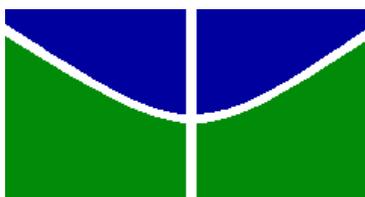


**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**Caracterização das reservas das sementes e avaliação da  
germinação e formação de plântulas de nove espécies  
arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia**

Risolandia Bezerra de Melo

Brasília, 08 de Março de 2013



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA**

**Caracterização das reservas das sementes e avaliação da  
germinação e formação de plântulas de nove espécies  
arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia**

Dissertação apresentada ao  
Departamento de Botânica da  
Universidade de Brasília como requisito  
parcial para à obtenção do título de  
Mestre em Botânica.

Risolandia Bezerra de melo

Orientadora: Cristiane da Silva Ferreira, PhD.

Brasília, 08 de Março de 2013

Risolandia Bezerra de Melo

**Caracterização das reservas das sementes e avaliação da germinação e formação de plântulas de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia**

Dissertação produzida junto ao Programa de Pós Graduação em Botânica da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Botânica.

Banca examinadora:

---

Dra. Cristiane da Silva Ferreira  
Departamento de Botânica, UnB  
(Orientador, Presidente da Banca Examinadora)

---

Dra. Maria Teresa Fernandez Piedade  
Departamento de Ecologia, INPA  
(Membro Titular da Banca Examinadora)

---

Dr. Clóvis Oliveira Silva  
Departamento de Botânica, UnB  
(Membro Titular da Banca Examinadora)

---

Dra. Sarah Christina Caldas Oliveira  
Departamento de Botânica, UnB  
(Membro Suplente da Banca Examinadora)

Brasília, 08 de Março de 2013

## **Dedico**

“A Jeová Deus, pois suas qualidades invisíveis são claramente vistas... porque são percebidas por meio das coisas feitas, mesmo seu sempiterno poder e Divindade, de modo que eles são inescusáveis.”

Romanos 01:20

## Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Prof<sup>a</sup> Cristiane Ferreira, por esses dois anos de orientação, que com certeza foram de grande aprendizado, e pela oportunidade de poder conhecer um pouco desses ambientes tão esplendidos que são as florestas alagáveis Amazônicas. Muito obrigada!!

Agradeço ao Programa Reuni/Capes pela bolsa de Mestrado e ao projeto CAPES/PNADB que possibilitou minha ida a Manaus para a coleta das sementes.

Á Prof. Maria Teresa F. Piedade, por me receber de forma muito alegre em seu laboratório no INPA, pelo apoio a esse trabalho. Agradeço enormemente.

Á Prof. Veridiana Scudeller e sua família por ter me acolhido de foram tão esplendida em sua casa em Manaus. Agradeço pelo auxílio para realização das coletas e pelos conhecimentos gastronômicos. Muitíssimo obrigada!

Ao Prof. Augusto Franco por me permitir usar as instalações de seu laboratório.

Á Prof. Sarah Caldas pelas ideias compartilhadas, incentivo, apoio e pelas conversas agradáveis. E não poderia deixar de agradecer também pelos doces e bolos maravilhosos. Muitíssimo obrigada por tudo!!!

Ao Prof. Clóvis Oliveira por me propiciar a aprendizagem de uma técnica de extração de carboidratos de parede celular e apoio prestado para a conclusão dessas análises.

Á minha querida amiga Manuela pela companhia, conversas, almoços, cafés e pelas vitaminas para tentar me engordar... Em fim por todo apoio durante o tempo que estive em Manaus-AM. Sou imensamente grata.

Aos colegas pesquisadores, aos técnicos, barqueiros e estagiários do Projeto INPA/Max-Planck, obrigada por terem me recebido de forma calorosa, e em especial pelo apoio no campo.

Ao meu querido amigo William pela ajuda durante nossas aventuras no campo, pela ótima companhia em viagens, disciplinas, trabalhos e momentos agradáveis, pelos

conselhos que algumas vezes dava, e que faziam toda a diferença e todo o demais durante esses anos.

Ao Davi Rossatto pelas orientações em estatística.

Á Nádia pelas conversas agradáveis e seu modo gentil com que sempre me atendeu.

A todos os técnicos e estagiários do laboratório de Fisiologia Vegetal da UnB. Em especial ao Fábio Nakamura por participar das divertidas engenhosidades para adaptar os aparelhos para que eu pudesse realizar as análises, pois segundo ele “pesquisar também é se divertir”, e pelas conversas sobre os mais diferentes assuntos, política, cultura, ciência, UnB e outros.

Ao amigo Marcio Rocha pelos conselhos, cafés, conversas sobre uma infinidade de assuntos, e pela companhia durante o tempo que estive na UnB.

A meu amigo Raphael pela companhia em disciplinas, pelas muitas conversas engraçadas.

Á minha amiga Dessiré pela ótima companhia em disciplina, trabalhos e conversas agradáveis.

Á minha amiga Margarete por ter me emprestado os potes plásticos que tanto precisava, e as muitas conversas divertidas.

A todos os meus colegas de mestrado!

Á minha irmã Juliana Melo pela muitas vezes que ficou no laboratório comigo, o apoio, as horas que ficou escutando eu falar sobre meu trabalho, sua paciência nos momentos difíceis, às ajudas e por sempre ter estado ao meu lado durante esses dois anos. Sou eternamente grata!!

À minha irmã Neide pelo apoio, incentivo, ajuda e compreensão durante esse tempo.

À minha mãe, meu pai pelo amor que me dedicaram, pelo exemplo de força e determinação, pelo apoio e ajuda. Sou infinitamente grata.

E a todos que não mencionei aqui, mas que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

## Sumário

Resumo .....	1
Abstract.....	2
I. INTRODUÇÃO GERAL .....	3
II. OBJETIVO GERAL .....	6
III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	6
IV. HIPÓTESES .....	6
V. METODOLOGIA GERAL .....	7
VI. REFERÊNCIAS .....	12
CAPÍTULO I Caracterização morfológica e bioquímica de sementes de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia .....	16
1. INTRODUÇÃO.....	17
<b>1.1. Referencial teórico.....</b>	18
<b>1.2. Carboidratos de reserva .....</b>	19
<b>1.2.1. Amido .....</b>	19
<b>1.2.2. Sacarose e oligossacarídeos da série rafínosica .....</b>	20
<b>1.2.3. Polissacarídeos de reserva de parede celular - PRPC.....</b>	20
<b>1.3. Lipídeos .....</b>	22
<b>1.4. Proteínas.....</b>	23
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	24
<b>2.1. Descrição morfológica e biometria das sementes .....</b>	24
<b>2.2. Análises bioquímicas das reservas de sementes.....</b>	24
<b>2.2.1. Extração e dosagem de proteínas totais .....</b>	25
<b>2.2.3. Extração e dosagem de lipídeos totais .....</b>	25
<b>2.2.4. Reservas não compactadas .....</b>	26
<b>2.2.4.1. Extração e dosagem de açúcares solúveis totais (AST):.....</b>	26
<b>2.2.5. Reservas compactadas .....</b>	26
<b>2.2.5.1. Quantificação de Amido.....</b>	26
<b>2.2.5.2. Análise de polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC).....</b>	27
<b>2.3. Análise estatística .....</b>	28
3. RESULTADOS .....	28
<b>3.1. Descrição morfológica e biométrica das sementes.....</b>	28
<b>3.2. Análise da composição bioquímica das sementes .....</b>	31
<b>3.2.1. Reservas totais .....</b>	31
<b>3.2.2. Reservas de carboidratos nas sementes.....</b>	31

4. DISCUSSÃO .....	35
<b>4.1. Análise bioquímica das sementes</b> .....	35
5. CONCLUSÕES .....	38
6. REFERÊNCIAS .....	39
CAPÍTULO II Germinação, formação, crescimento inicial e recuperação pós alagamento de plântulas de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia.....	45
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
<b>2.1. Classificação do tamanho da semente</b> .....	48
<b>2.2. Germinação</b> .....	48
<b>2.3. Experimento de alagamento: formação e crescimento inicial de plântulas</b> .....	50
<b>2.4. Recuperação de plântulas após o alagamento</b> .....	50
<b>2.5. Massa seca de plântulas</b> .....	50
<b>2.6. Análises Estatísticas</b> .....	51
3. RESULTADOS .....	52
<b>3.1. Tamanho da semente</b> .....	52
<b>3.2. Germinação</b> .....	52
<b>3.2. Formação e crescimento inicial de plântulas</b> .....	54
<b>3.4. Recuperação de plântulas após o alagamento</b> .....	57
4. DISCUSSÃO .....	57
<b>4.1. Tamanho da semente</b> .....	57
<b>4.2. Germinação</b> .....	58
<b>4.3. Formação e crescimento inicial de plântulas</b> .....	60
<b>4.4. Recuperação de plântulas após o alagamento</b> .....	61
<b>4.5. Massa seca das sementes <i>versus</i> biomassa das plântulas</b> .....	61
5. CONCLUSÕES .....	62
6. REFERÊNCIAS .....	63
7. ANEXOS .....	69

## Lista de Tabelas

### Introdução Geral

**Tabela 1.** Espécies utilizadas nesse estudo para análise germinativa e bioquímica, proveniente das florestas de várzea (Vz) e igapó (Ig).....9

### Capítulo 1

**Tabela 1.** Morfologia externa (forma, coloração e textura) e valores médios, seguido de desvio padrão, do comprimento (C), altura (A) e espessura (E) das sementes. A dimensão dos quadrados em todas as fotos corresponde  $1\text{cm}^2$ ,  $n = 50$ .....29

**Tabela 2.** Valores em porcentagem dos tipos de reserva de carboidratos, presentes nas reservas das sementes de nove espécies arbóreas das florestas alagáveis da Amazônia.....32

**Tabela 3:** Composição (%) dos açúcares solúveis das sementes de nove espécies arbóreas das florestas inundáveis da Amazônia.....33

**Tabela 4.** Composição (%) dos monossacarídeos de reserva de parede celular, nas sementes de nove espécies arbóreas das florestas inundáveis da Amazônia. ....34

### Capítulo 2

**Tabela 1.** Massa seca de sementes de nove espécies arbóreas das florestas alagáveis da Amazônia. Classe  $1 \leq 1\text{g}$  e a Classe  $2 > 1\text{g}$ . Média  $\pm$  desvio padrão.....51

**Tabela 2. Tabela 2.** Crescimento (cm) inicial e biomassa de plântulas do controle de oito espécies de florestas alagáveis da Amazônia. Médias  $\pm$  erro padrão,  $n = 20$ .....55

## Lista de Figuras

### Introdução Geral

**Figura 1.** Mapa das áreas de coleta das sementes nas áreas de várzea (Ilha de Marchantaria e cercanias) e as áreas de igapó próximas a Manaus (RDS do Tupé e Tarumã-mirim). Fonte: Google mapas/2011.....8

