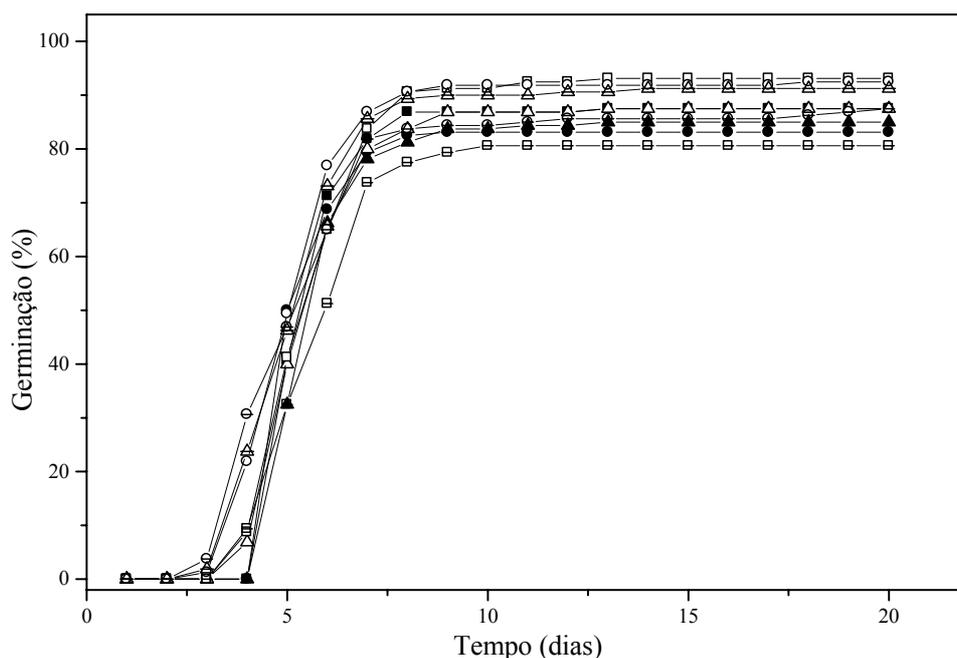


Figura 27: Germinação de *P. arrabidae* com teores de água de (▲) 5%, (■) 7% e (●) 9%. Símbolos sólidos - controle (sem armazenamento), símbolos vazados - armazenamento a -196°C e símbolos cortados - armazenamento a 10°C.

O tempo necessário para germinação diferiu estatisticamente entre os teores de água e foi menor para as sementes com teor de água de 9% (Tabela 46).

Tabela 46: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *P. arrabidae* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	7	9	
Controle	6,01	5,82	5,63	5,82
Criopreservado	5,86	5,95	5,53	5,78
Câmara Fria	5,55	5,98	5,69	5,74
Média	5,81AB	5,92B	5,62A	

Letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

15.3.4. *Pilosocereus ulei*

Os teores de água das sementes tiveram alteração percentual mínima durante o período de armazenamento nas duas condições, conforme indica a Tabela 47.

Tabela 47: Teor de água das sementes (%), avaliado antes (controle) e depois do armazenamento, para a espécie *P. ulei*.

Armazenamento	Teor de água (%)		
Controle	5	8	11
Criopreservado	6	8	12
Câmara Fria	7	9	12

Houve diferença significativa entre os percentuais germinativos e também entre os tempos médios em todas as comparações realizadas, exceto entre os teores de água (Tabela 48).

Tabela 48: Resumo da análise de variância dos resultados de porcentagem de germinação (PG) e tempo médio de germinação (TMG) em sementes de *P. ulei* em função do armazenamento e do teor de água.

	FV	GL	PG	TMG
Armazenamento		2	**	**
Teor de água		2	ns	**
Armazenamento x Teor		4	**	**
Resíduo		27		

** 5% de probabilidade, ns- não significativo

Não foram observados problemas fitossanitários nas plântulas de *P. ulei* nos tratamentos realizados. A Figura 28 apresenta as sementes desta espécie germinadas após a criopreservação sob 5% de teor de água.



Figura 28: Plântulas de *P. ulei* formadas depois da criopreservação das sementes por 30 dias, com teor de água de 5%.

As sementes tiveram início de protrusão de radícula no quarto dia experimental, com germinação ocorrendo a partir do quinto dia e estabilizando próximo ao décimo dia (Figura 29).