## Capítulo 1

**Figura 1.** Componentes (%) das sementes de nove espécies arbóreas das florestas inundáveis da Amazônia (várzea e igapó). Número de 1 a 9 corresponde às espécies: 1. *A. subdimidiata*; 2. *L. corymbulosa*; 3. *P. glomerata*; 4. *C. tapia*; 5. *P. Munguba*; 6. *G. americana*; 7. *E. inundata*; 8. *S. guianensis*; 9. *P. discolor*.....31

**Figura 2.** Porcentagem (%) de amido e PRPC e açúcares solúveis que constituem as reservas de carboidratos totais das sementes.....32

## Capítulo 2

**Figura 1.** Porcentagem de germinação de sementes submetidas a alagamento e controle. Símbolos: Alagado ■ e controle □ (\*) indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste de Fisher ( $P < 0,05$ ), seta a ausência de sementes germinadas. Barras indicam médias  $\pm$  erro padrão.....52

**Figura 2.** Dendograma da análise de cluster. Divisão de acordo a germinação e o tempo médio de germinação. Germinação rápida (GR) e germinação lenta (GL).....53

**Figura 3.** Produção de plântulas alagadas e não-alagadas de espécies arbóreas de florestas inundáveis da Amazônia de acordo o número de sementes germinadas. Símbolo (\*) indica diferença estatística entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Barras indicam médias  $\pm$  erro padrão. Alagado ■ e controle. □ .....54

**Figura 4:** Tempo (dias) que as plântulas do experimento de alagamento, das oito espécies das florestas inundáveis da Amazônia permaneceram alagadas até que aparecessem sinais de necrose na radícula.....55

**Figura 5.** Porcentagem de sobrevivência de plântulas produzidas em condições de alagamento, quando observadas por vinte dias no pós-alagamento.....56

## Resumo

Árvores que colonizam as áreas alagáveis da Amazônia ficam expostas a longos períodos de inundação. Para sobreviver a essas condições e garantir a perenização da espécie, as plantas precisam dispor de estratégias de tolerância ao alagamento evidenciadas a partir da formação da semente. Esse trabalho teve por objetivo analisar características morfológicas e bioquímicas de sementes de nove espécies lenhosas que habitam as cotas mais baixas do gradiente de inundação nas florestas alagáveis da Amazônia Central e avaliar a germinação e a formação de plântulas dessas espécies em condições de alagamento. O resultado da análise das reservas totais contidas na semente mostrou que as espécies investem na produção de reservas compactadas (carboidratos estruturais e lipídeos), que são mobilizados após a germinação das sementes para uso durante o desenvolvimento da plântula. As reservas de carboidratos foram compostas, na sua maior parte, por polissacarídeos de reserva de parede celular, que diferiram muito quanto ao tipo entre as espécies, conforme indicado pelas proporções de monossacarídeos. Para os açúcares solúveis as maiores concentrações verificadas foram de sacarose e rafinose. A análise da germinação e formação de plântulas mostrou que de maneira geral as espécies estudadas apresentaram adaptações à colonização dentro de ambientes sujeitos a frequentes inundações como as que ocorrem nas florestas alagáveis da Amazônia, pois todas as espécies com exceção de *P. discolor*, germinaram e formaram plântulas na água. Em algumas espécies as porcentagens de formação de plântulas na água foram bem altas, como verificado para *Crateva tapia*, *Eugenia inundata* e *Albizia subdimidiata* (> 80%). As plântulas formadas na água permaneceram até mais de 30 dias em condições de alagamento e, quando retiradas da água, a maioria conseguiu se recuperar. A maioria das espécies estudadas possui sementes com rápida germinação, até mesmo em condições de alagamento (<10 dias), uma vez que não houve diferença estatisticamente significativa do tempo de germinação entre os experimentos de alagamento e controle. O conjunto das características detectadas parece promover estratégias eficazes para a manutenção das populações das espécies estudadas, o que é confirmado por sua ampla ocorrência nas florestas alagáveis Amazônicas.

**Palavras-chave:** Amazônia Central, Florestas alagáveis, Tolerância a alagamento, Morfologia das sementes Bioquímica, Germinação, Formação de Plântulas.

## **Abstract**

Tree species that colonize the Amazonian floodplains are subjected to long periods of submersion. To survive these conditions and ensure the perpetuation of the species, they need to have strategies for flood tolerance that should be evidenced from the formation of the seed. The goal of this study was to analyze morphological and biochemical seed characteristics of nine woody species that inhabit the lower portions of the flood-level gradient in the Central Amazonian floodplains and to evaluate germination and seedling formation of these species in water. All nine species are of widespread occurrence within the Amazonian floodplains. The result of analysis of total reserves contained in the seed showed that species invest in producing compacted reserves (structural carbohydrates and lipids) that are deployed after seed germination for use during the development of the seedling. Storage carbohydrates were composed in greater part by reserve cell wall polysaccharides, which differed greatly on the type among the nine species, as indicated by the different proportions of monosaccharides. For the soluble sugars higher concentrations were observed of sucrose and raffinose. Analysis of germination and seedling development showed that overall species are adapted to colonization of environments that are subjected to frequent floods, for all species, with the exception of *Parkia discolor*, germinated and formed seedlings in water. *Crateva tapia*, *Eugenia inundata* and *Albizia subdimidiata* were the ones with higher percentages of germination and seedling development in water (> 80%). Plantlets formed under these conditions remained in water and were able to withstand over 30 days of flooding and most of them were able to recover when removed from the water. Most species have seeds that germinate quickly, even in flooded conditions (<10 days), since there was no statistically significant difference in germination time between controls and submerged seeds. Overall, we conclude that these characteristics seem to promote effective strategies for maintaining populations of the studied species in the Amazonian floodplains.

**Key-words:** Amazonian floodplains, Tolerance to flooding, Biochemistry, Germination, Seeds Morphology, Germination, Seedlings Formation.

## I. INTRODUÇÃO GERAL

Na Amazônia Central, as florestas alagáveis associadas aos grandes rios são ambientes sujeitos a condições de inundação extremas que impõem a algumas árvores e, principalmente às plântulas, períodos anuais de inundação superiores a 200 dias (Parolin, 2000). A elevada altura da coluna de água (cerca de 10m) estabelece no ambiente a existência, ao longo do ano, de uma fase aquática e uma fase terrestre para as espécies que ali habitam (Junk *et al.* 1989). A composição florística nas áreas alagáveis é influenciada por uma combinação de fatores como a frequência e a duração da inundação, a tolerância das plântulas à saturação hídrica do solo e às características físico-químicas do solo, dado que a tolerância ao alagamento difere entre espécies (Kozłowski 1984, Pezeshk, 2001, Piedade *et al.* 2001). A capacidade das plantas habitando esses ambientes de tolerar longos períodos anuais de inundação está intimamente ligada à evolução de adaptações, fisiológicas, morfológicas, anatômicas e fenológicas, que lhes confere um desenvolvimento e reprodução eficientes (Kozłowski, 1997; Schongart *et al.* 2002; Oliveira-Wittmann *et al.*, 2007; Ferreira *et al.* 2009).

As florestas alagáveis amazônicas constituem a maior área de florestas inundáveis do mundo, ocupam o total de 350.000 km<sup>2</sup>, que equivale a mais de 6% da Amazônia brasileira (Junk *et al.* 2010; Melack e Hess, 2010). São classificadas segundo a cor, físico-química e a área de captação das águas em várzeas e igapós (Sioli, 1951; Prance 1979). As várzeas são florestas inundadas por rios de água branca ou lamacenta, são extremamente férteis, pois os rios associados a essas áreas carregam muitos sedimentos em suspensão, devido a sua origem, nas regiões montanhosas dos Andes e encostas pré-andinas. Já os igapós são alagados por rios de águas pretas ou claras, que drenam regiões de solos arenosos, bastante erodidos, pobres em nutrientes, pois se originam em áreas geologicamente antigas do escudo das Guianas e do Brasil Central, são águas ácidas, pobres em nutrientes e carregadas de matéria orgânica diluída (Prance, 1979; Junk, 1993; Furch, 1984; Junk, 1984; Junk, 1993).

Uma peculiaridade das florestas alagáveis é a distribuição das espécies arbóreas ao longo de um gradiente de inundação, ficando a maioria delas restritas a limitadas faixas topográficas. A distribuição, a composição e a riqueza nas florestas de várzea está diretamente ligada à duração do período de inundação e à altura da coluna de água (Wittmann *et al.*, 2004; Parolin *et al.* 2004; Piedade *et al.* 2005). Plantas que ocupam as cotas mais baixas no gradiente de inundação são mais adaptadas a essas condições do que aquelas que ocupam cotas mais altas (Wittmann *et al.*, 2002). Assim, o zoneamento

de espécies ao longo do gradiente de inundação nas florestas alagáveis da Amazônia é resultado dos diferentes níveis de adaptações desenvolvidos por essas plantas, para sobreviver nesses ecossistemas (Wittmann *et al.* 2002; 2006; Wittmann e Junk, 2003; Piedade *et al.* 2005).

A exposição ao alagamento causado pelas enchentes anuais nas áreas alagáveis amazônicas é uma das principais causas de estresse, o que levou à grande variedade de adaptações encontradas nas plantas desses ecossistemas. Estudos mostram que espécies de florestas sazonalmente inundadas podem apresentar adaptações semelhantes, como as respostas fenológicas das plantas do Delta do Okavango, na África, da várzea do Mekong, no Sudeste da Ásia, das planícies aluviais do norte da Austrália que assim como muitas das espécies de árvores das várzeas amazônicas, perdem suas folhas durante o período de cheia (Parolin e Wittmann, 2010). Outra característica observada nas florestas inundáveis amazônicas, é que a maioria das plantas sincroniza sua floração e frutificação com o pulso de inundação, dispersando os diásporos durante o pico máximo da cheia, período que antecede a descida do nível das águas (Kubitzki e Ziburski, 1994; Parolin e Wittmann, 2010). A semente, ao cair na água, pode flutuar ou ficar submersa, permanecendo viável durante vários meses até que as condições se tornem propícias para a germinação. Durante esse período, sementes de espécies como *Pseudobombax munguba* podem emitir radícula ou até mesmo produzir uma planta enquanto flutuam (Oliveira-Wittmann *et al.* 2007; Parolin, 2009). Outras, como é o caso de *Himatanthus sucuuba*, o fazem mesmo submersas (Ferreira *et al.* 2007). Nesses ambientes a estação seca (quando os níveis de precipitação são mínimos) coincide com os dois a três primeiros meses do estabelecimento e crescimento inicial das plântulas, quando se ocorrem os maiores índices de mortalidade de plântulas (Piedade *et al.* 2000). Assim, o modo como as plantas reagem aos efeitos da seca ou pós-alagamento, é um fator importante que influencia a sobrevivência e o estabelecimento de plântulas nesses ecossistemas (Parolin *et al.* 2010).

Segundo Ferreira *et al.*, (2009), a sobrevivência e o crescimento inicial de plântulas nas planícies aluviais da Amazônia podem ser fortemente influenciados pelas reservas disponíveis nas sementes. Isto ocorre porque, os compostos acumulados nas sementes podem funcionar tanto como fonte de energia para manter processos metabólicos em funcionamento e/ou como fonte de matéria para a produção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula. Uma vez dispersas as sementes se tornam indivíduos independentes da planta mãe podendo se desenvolver em outro local com

suas próprias reservas nutritivas, armazenadas principalmente na forma de carboidratos, lipídios e proteínas (Buckeridge *et al.* 2004). O estabelecimento das plântulas durante o crescimento heterotrófico envolve o uso metabolicamente controlado dessas reservas (mobilização e partição dos produtos) até que elas sejam capazes de extrair do ambiente os recursos necessários ao seu crescimento (Buckeridge *et al.* 2004).

Os ecossistemas alagáveis constituem ambientes extremamente frágeis e estão em constante e crescente pressão devido a exploração inadequada de seus recursos e as mudanças no uso da terra (Junk e Piedade, 1997). Além destas, mudanças hidrológicas e climáticas são de grande importância, pois elas têm, como efeito direto o aumento do período de seca, diminuição da disponibilidade de água subterrânea e periodicidade das inundações (Parolin e Wittmann, 2010). Por outro lado, a conservação desses ambientes faz-se de extrema importância, tendo em vista o papel da vegetação marginal na manutenção da função dos principais cursos de água que constituem a bacia e da biota aquática, residente ou transitória, que a utiliza como habitat ou alimento, uma vez que muitos peixes na Amazônia têm hábito frugívoro (Parolin *et al.* 2010). Assim, é crucial que se entenda os componentes básicos da regeneração natural nos ambientes alagáveis, como as características dos propágulos para germinarem e estabelecerem uma plântula, para que se possa preservar ou mesmo elaborar planos de manejo e recolonização desses ecossistemas. Nesse sentido, o tipo de reserva contida nas sementes, especialmente aquelas que podem ser utilizadas como fontes de energia e carbono nos processos de germinação, de formação e estabelecimento da plântula, são ferramentas importantes para entender como as espécies arbóreas conseguem se estabelecer nesses ambientes sazonalmente alagados.

Neste trabalho o tema será discutido em dois capítulos. O primeiro capítulo trata da morfologia e da bioquímica de sementes de espécies lenhosas, estabelecidas nas porções mais baixas das florestas alagáveis amazônicas, onde o alagamento é considerado extremo e, para sobreviver e garantir a perenização da espécie, as plantas deveriam dispor de estratégias de tolerância ao alagamento evidenciadas desde a formação da semente (Ferreira *et al.*, 2009, 2010). Seguindo essa linha de raciocínio, o segundo capítulo analisa a germinação e o estabelecimento de plântulas destas espécies sob condições de alagamento.

## II. OBJETIVO GERAL

Analisar características morfológicas e bioquímicas de sementes de nove espécies lenhosas que habitam as cotas mais baixas do gradiente de inundação nas florestas alagáveis da Amazônia Central e avaliar a germinação e a formação de plântulas dessas espécies em condições de alagamento.

## III. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Descrever a morfologia externa das sementes de nove espécies lenhosas coletadas nas florestas alagáveis da Amazônia.
- b) Analisar os tipos de reservas (carboidratos, proteínas e lipídeos) contidas nas sementes inteiras.
- c) Fazer um perfil (*screening*) dos tipos de monossacarídeos acumulados nas sementes inteiras.
- d) Realizar experimentos de germinação de sementes para avaliar a porcentagem e o tempo médio de germinação das espécies na água.
- e) Verificar a formação de plântulas na água, bem como a porcentagem de plântulas formadas.
- f) Acompanhar o tempo máximo que uma plântula, após germinar na água, pode permanecer flutuando sem perder o potencial para se estabelecer no solo.
- g) Analisar o crescimento inicial das plântulas no solo, após serem retiradas da água.

## IV. HIPÓTESES

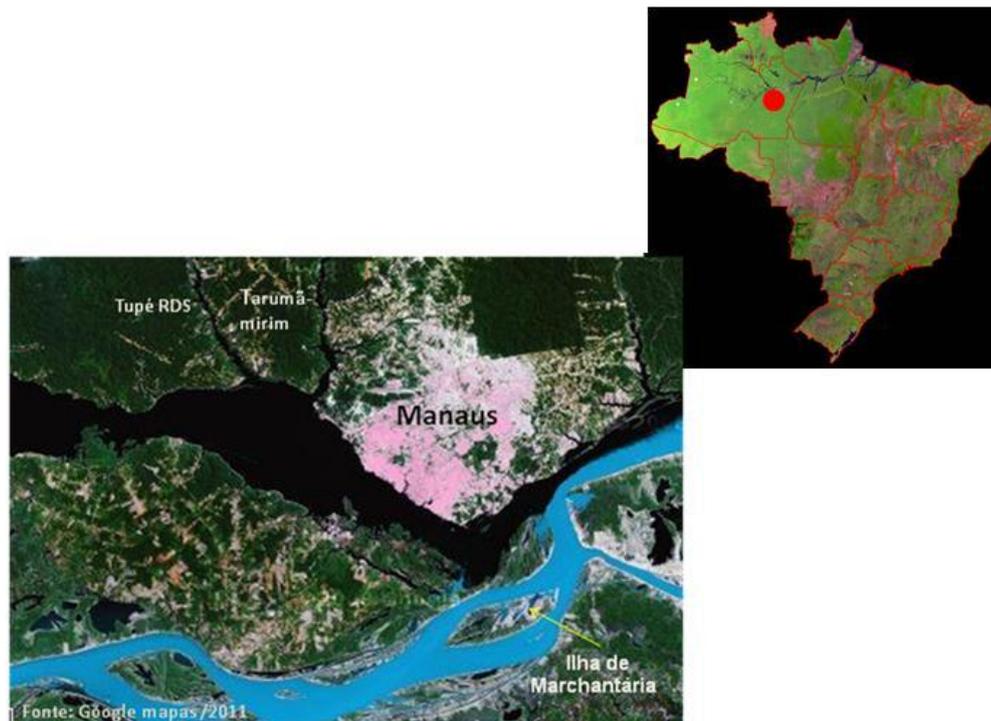
As sementes de espécies das áreas alagáveis amazônicas apresentam maior quantidade de carboidratos não-estruturais e reservas empacotadas. Esses tipos de reservas são mobilizadas, em grande parte, após a germinação da semente e tem a função de fornecer energia para os processos metabólicos e/ou são fonte de matéria para a formação de uma plântula, até que esta atinja a capacidade autotrófica.

As espécies possuem sementes capazes de germinar rapidamente e produzir plântulas em condições de alagamento, uma vez que, por colonizarem as porções mais baixas do gradiente de inundação nessas florestas, as primeiras áreas a serem alagadas e as últimas a saírem dessa condição, o período disponível para o estabelecimento dessas plantas é menor.

## **V. METODOLOGIA GERAL**

Áreas de estudo e coleta do material botânico: O trabalho foi realizado com sementes coletadas de espécies estabelecidas nas cotas mais baixas do relevo inundável, das florestas alagáveis por águas brancas (várzeas) e por águas pretas (igapós) nas proximidades de Manaus, Amazonas (Fig. 1). Nas várzeas os locais de coleta foram a Ilha de Marchantaria (3° 1'28.36"S; 60° 8'48.12 "O) e áreas adjacentes, localizadas no Rio Solimões, distante cerca 20Km de Manaus. Nas florestas de igapós a coleta ocorreu em áreas localizadas nas margens do Rio Negro e afluentes, na Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé (RDS Tupé), situado na margem esquerda do Rio Negro (3° 2'22.88"S; 60°15'6.90"O), a Oeste de Manaus, cerca de 25Km do centro de Manaus, e às margens do Rio Tarumã-Mirim (3°14'8.45"S; 59°56'51.53"O), um afluente do Rio Negro, situado a aproximadamente 20Km ao norte de Manaus. As excursões para realização das coletas ocorreram em maio de 2010, durante o período de cheia dos rios. A altura da coluna de água nas áreas amostrais foi em média de cinco metros e o período de inundação já durava cerca de sete meses. O ano de 2011 apresentou uma das maiores cheias já ocorridas nesses rios, com um pico das cheias de 28,62m (sobre o nível do mar), duração de 246 dias (CPRM, 2011).

Os frutos foram coletados diretamente de matrizes marcadas no campo, entre três a cinco indivíduos, por espécie, de acordo com a disponibilidade de encontrar a planta com frutos completamente maduros, em início de dispersão. Foram utilizados podão e tesoura de poda para a retirada dos frutos. Após a coleta, os frutos foram acondicionados em recipientes de isopor e transportados via aérea para o laboratório de Fisiologia Vegetal - Universidade de Brasília (UnB), onde foram despulpados para a retirada das sementes utilizadas no presente estudo.



**Figura 1.** Mapa das áreas de coleta das sementes navárzea (Ilha de Marchantaria e cercanias) e no igapó, nas proximidades de Manaus (RDS do Tupé e Tarumã-mirim). Fonte: Google maps/2011.

### **Espécies estudadas**

O critério principal para a escolha das espécies foi o nível que estas ocupam no gradiente de inundação, sendo selecionadas as que ocorrem na porção mais baixa do relevo das florestas alagáveis da Amazônia. Para isso, foi feita inicialmente uma lista das espécies, com base em inventários florísticos realizados para a região e disponíveis na literatura (Ferreira e Prance 1998; Parolin *et al.* 2004; Wittmann *et al.* 2006), e no campo, entre as espécies listadas, foram eleitas aquelas que apresentavam maior número de indivíduos com frutos, no período em que foram realizadas as coletas (Tab. 1).

**Tabela 1:** Espécies utilizadas nesse estudo para análise germinativa e bioquímica, proveniente das florestas de várzea (Vz) e igapó (Ig).

Nº	Espécies	Família	Ambiente
1	<i>Albizia subdimidiata</i> Splitg.	Fabaceae	Vz
2	<i>Laetia crymbulosa</i> Spruce ex. Benth	Salicaceae	Vz
3	<i>Pouteria glomerata</i> Pohl ex Miq.	Sapotaceae	Vz
4	<i>Crateva tapia</i> L.	Capparaceae	Vz
5	<i>Pseudobombax munguba</i> (Mart. & Zucc) Dugand	Malvaceae	Vz
6	<i>Genipa americana</i> L.	Rubiaceae	Ig
7	<i>Eugenia inundata</i> DC.	Myrtaceae	Ig
8	<i>Simaba guianensis</i> Aubl.	Simaroubaceae	Ig
9	<i>Parkia discolor</i> Spruce ex Benth.	Fabaceae	Ig

### Breve descrição das espécies estudadas

A descrição das espécies foi feita com base nas informações contidas no “Manual de Árvores da Amazônia Central – Taxonomia, Ecologia e Uso” (Wittmann *et al.* 2010) e consulta a herbários virtuais, como o The Plant List ([www.theplantlist.org](http://www.theplantlist.org)).