De maneira geral, os percentuais germinativos alcançados no controle foram inferiores aos obtidos nos tratamentos de armazenamento. Dentre os tratamentos criogênicos, aquele com teor de 5% foi o de menor germinação e estatisticamente inferior aos demais. Quanto ao armazenamento em câmara fria, a porcentagem de germinação para os três teores de água foi estatisticamente igual entre si e também igual aos de criopreservação com teores de 8 e 11% (Tabela 49)

Tabela 49: Porcentagem média de germinação de sementes de *P. ulei* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	8	11	
Controle	83,75aB	83,75aB	80,62aB	82,71b
Criopreservado	81,25bB	91,25aA	96,88aA	89,79a
Câmara Fria	91,25aA	95,00aA	93,12aA	93,12a
Média	85,42	90,00	90,21	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

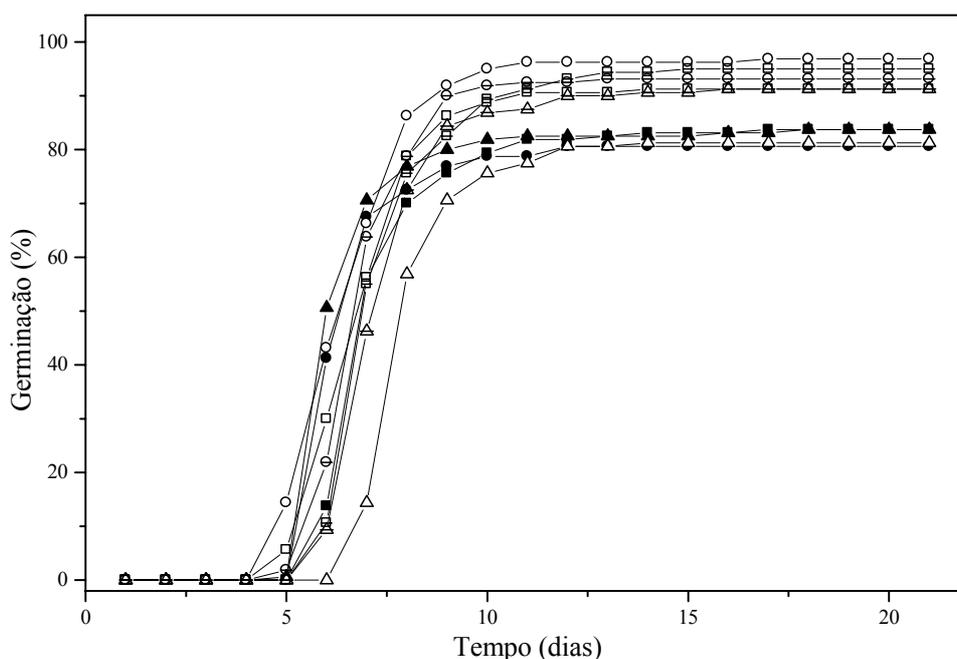


Figura 29: Germinação de *P. ulei* com teores de água de (▲) 5%, (■) 8% e (●) 11%. Símbolos sólidos - controle (sem armazenamento), símbolos vazados - armazenamento a -196°C e símbolos cortados - armazenamento a 10°C.

O tempo médio de germinação foi menor nos tratamentos controle de 5 e 11% e no armazenamento em nitrogênio líquido com teor de água de 11%. O tratamento no qual as sementes permaneceram por 30 dias criopreservadas, com teor de 5%, foi o que necessitou maior tempo para germinação (Tabela 50).

Tabela 50: Tempo médio em dias para germinação de sementes de *P. ulei* em função de armazenamento e teor de água.

Armazenamento	Teor de água (%)			Média
	5	8	11	
Controle	6,79aA	7,56bB	6,84aA	7,06a
Criopreservado	8,40cC	7,23bA	6,95aA	7,53b
Câmara Fria	7,80bB	7,77bB	7,23aB	7,60b
Média	7,66B	7,52B	7,01A	

Letras minúsculas discriminam médias nas colunas e letras maiúsculas discriminam médias nas linhas, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Em *P. ulei*, à exceção do tratamento criogênico com 5% de teor de água, que teve o pior percentual germinativo entre todas as condições testadas, todos os demais tratamentos que envolveram armazenamento tiveram percentuais de germinação superiores aos tratamentos-controle. O desempenho inferior observado no lote a 5% de teor de água conservado no tanque de nitrogênio pode indicar estresse por dessecação, potencializado pela temperatura sub-zero, uma vez que sob este mesmo teor de água o lote controle e armazenado em câmara fria, não mostraram redução na germinação.

Assim como o que foi observado para *C. fluminensis*, em *P. ulei* a redução germinativa também foi acompanhada por aumento no tempo médio para a germinação depois do tratamento criogênico com teor de água de 5%.