#### ***Albizia subdimidiata* (Splitg.) Barneby & J. W. Grimes (Fabaceae)**

Nome vulgar paricarana, paricaxirana, mari-mari-bravo. Presente na Amazônia ocidental, oriental e central. Árvore do estrato médio a superior de florestas secundárias de várzea baixa, ocasional em florestas com dossel fechado. Base do troco é reta, às vezes com pequenas raízes tubulares. As folhas são bicompostas, paripinadas, com glândula no pecíolo, folíolos assimétricos. Flores brancas em inflorescências umbeladas. Altura varia de 20 a 25m. Frutos são vagens achatadas, 8-15cm, segmentadas. Dispersão pelo vento ou pela água.

***Laetia corymbulosa* Spruce ex Benth (Salicaceae)**

Conhecida popularmente por Sardinheira, Turmã. Ocorre nas Américas Ocidental e Central. Árvore do estágio secundário inicial da várzea baixa, frequente no baixo Rio Solimões, nas cotas de inundação entre 4-6 m. Atinge uma altura de 20 a 25m, tronco com base reta a levemente digitada, as folhas são simples, alternas, dísticas, com margem serrilhada e o pecíolo engrossado, levemente acanalado. As flores são brancas em inflorescências axilares. Frutos são bagas carnosas, amareladas quando maduras 25 x 1,5cm.

***Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk (Sapotaceae)**

Conhecida pelas comunidades locais por abiurana, laranjinha, maçã do pacu. Ocorre nas florestas neotropicais, sendo frequente do estrato médio de estágios secundários tardios de várzea baixa. Possui látex branco, leitoso, não abundante. As folhas são simples, dispostas em espiral, esbranquiçadas e com a nervura central proeminente na face inferior. As flores são brancas em inflorescências axilares. Os frutos são do tipo baga, coloração marrom-amareladas Ø 10x5cm, geralmente quatro sementes por fruto.

***Crateva tapia* L. (Capparaceae)**

Muitas vezes referenciada pela sua sinonímia *Crataeva benthamii* Eichler, *C. tapia*, tem o nome vulgar de catoré. Presente principalmente em regiões quentes e tropicais, às vezes em locais áridos e a uma pequena extensão nos subtropicais; presente em estágios secundários tardios da várzea baixa. Árvore de tamanho médio, base do tronco reta à acanalada. Folhas simples, oblongas, opostas, verticiladas, com pecíolo pulvinado e nervura central proeminente na face abaxial. Os frutos são bagas redondas marrons, com epicarpo lenticelado, Ø 10 cm.

***Pseudobombax munguba* (Mart. & Zucc) Dugand (Bombacaceae)**

Árvore pioneira ocorrendo até os estágios secundários da várzea baixa, muito abundante em cotas de inundação entre 4-6 m. Folhas compostas, palmadas. Flores

brancas multi-estaminadas. Os frutos são cápsulas loculicidas com casca ligeiramente rugosa de cor marrom-avermelhada, com inúmeras sementes marrons envoltas por pelos brancos (paina). Floração e frutificação ocorrem no pico da cheia. A dispersão é feita pelo vento, água e possivelmente por peixes.

***Genipa americana* L. (Rubiaceae)**

Popularmente conhecida por jenipapo ou jenipá. Possui porte arbóreo, altura máxima de 25m, ocorrência em áreas com florestas abertas e de vegetação secundária de várzea, situa-se em locais temporária ou permanentemente inundados, com ampla distribuição pelas regiões tropicais úmidas e subtropicais da América Latina desde o México até a Argentina (Lorenzi, 1992). Folhas são opostas, simples, obovadas, às vezes levemente serreadas, com pecíolos curtos, na maioria das vezes agregadas no final dos ramos. Estípulas interpeciolares triangulares e subfoliáceas. Flores brancas a amarelas, tubulares, em curtas inflorescências terminais. Fruto do tipo bagas ovoides, marrons, com um pequeno tubo da abscisão no ápice, 12 x10cm. Dispersão por hidrocoria e zoocoria.

***Eugenia inundata* DC. (Myrtaceae)**

Nome vulgar: araçá-do-igapó. Ocorre nas Américas Ocidental e Central. Arbusto ou arvoreta de estágios pioneiros ao longo da margem de lagos isolados e canais secundários. Ocorre também em formações monoespecíficas onde a inundação média é maior que 6m, geralmente onde há influência de água preta. Tronco com base reta ou ramificada. Ritidoma liso, com fissuras verticais. Folhas simples, opostas, ovadas a lanceoladas, brilhantes na face adaxial. Pecíolos geralmente encurvados, estípulas lineares características. Flores axilares brancas, fragrantas Frutos do tipo bacáceo, globoso, não se encontram envolvidos por polpa, vermelhos a purpúreos, ovoides com um tubo de abscisão no ápice, Ø 1,5 x 1cm. Dispersão é feita por peixes – ictiocória (Gressler *et al.* 2006).

***Parkia discolor* Spruce ex Benth (Fabaceae)**

Conhecida também por faveira, visgueiro-do-higapó. Ocorre na América do sul, em terrenos arenosos e nas florestas estacionalmente inundáveis dos rios de água preta -

igapó (Hopkins, 1986). Frutos do tipo vagem, oblongos, coriáceas, indeiscentes, pretos com a maturação, possuem entre 9-15 sementes, separadas em cavidades individuais e unisseriadas. Dispersão por hidrocoria (Hopkins, 1986).

***Simaba guianensis* Aubl. (Simaroubaceae)**

Popularmente conhecida por cajurana. Abundante em cotas de inundação entre 5-6m. Espécie arbórea ocorrente em regiões tropicais e subtropicais.  rvores mediana de 7-12m de altura. Os frutos são drupas carnosas, vermelhas a roxas quando maduras,  $\varnothing$  4,5 x 2,5 cm, contendo uma semente.

**VI. REFERÊNCIAS**

- Buckeridge, M.S., 2004. Mobilização de reservas. In: Ferreira, A.G., Borghetti, F. (Eds.) Germinação: Do básico ao aplicado. Artmed, Porto Alegre, pp. 163-185.
- Ferreira, L.V., Prance, G.T., 1998. Species richness and floristic composition in four hectares in the Ja  National Park in upland forests in Central Amazonia. *Biodiversity and Conservation*, 7, 1349-1364.
- Ferreira, C.S., Piedade, M.T.F., Junk, W.J., Parolin, P., 2007. Floodplain and upland populations of Amazonian *Himatanthus sukuuba*: effects of flooding on germination, seedling growth and mortality. *Environmental and Experimental Botany* 60, 477-483.
- Ferreira, C.S., 2009. The role of carbohydrates in seed germination and seedling establishment of *Himatanthus sukuuba*, an Amazonian tree with populations adapted to flooded and non-flooded conditions. *Annals of Botany* 104, 1111-1119.
- Furch, K., 1984. Water chemistry of the Amazon basin: the distribution of chemical elements among freshwaters. In: Sioli, H. (Ed.). *The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin*. Dr. W. Junk Publ., Dordrecht. pp. 167-199.
- Gressler, E., Pizo, M. A., Morellato, L. P. C., 2006. Poliniza  o e dispersão de Sementes em Myrtaceae do Brasil. *Revista Brasileira de Bot nica* 29, 509-530.

- Hopkins, H.C.F., 1986. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). In: Hopkins, H.C.F., Flora Neotropica. New York Botanical Garden, New York, 43, 1-123.
- Junk, W.J., 1984. Ecology of varzea, floodplain of Amazonian with water rivers. In: Sioli, H. (Ed.). The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin. Dr. Junk Publ., Dordrecht. pp. 215-43.
- Junk, WJ, Bayley P.B., Sparks R. E. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. In: Dodge, D.P. (Ed.), Proceedings of the International Large River Symposium. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, USA, 106, 110 – 127.
- Junk, W.J., 1989. Flood tolerance and tree distribution in Central Amazonian Floodplains. En: Nielsen, L.B.; Nielsen, I.C.; Baslev, H. (Eds.). Tropical forests: Botanical dynamics, speciation and diversity. Academic Press, London, U.K. pp. 47-64.
- Junk, W.J., 1993. Wetlands of tropical South-America. In: Whigham, D., Hejny, S., Dykyjová, D. (Eds.), Wetlands of the world. Kluve, Dordrecht. pp. 679-739.
- Junk, W.J., Piedade, M.T. 1997. Plant life in the floodplain with special reference to herbaceous plants. In: Junk, W.J. (Ed.), The Central Amazon Floodplain. Springer-Verlag, New York, pp. 147- 181.
- Lorenzi, H. 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Plantarum, Nova Odessa, SP, pp. 352.
- Kozłowski, T.T.; Pallardy, S.G. 1984. Effect of flooding on water, carbohydrate, and mineral relations. In: Kozłowski, T.T. (Ed.). Flooding and plant growth. Academic Press, London. pp. 165-193.
- Kozłowski, T. T., Pallardy, S.G. 1997. Physiology of Wood Plants. Academic Press, San Diego. pp. 125-332.
- Kubitzki, K., Ziburski, A., 1994. Seed dispersal in flood-plain forests of Amazonia. Biotropica 26, 30–43.

- Oliveira-Wittmann, A., Piedade, M.T.F., Wittmann, F., Parolin, P., 2007. Germination in four low-varzea tree species of Central Amazonia. *Aquatic Botany* 86, 197 – 203.
- Parolin, P., 2000. O uso de árvores nas florestas inundadas por água branca na Amazônia Central. *Amazoniana* 16, 241-248.
- Parolin, P., Simone, D., Haase, K., Waldhoff, D., Rottenberger, S., Kuhn, U., Kesselmeier, J., Kleiss, B., Schmidt, W., Piedade, M.T.F., Junk, W.J., 2004. Central Amazonian Floodplain Forests: Tree Adaptations in a Pulsing System. *The Botanical Review* 70, 357-380.
- Parolin, P., Adis, J., Rodriguez, W.; Amaral, I., Piedade, M.T.F., 2004. Floristic study of an igapó floodplain forest in Central Amazonia (Tarumã-Mirim, Rio Negro). *Amazoniana* 18, 29-47.
- Parolin P. 2009. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian Floodplains. *Annals of Botany* 103, 359 – 376.
- Parolin, P., F, Wittmann., 2010. Struggle in the flood: tree responses to flooding stress in four tropical floodplain systems. *AoB Plants*, pp. 1-19.
- Parolin, P., Lucas, C., Piedade, M.T.F., Wittmann, F., 2010. Drought responses of flood-tolerant trees in Amazonian floodplains. *Ann. Bot.* 105, 129–139.
- Pezeshki, S. R. 2001. Wetland plant responses to soil flooding. *Envir. Exp. Bot.* 46, 299-312.
- Piedade, M.T.F., Junk, W.W., Parolin, P. 2000 apud. The flood pulse and photosynthetic response of trees in a white water floodplain (várzea) of Central Amazon, Brazil. *Verhandlungen der Internationale Vereinigung für Limnologie* 27, 1734-1739.
- Piedade, M.T.F., Worbes, M., Junk, W.J. 2001. Geo-ecological controls on elemental fluxes in communities of higher plants in Amazonian floodplains. In: McClain, M. E., Victoria, R. L., Richey, J. E. (Ed.) *The Biogeochemistry of the Amazon Basin*. Oxford University Press. pp. 209-234.

- Piedade, M. T. F., Junk, W. J., Adis, J., Parolin, P. 2005. Ecologia, zanação e colonizaao da vegetaaao arborea das Ilhas Anavilhanas. *Tropical Ecology* 56,117-144.
- Prance, G.T. 1979. Notes on the vegetation of Amazonia III. The terminology of Amazonian forest subject to inundation. *Brittonia*, 31, 26-38.
- Schongart, J., Piedade M. F. T., Ludwigshausen, S., Horna, V., Worbes, M. 2002. Phenology and stem-growth periodicity of tree species in Amazonian floodplain forests. *Journal of Tropical Ecology* 18, 581 – 597.
- CPRM. 2011. Servio Geolooico do Brasil. Relatooio da cheia de 2011.<acesso em 09/02/2013. <http://www.cprm.gov.br/>>.
- Sioli, H. 1951. Sobre a sedimentaaao na vaarzea do Baixo Amazonas. In: Boletim Taaecnico, Instituto de Agronomia, Norte, 24, 112-128.
- Wittmann, F., Anhuf, D., Junk, W. J. 2002. Tree species distribution and community structure of Central Amazonian vaarzea forests by remote sensing techniques. *Journal of Tropical Ecology* 18, 805–820.
- Wittmann, F., Junk, W. J. 2003. Sapling communities in Amazonian white-water forests. *Journal of Biogeography* 30, 1533 – 1544.
- Wittmann, F., Junk, W. J., Piedade, M. T. F. 2004. The varzea forests in Amazonia: flooding and the highly dynamic geomorphology interact with natural forest succession. *Forest Ecology and Management* 196, 199 – 212.
- Wittmann, F., Schoengart, J., Montero, J. C., Motzer, T., Junk, W. J., Piedade, M. T. F., Queiroz, H. L., Worbes, M. 2006. Tree species composition and diversity gradients in white-water forests across the Amazon Basin. *Journal of Biogeography* 33, 1334–1347.
- Wittmann, F. 2010. Manual de aaovores da vaarzea da Amazaaonia Central: taxonomia, ecologia e uso. In: Schoengart, J., Brito, J. M., Oliveira-Wittmann, A., Guillament, J. L., Piedade, M. T. F., Parolin, P., Junk, W. J. (Eds), Manaus, Editora INPA, pp. 298.

# **CAPÍTULO I**

**Caracterização morfológica e bioquímica de sementes de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia**

## 1. INTRODUÇÃO

Durante o processo evolutivo, as plantas desenvolveram órgãos cada vez mais especializados, como as sementes, órgãos capazes de nutrir a futura planta durante seu estágio inicial de crescimento (Bewley e Black, 1994). Poder acumular reservas possivelmente foi um dos principais fatores no surgimento e na evolução das sementes em plantas. Esse processo evolutivo possibilitou ao novo indivíduo tornar-se independente da planta-mãe e poder desenvolver-se em outro local, distante daquele de origem (Buckeridge *et al.* 2004a). As plantas encontraram diferentes meios de armazenar reservas em suas sementes, bem como de mobilizá-las, no sentido de produzir um indivíduo autotrófico que seja capaz de se adaptar e responder às condições ambientais vigentes (Buckeridge *et al.* 2004b). A maioria dos tecidos da semente pode funcionar como armazenador de reservas, como o perisperma e o eixo embrionário. Nas angiospermas as principais estruturas armazenadoras são os cotilédones e o endosperma (Bewley e Black, 1994).

As reservas desempenham papel decisivo no processo de germinação e construção da plântula, pois durante os estágios iniciais de desenvolvimento a nova planta dependerá das reservas armazenadas na semente para se estabelecer. Dentre essas reservas destacam-se os carboidratos, as proteínas e os lipídios. A quantidade e proporção da composição dessas reservas podem variar entre gêneros ou ainda entre espécies de mesmo gênero, de acordo com suas estratégias de dispersão e estabelecimento. Estas variações vão desde a resistência da testa, até a quantidade, o tipo e a localização do material de reserva da semente, bem como do grau de desenvolvimento do embrião (Borges e Rena, 1993; Bewley e Black, 1994; Fenner e Thompson, 2006).

Uma vez que os sinais do ambiente são traduzidos em sinais internos na semente, a forma como estas respondem ao ambiente é de fundamental importância (Buckeridge *et al.* 2004). Assim, as diferentes características das sementes, refletem diversas estratégias de adaptação das plantas aos seus respectivos locais de ocorrência. Em nível bioquímico está a mobilização de certos compostos de reserva, que irão funcionar com fonte de energia para os processos metabólicos durante a germinação e/ou como fonte de matéria para construção dos tecidos vegetais do novo indivíduo. As reservas podem também ter influência no tempo de permanência das sementes no banco

de sementes e na sua susceptibilidade à predação (Bewley e Black, 1994; Hoshizaki e Miguchi, 2005; Rajjou e Debeaujon, 2008).

O papel que as reservas desempenham na tolerância ao estresse causado por alagamento merece atenção, especialmente devido os efeitos deletérios do alagamento em processos metabólicos vitais para a germinação e o desenvolvimento da plântula, bem como seu estabelecimento no ambiente. Sob tais condições a composição, quantidade e mobilização de reservas (proteínas, lipídios e carboidratos) e a atividade de enzimas relacionadas à produção de ATP são cruciais para o desenvolvimento da plântula sob condições de restrição de oxigênio (Dolferus *et al.* 2003).

O objetivo deste trabalho foi descrever os atributos da morfologia externa e a biometria de sementes de nove espécies lenhosas, que ocorrem nas porções mais baixas das planícies de inundação da Amazônia Central, bem como analisar o tipo e o conteúdo de reservas contidas nessas sementes e a relação destes com o ambiente de origem das plantas.

### **1.1. Referencial teórico**

Embora exista uma enorme variação na composição química das sementes, em praticamente todas as espécies de plantas as substâncias armazenadas em maior quantidade são sempre os carboidratos, os lipídeos e as proteínas, que constituem seus principais compostos de reservas (Buckeridge *et al.* 2004, Parolin *et al.* 2010, Soriano *et al.* 2011). Devido à dependência do acúmulo de reservas dos órgãos fotossintetizantes e das reservas da planta-mãe, seu conteúdo na semente pode variar mesmo entre indivíduos da mesma espécie, em função de interações entre o genótipo e o ambiente de origem da planta. O acúmulo de reservas reflete ainda alterações na relação fonte e dreno durante o período de desenvolvimento da semente, bem como a manipulação genética com a finalidade de superexpressão de genes responsáveis pelo armazenamento de determinada reserva (Buckeridge *et al.* 2004, Coelho *et al.* 2008, Coelho e Benedito 2008; Ferreira *et al.* 2010).

Durante as etapas de germinação da semente e de desenvolvimento inicial da plântula, os carboidratos e os lipídeos são utilizados como fonte de energia e carbono para ativar/manter tais processos, enquanto que as proteínas têm como função principal armazenar nitrogênio e enxofre, essenciais para a síntese de novas proteínas, ácidos

nucleicos e compostos secundários na plântula em crescimento (Buckeridge *et al.* 2004b).

## **1.2. Carboidratos de reserva**

Alterações no conteúdo e no metabolismo de carboidratos durante as etapas de germinação da semente e nas fases iniciais de desenvolvimento das plântulas têm sido bastante estudadas, porém a maioria desses estudos concentram-se em espécies de cereais (Bewley e Black, 1994; Hrmova *et al.* 1997; Guimarães, 1999) devido a importância destes para a alimentação humana.

O processo de germinação envolve a reidratação dos tecidos da semente e o reparo de algumas estruturas que podem ter sido danificadas durante a fase de secagem. Tais eventos exigem um gasto de energia considerável. Assim, as sementes armazenam quantidades significativas de compostos de reserva que servirão com fonte de energia para manter esses processos metabólicos, bem como para a manutenção e o desenvolvimento do embrião até que este se torne uma plântula capaz de se manter de forma autotrófica. Dentre eles destacam-se os carboidratos pela sua abundância e possibilidades de uso. Os compostos derivados de carboidratos e que atuam como reservas em sementes são o amido, a sacarose, os oligossacarídeos da série rafínosica e os polissacarídeos de parede (Buckeridge *et al.* 2004a).

### **1.2.1. Amido**

O amido constitui uma das mais amplas formas de reserva em plantas e ao longo da evolução tem sido usado como uma das mais importantes fontes de energia para as cadeias alimentares nos ecossistemas (Zeeman *et al.* 2004). Em vista disso, muitos organismos desenvolveram a capacidade de produzir enzimas capazes de degradar o amido, liberando moléculas de glicose que poderão ser utilizadas no metabolismo energético (Amaral *et al.* 2007).

Por ser insolúvel em água e apresentar alto poder de empacotamento o amido pode ser estocado em grandes quantidades nas células vegetais. Em cereais ele é a principal fonte de carboidrato (Guimarães, 1999). Nas células vegetais o amido é estocado em organelas especiais denominadas amiloplastos. O amido é formado por unidades de glicose, organizadas em dois homopolissacarídeos, a amilose e a amilopectina (Amaral *et al.* 2007; Lehninger, 2002). A amilose quase não apresenta

ramificações, as unidades de glicose estão unidas por ligações glicosídicas do tipo  $\alpha$ 1,4, com pouquíssimas ligações  $\alpha$ 1,6. Já a amilopectina é altamente ramificada, com cadeias de resíduos de glicose ligados entre si por ligações glicosídicas do tipo  $\alpha$  (1,4) e ramificações  $\alpha$  (1,6) (Bewley e Black, 1994; Buckeridge *et al.*, 2004a).

### **1.2.2. Sacarose e oligossacarídeos da série rafínosica**

A sacarose e oligossacarídeos da série rafínosica correspondem aos açúcares solúveis mais abundantes nas sementes (Buckeridge *et al.*, 2004a). A sacarose é formada por dois monossacarídeos, glicose e frutose, unidos por uma ligação glicosídica. Os oligossacarídeos da série rafínosica são formados por até 10 monossacarídeos, em que um resíduo de sacarose está unido a um, dois ou três resíduos de galactose para formar, respectivamente, rafinose, estaquiase e verbascose (Lehninger 2002; Kerbauy, 2008). São carboidratos pré-formados nas sementes e os primeiros a serem degradados durante a germinação, assim, acredita-se que sejam compostos de reserva, e atuem como substrato da respiração durante na fase inicial da germinação (Bewley e Black, 1994). Contudo, a principal função dos oligossacarídeos tem sido atribuída à propriedade das sementes ortodoxas de estabilizarem suas membranas e, com isso, poderem permanecer secas por um longo período, depois podendo germinar normalmente (Buckeridge *et al.* 2004a).

### **1.2.3. Polissacarídeos de reserva de parede celular - PRPC**

Outra reserva comumente encontra em sementes tem sido os polissacarídeos de parede celular. Esses compostos acumulados são posteriormente, degradados e utilizados com fonte de carbono para o crescimento do embrião (Buckeridge *et al.* 2004b). Os polissacarídeos podem estar presentes na parede celular dos cotilédones e dos endospermas das sementes. Assim, para utilizar essas reservas ao longo da evolução as plantas desenvolveram mecanismos bioquímicos extremamente complexos que permitem o desmonte da parede celular e o uso de seus produtos de hidrólise (Gonçalves *et al.* 2010).