Sob os teores de água de 8 e 11% o armazenamento se mostrou favorável ao desempenho das sementes de *P. ulei* quando avaliada a porcentagem de germinação. Pritchard (1988) argumenta que algumas espécies podem ter sua germinabilidade aumentada durante a criopreservação, em consequência da redução da impermeabilidade do tegumento promovida pelas temperaturas ultra-baixas do nitrogênio líquido.

Segundo Walters & Hill (1998), o teor de água ótimo para o armazenamento de sementes se situa entre as regiões de sorção I e II, onde há saturação de sítios fortes de ligação de água. Nas espécies pesquisadas no presente trabalho esta faixa de teor de água está compreendida aproximadamente entre os valores 7,5 e 13%. Com relação a isto, pode-se dizer que os dados aqui obtidos coincidem com esta afirmação, tendo as quatro espécies apresentado boas respostas germinativas dentro deste intervalo de teor de água e duas delas, *C. fluminensis* e *P. ulei*, mostraram evidências de decréscimo de vigor e viabilidade quando sob teor de água inferior a esta faixa, ou seja, equivalente a 5%.

Este estudo demonstrou que a criopreservação é um método válido para estas espécies de cactáceas, sendo favorável a sua conservação. Contudo, testes que envolvam períodos de armazenamento mais prolongados podem auxiliar no entendimento do comportamento das sementes sob estas condições.

16. CONCLUSÕES

- As sementes das cactáceas *C. fernambucensis*, *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei* apresentam isoterma de sorção com formato sigmoidal inverso;
- Teores de água próximos a 7% são adequados ao armazenamento de sementes de *C. fernambucensis*; *C. fluminensis*, *P. arrabidae* e *P. ulei*, tanto em câmara fria a 10°C como criopreservado a -196°C;
- A criopreservação por 30 dias não afeta a germinação e o vigor das sementes das quatro espécies, quando armazenadas com teores de água próximos a 7%.

17. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, Francisco de Assis Cardoso; FONSECA, Katia Simone; GOUVEIA, Josivanda Palmeira Gomes de. Armazenamento e Processamento de produtos agrícolas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.3, n.3, p.343-348, 1999.

ARAÚJO, Eduardo Fontes; CORRÊA, Paulo César; SILVA, Roberto Ferreira da. Comparação de modelos matemáticos para descrição das curvas de dessecamento de sementes de milho-doce. *Pesq. Agropec. Bras*, Brasília, v.36, n.7, p.991-995; 2001.

ARNOSTI JR., S.; FREIRE, J.T., SARTORI, D.J.M.; BARROZO, M.A.S. Equilibrium moisture content of *Brachiaria brizantha*. *Seed Science & Technology*, Zürich, v.27, p.273-282, 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura. LANARV/SNAD/MA. *Regras para Análise de Sementes*. Brasília, DF, 1992. 365p.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente, Rede Brasileira de Jardins Botânicos, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Botanic Gardens Conservation International. *Normas Internacionais de Conservação de Jardins Botânicos*. Rio de Janeiro: EMC, 2001. 109p.

BUITINK, Julia; LEPRINCE, Olivier; HEMMINGA, Marcus A.; HOEKSTRA, Folkert A. Molecular mobility in the cytoplasm: An approach to describe and predict lifespan of dry germplasm. *PNAS*, Washington, v.97, n.5, p.2385-2390. 2000.

CARDOSO, Victor José Mendes. Germinação. *In: Kerbauy, Gilberto Barbante. Fisiologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S/A. 1ª Ed, 2004. p. 386-408.

CASTRO, Renato Delmondez de; BRADFORD, Kent J.; HILLHORST, Henk W. M. Desenvolvimento de sementes e conteúdo de água. *In: Ferreira, Alfredo Gui; Borghetti, Fabian. Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.51-67.

CORRÊA, Paulo C.; AFONSO JÚNIOR, Paulo C.; RIBEIRO, Deise M.; SILVA, Fabrício S. da. Equilíbrio higroscópico de milheto, alpiste e painço: Obtenção e modelagem. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Campina Grande, v.10, n.1, p.162-167, 2006.

DUSSERT, Stéphane; CHABRILLANGE, Nathalie; ENGELMANN, Florent; ANTHONY, François; LOUARN, Jacques; HAMON, Serge. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): Importance of water content and cooling rate. *Seed Science Research*, Wallingford, v.8, p.9-15, 1998.

FANTINATTI, Jussara Bertho; USBERTI, Roberto; BROD, Fernando Pedro. Isotermas de sorção de sementes de *Eucalyptus grandis* e *Pinus taeda*. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.27, n.2, p.06-11, 2005.