A parede celular dos vegetais superiores é constituída por três domínios: (1) composto por microfibrilas de celulose entrelaçadas por hemiceluloses; (2) composto por substâncias pécticas e (3) formado por material proteico. Embora estruturalmente independentes, mas interagindo entre si, esse três domínios exercem várias funções,

como manter a forma celular, conferir resistência mecânica aos tecidos, controlar a expansão celular, proteção a ataque de microorganismos, armazenar reservas e fornecer moléculas sinalizadoras em processos bioquímicos e fisiológicos (Carpita e Gibeaut, 1993).

Os polissacarídeos de parede celular são constituídos por muitos monossacarídeos (acima de dez), unidos por ligações glicosídicas, formando cadeias lineares ou ramificadas (Lehninger, 2002; Kerbauy, 2008). São classificados de acordo com sua estrutura química em três grupos distintos: os mananos, os xiloglucanos e os (arabino) galactanos. Por sua vez, os mananos são subdivididos em mananos puros, glucomananos e galactomananos (Buckeridge *et al.* 2000).

Os mananos puros são artificialmente definidos como contendo mais de 90% de manose formando uma cadeia linear do tipo  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 sem ramificações, podendo ou não apresentar ramificações de galactose. Os mananos apresentam alto grau de interatividade intermolecular, formando cristais na parede celular, o que confere dureza e diminui sua solubilidade. Os mananos são encontrados em endospermas de sementes de espécies de monocotiledôneas (*Phoenix dactyliferae*, *Phytelephas macrocarpa*) e dicotiledôneas (*Coffea arabica*) (Buckeridge *et al.* 2000).

Galactomananos são polissacarídeos formados por uma cadeia principal de manose ligada beta-1,4, à qual se unem a unidades de galactose, através de ligações glicosídicas do tipo alfa-1,6. Algumas espécies acumulam galactomanano na parede celular do endosperma de suas sementes como, *Trigonella foenum-graecum* L., *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taub. e *Sesbania virgata* (Cav.) Pers. sendo degradado após a germinação (Buckeridge *et al.* 2004a, Tonini *et al.* 2010) A degradação dos galactomananos se dá pela ação de três enzimas hidrolíticas  $\alpha$ -galactosidase, endo $\beta$ -1,4 mananase e  $\beta$ -manosidase. Os galactomananos devido a sua maior solubilidade influencia o fluxo de água durante os estágios iniciais de germinação, pois absorve grande quantidade de água e a distribui ao redor do embrião (Kerbauy, 2008).

Os xiloglucanos de reserva de sementes são compostos por uma cadeia principal  $\beta$ -D-(1 $\rightarrow$ 4)-glucano ramificada com ligações  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) por resíduos de D-xilopiranosídeos ou  $\beta$ -D-galactopiranosídeo-(1 $\rightarrow$ 2)-D-xilopiranosídeos. Exceto pela ausência de terminais fucosil ligados [ $\alpha$ -L-(1 $\rightarrow$ 2)] nos grupos  $\beta$ -D-galactosídeos, existe uma grande semelhança entre xiloglucanos de reserva (em sementes) e xiloglucanos

estruturais de paredes primárias, em tecidos vegetativos de dicotiledôneas (Buckeridge *et al.* 2000). Sua função de reserva em cotilédones foi observada em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. e *Hymenaea courbaril* L. (Buckeridge *et al.* 2000). A mobilização xiloglucanos ocorre após a germinação devido à ação das enzimas  $\beta$ -galactosidase, endo- $\beta$ -glucanase (ou endo transglicosilase – XET),  $\alpha$ -xilosidase e  $\beta$ -glucosidase, ocorrendo ao mesmo tempo à produção de alguns açúcares como a frutose, glucose e sacarose (Tiné *et al.* 2000)

### 1.3. Lipídeos

Os lipídeos são um dos compostos de reserva mais amplamente encontrados na natureza, tanto em animais como nos vegetais. Responsáveis por diversas funções biológicas compõem as estruturas celulares, principalmente membranas (Bobbio e Bobbio, 2003). Em sementes são uma importante fonte de energia e carbono para a germinação e o desenvolvimento das plântulas (Buckeridge *et al.* 2004a). Algumas espécies podem armazenar grandes quantidades de óleos em suas sementes. Em *Euphorbia heterophylla* L. os lipídios constituem cerca de 60% da massa seca da semente (Suda e Giorgini, 2000).

Nas sementes os lipídeos são acumulados na forma de triglicerídeos e armazenados em organelas chamadas corpos lipídicos. Embora a composição de ácidos graxos possa variar em função das características genéticas e do meio ambiente, geralmente os ácidos palmítico, oléico, linoléico e linolênico ocorrem em maior quantidade, chegando a compor até 60% da massa de algumas sementes oleaginosas (Buckeridge *et al.* 2004, Taiz e Zeiger, 2010).

O processo de biossíntese de lipídeos envolve três etapas: (1) produção do esqueleto principal de glicerol, (2) produção de ácidos graxos e (3) a esterificação do glicerol com as cadeias de ácidos graxos. Durante esse processo várias organelas estão envolvidas, sendo iniciada a produção nos plastídios (Bewley e Black, 1994).

A hidrólise dos triglicerídeos é atribuída. Esses compostos são hidrolisados por essas enzimas liberando ácidos graxos e glicerol, este último sendo usado como fonte de carbono para a síntese de glicose, os ácidos graxos livres são então degradados, gerando acetil, que também será usado na síntese de glicose. Os subprodutos da hidrólise de triglicerídios também podem servir para nova síntese de triglicerídios, utilizados na

respiração, ou convertidos à sacarose e transportados ao eixo em crescimento (Bewley e Black, 1994; Buckeridge *et al.* 2004b). Já os produtos dos ácidos graxos livres, acetil-CoA, poderão ser utilizados na respiração celular ou na síntese de glicose (Bewley e Black, 1994).

#### 1.4. Proteínas

As proteínas são homopolímeros, macromoléculas complexas pertencentes à classe dos polipeptídios, pois são formadas por aminoácidos unidos entre si por ligações peptídicas, (ligação peptídica é a união de um grupo amino (-NH<sub>2</sub>) de um aminoácido como grupo carboxila (-COOH) de outro aminoácido, através da formação de uma amida). Durante o desenvolvimento das sementes de plantas superiores a síntese desses compostos se dá no retículo endoplasmático, sendo posteriormente transportados até seus locais de armazenamento, os vacúolos de reservas ou corpos proteicos. A síntese e deposição dessas proteínas podem ser reguladas espacial e temporalmente, podendo aparecer em diferentes estágios do desenvolvimento da semente em cada espécie (Guimarães *et al.* 1999; Buckeridge *et al.* 2004b).

Na maioria das espécies essas reservas estão presentes em menor proporção em relação aos carboidratos e lipídeos, mas não são menos importantes, pois são compostos essenciais para todas as células vivas (Marcos Filho, 2005; Taiz e Zeiger, 2010). No entanto, existem algumas sementes que acumulam quantidades significativas de proteínas como, soja, feijão, ervilha, cevada, trigo e centeio (Marcos Filho, 2005).

As proteínas de reserva de sementes, segundo classificações mais modernas podem ser divididas em: (a) proteínas de reserva, cuja função é armazenar nitrogênio, carbono e enxofre; (b) proteínas estruturais e metabólicas (*housekeeping*), essenciais para o crescimento e a estrutura da semente; e (3) proteínas de proteção, que podem conferir à planta ou a semente resistência a patógenos microbianos, invertebrados ou dessecação (Buckeridge *et al.* 2004a).

Os principais grupos proteicos de reserva incluem as prolaminas principais proteínas de reserva em cereais e gramíneas selvagens (são insolúveis em água e solúveis em soluções salinas); glutelinas, presente em trigo, milho e outros cereais; as globulinas que são os principais componentes das proteínas da maioria das dicotiledôneas e as albuminas também amplamente encontradas em dicotiledôneas,

sendo muito estudadas em Cruciferae (Bewley e Black, 1985; Suda e Giorgini, 2000).

As proteínas podem ser encontradas em todos os tecidos da semente, porém em maior quantidade no embrião. Em sementes de cereais as maiores concentrações são encontradas no embrião e na camada de aleurona. Em sementes de leguminosas, as globulinas são as principais proteínas armazenadas, representam mais de 70% das reservas de nitrogênio. Já as prolaminas geralmente estão ausentes ou em baixas concentrações nas sementes das dicotiledôneas (Bewley e Black, 1994).

As proteínas desempenham um importante papel como reservas em sementes, pois como os demais compostos de reserva (carboidratos e lipídios) são mobilizadas assim que tem início o desenvolvimento do embrião, normalmente suportando o crescimento da plântula até que esta atinja a autotrofia. Elas são também mobilizadas para estruturação dos processos que conferem capacidade de absorção de nutrientes e realização de fotossíntese (Buckeridge *et al.* 2004b; Cortes *et. al* 2006).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Descrição morfológica e biometria das sementes**

Neste trabalho, utilizamos o termo “semente” no sentido estrito botânico, para definir o óvulo desenvolvido após a fecundação, que contém um embrião (eixo embrionário e cotilédones) e o tecido de reserva (às vezes ausente), ambos protegidos por um envoltório (tegumento) (Aqüila, 2004; Taiz e Zeiger, 2009).

Para a descrição da morfologia externa das sementes os parâmetros utilizados foram: coloração, forma, textura e biometria de uma amostra composta de 50 sementes de cada espécie estudada. A coloração, forma e textura foram descritas de acordo com Barroso *et al.* (1999) e Camargo *et al.* (2008). As sementes foram colocadas em caixas Gerbox contendo água, a fim de verificar se afundavam ou permaneciam boiando na superfície. Para as análises biométricas foram tomadas as medidas de comprimento, largura e espessura das sementes com o auxílio de um paquímetro digital.

### **2.2. Análises bioquímicas das reservas de sementes**

Em função do importante papel que os compostos das sementes desempenham na germinação e estabelecimento da plântula, de cada espécie estudada foram analisados os seguintes componentes químicos das sementes inteiras: proteínas totais, lipídeos totais e carboidratos, este último classificado em carboidratos não estruturais (açúcares solúveis totais - AST, glicose, sacarose e oligossacarídeos da série rafinósica) e carboidratos estruturais (amido e polissacarídeos de reservas de parede celular – PRPC).

Para tanto, as sementes foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 72h e em seguida liofilizadas e moídas em moinho de bola, sendo então armazenadas em potes hermeticamente fechados a  $4^{\circ}\text{C}$  até as análises. Devido a dificuldade de retirada do tegumento das sementes, todas as amostras foram analisadas com a casca, exceto *P. glomerata* e *C. tapia*.

### **2.2.1. Extração e dosagem de proteínas totais**

As proteínas foram quantificadas pelo método de Bradford (1976). Amostras de 10 mg de sementes liofilizadas e moídas foram extraídas com 1 mL de tampão PBS (Phosphate Buffer Saline pH 7,4). O tampão PBS possui a *função* de estabilizar o pH, além de aumentar o rendimento da extração. Por ser salino, facilita a liberação das proteínas, degradando as membranas. O período de extração foi de 24h a  $4^{\circ}\text{C}$ . Após esse período, as amostras foram agitadas em vortex e, em seguida, centrifugadas a 13000 rpm por 10 minutos. Foi retirada uma amostra do sobrenadante de 10  $\mu\text{L}$  e adicionados 790  $\mu\text{L}$  de água destilada e 200  $\mu\text{L}$  de solução de Bradford, totalizando 1000  $\mu\text{L}$ . Utilizou-se o comprimento de onda de 595 nm e comparou-se com a curva padrão com BSA.

### **2.2.3. Extração e dosagem de lipídeos totais**

Para análise da quantidade de lipídeos totais, foram adaptados os métodos de Ramadan *et al.* (2009) e Metherel *et al.* (2009). Uma amostra de 200 mg da semente liofilizada e moída foi extraída com 2 mL de solvente orgânico hexano e colocada em ultrassom durante 25 minutos. Após esse período, o sobrenadante foi retirado e realizado uma nova extração por mais 2 vezes. O volume total do solvente foi evaporado em capela durante 48h e a quantidade total de lipídeos estimada em balança de precisão 0,0001g.

## 2.2.4. Reservas não-compactadas

### 2.2.4.1. Extração e dosagem de açúcares solúveis totais (AST):

Para a dosagem de AST foi utilizado o método fenol-sulfúrico adaptado de Dubois *et al.* (1956). Cada amostra contendo 10 mg de pó foi submetida a quatro extrações com 500 µL de etanol 80% (v/v) cada, e incubadas em banho-maria a 80 °C por 20 minutos. Após cada extração, a mistura foi centrifugada. Em seguida, foi feita a coleta do sobrenadante (50µL) e reagindo com 500µL de Fenol a 5% e 2500 µL de Ácido sulfúrico PA, o teor de AST foi quantificado em espectrofotômetro a 498 nm, com curva padrão de glicose. Esse método é chamado de fenol-sulfúrico adaptado de Dubois *et al.* (1956). A composição dos açúcares solúveis foi realizada por CLAE (cromatografia líquida de alto desempenho). As amostras foram deionizadas através de passagem por resinas Dowex catiônica e aniônica, após esse processo as amostras foram filtradas (Millipore 0,25 µm) e então analisadas por cromatografia de troca iônica de alto desempenho, com detector de pulso Amperométrico (modelo DX500), com coluna CarboPac PA-1 (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, EUA) através de eluição isocrática com 200 mM de hidróxido de sódio em água, com fluxo 1mL/min : 0-15 min 50 % NaOH 200 mM e 50 % H<sub>2</sub>O, 15-20 min 100 % NaOH 200 mM, 20-25 min 50 % NaOH 200 mM e 50 % H<sub>2</sub>O. As áreas de cada pico foram corrigidas de acordo com a sensibilidade do detector para cada açúcar (Santos e Buckeridge 2004).

## 2.2.5. Reservas compactadas

### 2.2.5.1. Quantificação de Amido

O amido foi extraído a partir do pellet da extração de AST, por meio do método proposto por Amaral *et al.* (2007). Foram utilizados 10 mg de cada material vegetal seco, que teve os AST previamente extraídos. Onde foi adicionado 0,5 mL (120 U mL<sup>-1</sup>) de α-amilase (EC 3.2.1.1) termoestável de *Bacillus licheni-formis* (cód. E-ANAAM, MEGAZYME, Irlanda), diluída em tampão MOPS 10 mM pH 6,5. Após incubação a 75°C por 30min, este procedimento foi repetido mais uma vez, totalizando 120 unidades de enzima. As amostras foram resfriadas até 50 °C, e então se adicionou 0,5 mL de uma solução contendo 30 U mL<sup>-1</sup> de amiloglicosidase (EC 3.2.1.3) de *Aspergillus niger* (cód.E-AMGPU, MEGAZYME, Irlanda) em tampão acetato de sódio 100 mM pH 4,5. As amostras foram incubadas a 50°C por 30 min. Este procedimento foi repetido mais

uma vez. Após as incubações descritas acima, foram acrescentados 100  $\mu\text{L}$  de ácido perclórico 0,8 M para parar a reação e precipitar proteínas. Após uma rápida centrifugação (2 min a 10.000 g), procedeu-se à dosagem de amido nos extratos, através de quantificação da glicose liberada no processo de hidrólise. Para tal foram retiradas alíquotas de 20  $\mu\text{L}$  de extrato, às quais foram adicionados 300 $\mu\text{L}$  do Reagente Glicose PAP Liquiform (CENTERLAB, Brasil), contendo as enzimas glucose-oxidase ( $\sim 11000$  U mL<sup>-1</sup>) e peroxidase ( $\sim 700$  U mL<sup>-1</sup>), 290  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de 4-aminoantipirina e 50 mM de fenol pH 7,5. Após incubação por 15 min a 37 °C, o teor de glucose foi determinado em espectrofotômetro com comprimento de onda 490 nm. Foi feita uma curva padrão a partir da solução de glicose (SIGMA), nas concentrações de 0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

#### **2.2.5.2. Análise de polissacarídeos de reserva de parede celular (PRPC)**

Utilizou-se o método de fracionamento de parede celular desenvolvido a partir do procedimento de Gorshkova *et al.* (1996), onde, após serem extraídos amido e açúcares solúveis da amostra (300 mg de cada material vegetal), os demais compostos de carbono foram solubilizados. Os tipos de PRPC foram analisados por meio de seu fracionamento em porções pécticas (oxalato de amônio) e hemicelulósica (NaOH 1 e 4 molar).

*a) Extração de pectinas:* essa extração foi feita adicionando-se 40 ml de oxalato de amônio 0,5% (p/v) para os 500 mg iniciais de pó. O material foi incubado por 60 minutos com agitação constante a 80° C (quatro vezes). Ao final de cada extração o material foi centrifugado (10.000 rpm por 10 min), o pellet foi lavado três vezes com água destilada, seco (liofilizado) e pesado. O sobrenadante foi dialisado com água de torneira por 24 horas, seguido de três a cinco trocas com água destilada. Em seguida o sobrenadante foi liofilizado para posterior quantificação por cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE).

*b) Fracionamento da parede celular com NaOH:* foram adicionados aos tubos 20ml de solução NaOH 1M com NaBH<sub>4</sub> (3 mg/ml). As amostras permaneceram em agitação por 1h à temperatura ambiente. Esse procedimento foi repetido mais duas vezes. O precipitado foi lavado de três a quatro vezes em água destilada, seco no liofilizador e pesado. Repetiu-se o procedimento para a solução de NaOH a 4M. Para análise de

hemicelulose os sobrenadantes das frações 1M e 4M foram neutralizados e dialisados com água de torneira durante 24 horas, seguido de três a cinco trocas com água destilada. O sobrenadante das frações 1 e 4M foram liofilizados para análise em CLAE.

c) *Hidrólise ácida*: foram retiradas cinco miligramas do material dialisado e liofilizado de cada amostra resultantes das extrações com NaOH 1 e 4M para hidrólise. Esse material foi colocado em tubos de ensaio de vidro com 100 uL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% p/p e levado ao banho-maria por 45 minutos a 30°C. Posteriormente foi acrescentado 1mL de água deionizada e levado para autoclave por uma hora. Ao final desse processo as amostras foram neutralizadas e passadas em coluna de troca iônica e catiônica Dowex e em seguida filtradas (Millipore 0,25 µm).

d) *Análise de carboidratos por CLAE (cromatografia líquida de alto desempenho)*: a composição dos carboidratos de parede celular foi determinada por cromatografia de troca iônica de alto desempenho com detector de pulso amperométrico (HPAEC-IPAD modelo ICS3000, marca Dionex Sunnyvale, (HPAEC-IPAD modelo ICS3000 Califórnia) eluição isocrática com 200 mM NaOH por 40 minutos (1 mL/min), com sistema de pós-coluna de NaOH 0,5M (0,5 mL/ min) . Os dados do detector foram comparadas com os padrões nas concentrações 2,5; 5,0; 10; 20; 40; 80; 160 µM. Programa utilizado Chromeleon Software.

### **2.3. Análise estatística**

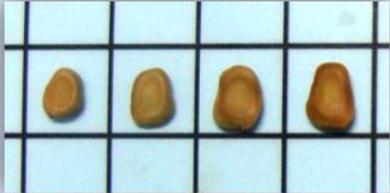
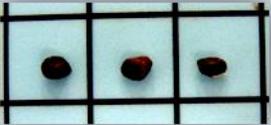
Foram feitas curvas de calibração para determinar as concentrações de açúcares solúveis, amido, proteínas e polissacarídeos presentes na semente. As curvas foram ajustadas por meio de análise de regressão R<sup>2</sup> de 0,99. O conteúdo de cada composto foi calculado em relação à massa seca da semente.

## **3. RESULTADOS**

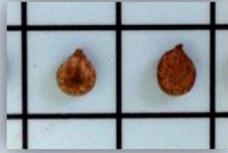
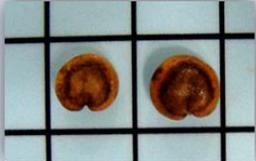
### **3.1. Descrição morfológica e biométrica das sementes**

A descrição da morfologia externa das sementes, bem como as medidas de biometria, das nove espécies estudadas está apresentada na tabela 1.

**Tabela 1.** Morfologia externa (forma, coloração e textura) e valores médios, seguido de desvio padrão, do comprimento (C), altura (A) e espessura (E) das sementes. A dimensão dos quadrados em todas as fotos corresponde 1cm<sup>2</sup> n = 50.