FRANCISCO, Fabiana Gonçalves; USBERTI, Roberto; TONELI, Juliana Tofano de Campos Leite. Ajuste de isotermas de sorção de sementes de cultivares de feijoeiro. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.29, n.1, p.35-39, 2007.

GODÍNEZ-ÁLVAREZ, Héctor. Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*. New York, v.69, n.2, p.173-203, 2003.

GONZÁLEZ-BENITO, M. Elena; FERNÁNDEZ-LLORENTE, F.; PÉREZ-GARCIA, Félix. Interaction Between Cryopreservation, Rewarming Rate and Seed Humidification on the Germination of Two Spanish Endemic Species. *Annals of Botany*, London, v.82, p.683-686, 1998.

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

HOR, Y.L.; KIM, Y.J.; UGAP, A.; CHABRILLANGE, N.; SINNIH, U.R.; ENGELMANN, F.; DUSSERT, S. Optimal hydration status for cryopreservation of intermediate oily seeds: Citrus as a case study. *Annals of Botany*, London, v.95, p.1153-1161, 2005.

HUNT, D. (Comp.) *Cites Cactaceae Checklist*. 2 ed. Kent. Whitstable Litho Ltd, Whitstable, 1999. 315p.

IUCN. *IUCN Red List of Threatened Species*, IUCN Species Survival Commission, The World Conservation Unit. Disponível em <http://www.iucnredlist.org/search/search-basic> em 20/03/2007.

KUROZAWA, Louise E.; EL-AOUAR, Ânoar A.; MURR, Fernanda, E. Obtenção de isotermas de dessecamento de cogumelo *in natura* e desidratado osmoticamente. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 25, n.4, p.828-834, 2005.

LEHN, Daniel Neutzling; PINTO, Luiz Antonio de Almeida. Isotermas de equilíbrio e curvas de secagem para arroz em casca em silos de armazenagem. *Engenharia na Agricultura*, Viçosa, v.12, n.3, p. 177-191, 2004.

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

MENKOV, NIKOLAY, D. Moisture sorption isotherms of chickpea seeds at several temperatures. *Journal of Food Engineering*, Amsterdam, v.45, p.189-194, 2000.

MERRIT, D.J.; TOUCHELF, D.H.; SENARATNA, T.; DIXON, K.W.; SIVASITHAMPARAM, K. Water sorption characteristics of seeds of four western Australian species. *Australian Journal of Botany*, Collingwood, v.53, p.85-92, 2003.

MESQUITA, João Basílio; ANDRADE, Ednilton Tavares de; CORRÊA, Paulo Cesar. Modelos matemáticos e curvas de umidade de equilíbrio de sementes de jacarandá-dabahia, angico-vermelho e óleo-copaíba. *Cerne*, Lavras, v.7, n.2, p.12-21, 2001

MOLINA, Tatiana Fuentes; TILLMANN, Maria Ângela André; DODE, Luciana Bicca; VIÉGAS, Judith. Crioconservação em sementes de cebola. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.28, n.3, p.72-81, 2006.

NUNES, Eduardo da Costa; BENSON, Erica E.; OLTRAMARI, Ana Carla; ARAUJO, Patricia Sibila; MOSER, Juliana Righetto; VIANA, Ana Maria. *In vitro* conservation of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae), a native tree of the Brazilian Atlantic Forest. *Biodiversity and Conservation*, Dordrecht, v.12, p.837-848, 2003.

PRITCHARD, H.W.; MANGER, K.R.; PRENDERGAST, F.G. Changes in *Trifolium arvense* seed quality following alternating temperature treatment using liquid nitrogen. *Annals of Botany*, London, v.62, p.1-11, 1988.

PRITCHARD, Hugh W. Cryopreservation of Seeds. In: DAY, John G.; MCLELLAN, Mark R. *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. Humana Press Inc, 1995. p. 133-144.

REED, Barbara M.; DUMET, Dominique; DENOMA, Jeanine M.; BENSON, Erica E. Validation of cryopreservation protocols for plant germplasm conservation: a pilot study using *Ribes* L. *Biodiversity and Conservation*. Dordrecht, v.10, p.939-949, 2001.

ROOS, E.E.; STANWOOD, P.C. Effects of low temperature, cooling rate, and moisture content on seed germination of lettuce. *J. Am. Soc. Horti. Sci.* v. 106, p.30-34, 1981.

SALOMÃO, Antonieta Nassif. Tropical seed species responses to liquid nitrogen exposure. *Braz. J. Plant Physiol*, v.14, n. 2, p.133-138, 2002.

SANTOS, Izulmé R. I. Crioconservação de germoplasma vegetal. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, v.20, p.60-65, 2001.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 3ª Ed. 2004. 719p.

TOLEDO, Mariana Zampar; CAVARIANI, Cláudio; NAKAGAWA, João; ALVES, Elza. Efeitos do ambiente de armazenamento na qualidade de sementes de sorgo-sudão. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília v.29, n.2, p.44-52, 2007.

TOUCHELL, D.H.; DIXON, K.W. Cryopreservation of seed of Western Australian native species. *Biodiversity and Conservation*, Dordrecht, v.2, p.594-602, 1993.

VERTUCCI, Christina W.; LEOPOLD, Carl. A. Water Binding in Legume Seeds. *Plant Physiol*, v.85, p.224-231, 1987.

VERTUCCI, Christina W.; ROOS, Eric E. Theoretical Basis of Protocols for Seed Storage. *Plant Physiol*, v.94, p.1019-1023, 1990.

VERTUCCI, Christina W.; ROOS, Eric E. Theoretical basis of protocols for seed storage II. The influence of temperature on optimal moisture levels. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 3, p.201-203, 1993.

VERTUCCI, Christina W.; ROOS, Eric E.; CRANE, Jennifer. Theoretical basis of protocols for seed storage III. Optimum Moisture Contents for Pea Seeds Stored at Different Temperatures. *Annals of Botany*, London. v.74, p.531-540, 1994.

VILLELA, F.A. Water relations in seed biology. *Sci. agr.*, Piracicaba, v.55, p.98-101, 1998.

VILLELA, Francisco Amaral; PERES, Wolmer Brod. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In: Ferreira, Alfredo Gui; Borghetti, Fabian. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-281.

ZAR, Jerrold H. *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice-Hall, 4ª Ed, 1999, 663pp.

WALTERS, Christina; HILL, Lisa M. Water sorption isotherms of seeds from ultradry experiments. *Seed Science Research*, Wallingford, v.8, n.1, p.69-73, 1998.

WALTERS, Christina; WHEELER, Lana; STANWOOD, Phillip C. Longevity of cryogenically stored seeds. *Cryobiology*. v. 48, p.229-244, 2004.

ANEXO III

Tabela 51: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *C. fernambucensis* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	84,72	42,36	1,42	0,26
Teor de água	2	4,51	2,26	0,07	****
Interação A x T	4	100,69	25,17	0,84	****
Resíduo	27	807,81	29,92		

Coeficiente de Variação = 5,79

Tabela 52: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *C. fernambucensis* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	7,22	3,61	24,06	0,00
Teor de água	2	2,03	1,02	6,78	0,00
Interação A x T	4	4,32	1,08	7,20	0,00
Resíduo	27	4,05	0,15		

Coeficiente de Variação = 3,59

Tabela 53: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *C. fluminensis* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	538,89	269,44	8,42	0,00
Teor de água	2	219,06	109,53	34,27	0,00
Interação A x T	4	1105,90	276,48	8,64	0,00
Resíduo	27	864,06	32,00		

Coeficiente de Variação = 6,18

Tabela 54: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *C. fluminensis* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	6,16	3,08	17,32	0,00
Teor de água	2	8,74	4,37	24,56	0,00
Interação A x T	4	22,38	5,59	31,43	0,00
Resíduo	27	4,80	0,18		

Coeficiente de Variação = 3,85

Tabela 55: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *P. arrabidae* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	226,39	113,19	2,10	0,14
Teor de água	2	4,51	2,26	0,04	****
Interação A x T	4	342,36	85,59	1,58	0,21
Resíduo	27	1457,81	53,99		

Coeficiente de Variação = 8,39

Tabela 56: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *P. arrabidae* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	0,03	0,02	0,26	****
Teor de água	2	0,56	0,28	4,18	0,03
Interação A x T	4	0,50	0,13	1,88	0,14
Resíduo	27	1,81	0,07		

Coeficiente de Variação = 4,47

Tabela 57: Análise de variância dos resultados obtidos de germinação de sementes de *P. ulei* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	679,17	339,58	9,96	0,00
Teor de água	2	176,04	88,02	2,58	0,09
Interação A x T	4	379,17	94,79	2,78	0,05
Resíduo	27	920,31	34,09		

Coeficiente de Variação = 6,59

Tabela 58: Análise de variância dos resultados obtidos de tempo médio de germinação de *P. ulei* em função de armazenamento e teor de água.

FV	GL	SQ	QM	F	Signif.
Armazenamento	2	2,04	1,02	20,40	0,00
Teor de água	2	2,88	1,44	28,76	0,00
Interação A x T	4	4,21	1,05	21,04	0,00
Resíduo	27	1,35	0,05		

Coeficiente de Variação = 3,02