Descrição	Fotos das sementes
<p><i>Albizia subdimidiata</i> (Splitg.) Barneby &amp; JW Grimes</p> <p>Subquadrangular, verde com testa rígida, textura lisa, pleurograma mediano. C= 4,89 (± 1,56)mm, A= 4,08 (± 1,39)mm, E= 1,76 (± 0,23)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	
<p><i>Laetia corymbulosa</i> Spruce ex Benth</p> <p>Angulosa, contorno obovado não alada, solta das valvas de cor castanha, a superfície é vesiculosa. Dimensões: C= 3,21(±0,31)mm, A= 2,29(±0,26)mm, E= 1,97(±0,32)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	
<p><i>Pouteria glomerata</i> (Miq.) Radlk.</p> <p>Ovóide a elipsoide, com superfície lisa e glabra de coloração marrom, pleurograma regular, igual (90%) sem conexão. Dimensões: C= 21,5(±2,2)mm, A= 17,1(±2,6)mm, E= 13,7(±2,0)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	
<p><i>Crataeva tapia</i> L.</p> <p>Curva ou cocleariforme, coloração marrom-escura, testa pilosa e rígida. C= 8,06 (± 0,60)mm, A=9,13 (± 0,97)mm, E= 4,63 (± 0,62)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	

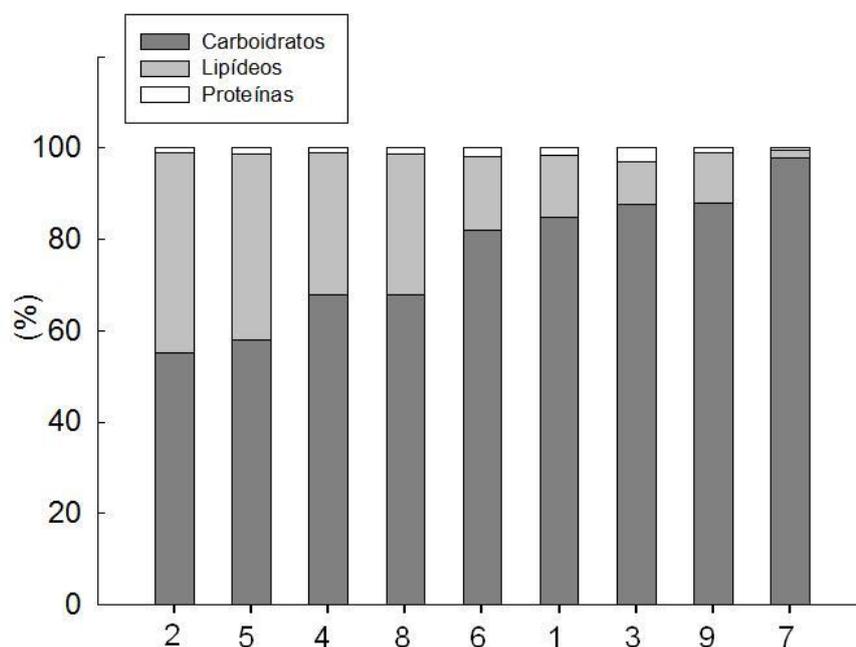
**Tabela 1.** Continuação:

<p><i>Pseudobombax munguba</i> (Mart. &amp; Zucc) Dugand</p> <p>Angulosa, testa estriada, coloração marrom, envoltas por pêlos (paina). C= 2,47 (± 0,03)mm , A= 9,13 (± 0,97)mm, E= 4,63 (± 0,62)mm. Flutua quando está envolta pela paina.</p>	
<p><i>Genipa americana</i> L.</p> <p>Achatada com perfil irregular, obovada a irregularmente arredondada em seção longitudinal, e elíptica em seção transversal. Coloração marrom, textura levemente rugosa (Andrade <i>et al.</i>,1999). C= 6,51(± 1,10)mm, A= 4,52(± 1,02)mm, E= 1,14(± 1,15)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	
<p><i>Eugenia inundata</i> DC.</p> <p>Formato semi-esférico e emarginado em uma das extremidades, testa distinta em duas partes, uma menor marrom-escura e outra marrom-clara, com textura lisa. C= 5,52(± 0,63)mm, A= 7,25(± 0,64)mm, E= 4,26(± 0,40)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	
<p><i>Simaba guianensis</i> Aubl.</p> <p>Pirênio: anguloso, superfície áspera, com sulcos em seção longitudinal/ perpendicular e bordos sinuosos, cor marrom. Semente formato de rime, marrom-claro, textura lisa com algumas ondulações. C= 17,67(± 1,03)mm, A= 9,42 (± 0,59)mm, e E= 4,46(± 1,07)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	
<p><i>Parkia discolor</i> Spruce ex Benth</p> <p>Elíptica a oblonga, com base emarginada na região do hilo, de cor preta, testa lisa e glabra. Pleurograma regular, igual (90%) sem conexão. C=16,56(± 0,99) mm, A= 5,31 (± 0,991)mm, E= 4,15(± 0,62)mm. Não flutua quando colocada na água.</p>	

## 3.2. Análise da composição bioquímica das sementes

### 3.2.1. Reservas totais

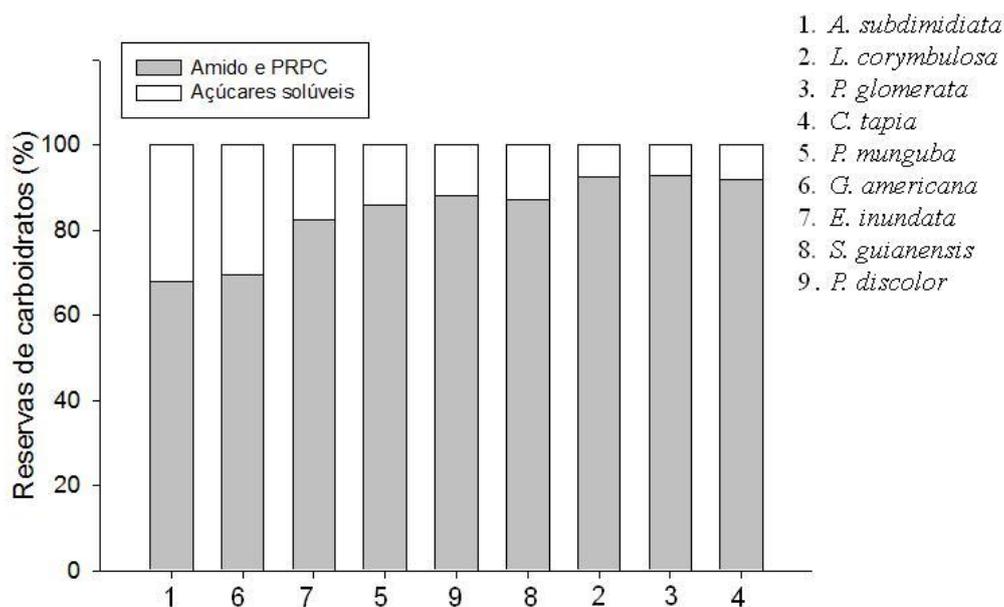
A análise da composição das sementes mostrou que os carboidratos totais (não estruturais e estruturais) constituem mais de 50% da massa seca das sementes das nove espécies estudadas (Fig. 1, Tab. 2). A concentração de lipídeos diferiu substancialmente entre as espécies: *E. inundata* teve a menor concentração ( $< 2,0\%$ ), e *L. corymbulosa* teve a maior ( $>40\%$ ). As proteínas estavam presentes em baixas concentrações ( $\leq 3\%$ ).



**Figura 1.** Componentes (%) das sementes de nove espécies arbóreas das florestas inundáveis da Amazônia (várzea e igapó). Número de 1 a 9 corresponde às espécies: 1. *A. subdimidiata*; 2. *L. corymbulosa*; 3. *P. glomerata*; 4. *C. tapia*; 5. *P. Munguba*; 6. *G. americana*; 7. *E. inundata*; 8. *S. guianensis*; 9. *P. discolor*.

### 3.2.2. Reservas de carboidratos nas sementes

A análise dos carboidratos totais mostrou que as espécies apresentaram maiores conteúdos de reservas compactadas (amido e PRPC) (Fig. 2) em suas sementes, sendo que o principal tipo acumulado corresponde aos PRPC (Tab. 2).



**Figura 2.** Porcentagem (%) de amido, PRPC e açúcares solúveis que constituem as reservas de carboidratos totais das sementes.

Em *P. discolor* os PRPC representam mais que 85% do total das reservas de carboidratos da semente, enquanto que as concentrações de AST e amido variaram substancialmente entre as espécies, *A. subdimidiata* apresentou o maior teor de AST (32.1%), enquanto *P. glomerata* e *E. inundata* tiveram mais amido (>24%), e *P. Munguba* e *P. discolor* os menores teores de amido ( $\leq 6\%$ ), (Tab. 2).

**Tabela 2.** Valores em porcentagem dos tipos de reservas de carboidratos, presentes nas sementes de nove espécies arbóreas das florestas alagáveis da Amazônia.

Espécies	Carboidratos (%)			
	Totais $\mu\text{g}/\text{mg}$	AST	Amido	PRPC
<i>A. subdimidiata</i>	672.9	32.1	3.3	64.6
<i>L. corymbulosa</i>	357.5	7.3	7.6	85.1
<i>P. glomerata</i>	421.0	7.1	28.8	64.1
<i>C. tapia</i>	483.0	8.0	36.1	55.9
<i>P. Munguba</i>	572.7	14.1	0.6	85.3
<i>G. americana</i>	278.7	30.4	2.3	67.3
<i>E. inundata</i>	673.5	17.5	25.6	56.9
<i>S. guianensis</i>	626.5	12.9	20.0	67.1
<i>P. discolor</i>	586.4	11.8	0.4	87.8

Da composição do total de açúcares solúveis, os resultados mostraram que a sacarose é o açúcar predominante em todas as espécies, com exceção de *C. tapia* em que os maiores teores foram de glicose (49.1 %), seguido de frutose (30.9 %). Embora a sacarose seja o principal açúcar das sementes de *A. subdimidiata*, *G. americana*, *P. discolor* e *P. glomerata*, estas também apresentaram quantidades substanciais de frutose, glicose e rafinose (Tab. 2).

**Tabela 3:** Composição (%) dos açúcares solúveis das sementes de nove espécies arbóreas das florestas inundáveis da Amazônia.

Espécies	Açúcares solúveis (%)			
	Frutose	Glicose	Rafinose	Sacarose
<i>A. subdimidiata</i>	0.1	0.2	35.9	63.8
<i>L. corymbulosa</i>	2.1	3.3	10	84.6
<i>P. glomerata</i>	13.3	22.4	7.4	56.9
<i>C. tapia</i>	30.9	49.1	0.8	19.2
<i>P. Munguba</i>	0.6	9.7	9.1	80.6
<i>G. americana</i>	24.4	13.7	5.3	56.6
<i>E. inundata</i>	4.2	9.1	4.2	82.5
<i>S. guianensis</i>	1.7	29.1	26.4	42.8
<i>P. discolor</i>	19.2	0.1	22.5	58.2

A hidrólise ácida dos (PRPC) altos teores de arabinose, galactose, glicose, manose (Tab. 04) coerentes com as frações obtidas das amostras com oxalato de amônio e NaOH 1.0M e 4M (Tab. 5). A espécie *A. subdimidiata* apresentou o maior teor de xilose (18.4%) nas sementes, enquanto *C. tapia*, não apresentou nem traços desse açúcar. *C. tapia*, juntamente com *P. glomerata*, no entanto foram processadas sem o tegumento. Concentrações de xilose estão relacionadas à presença de xilanos. Contudo as sementes foram processadas e analisadas com o tegumento, assim, esse monossacarídeo talvez seja proveniente deste, com exceção de *P. glomerata* e *C. tapia* que tiveram o tegumento das sementes retirado. Portanto, a presença do tegumento pode ter contribuído para os elevados teores de xilose e resíduos ricos em celulose.

A análise dos PRPC mostrou uma diferença na constituição em monossacarídeos das sementes das espécies. Nas sementes de *L. corymbulosa* e *P. discolor*, mais de 60% dos polissacarídeos de parede celular eram constituídos por de galactose, e mais de 16% de manose. Padrão parecido também foi observado para *A. subdimidiata*, mas com valores maiores de manose (>30%) e menores de galactose (>40%). As concentrações glicose encontradas nas sementes dessas espécies podem ser resultantes de alguma fração de amido ainda presente nas amostras, tendo em vista os baixos valores apresentados (< 2%), (Tab.4). De acordo o sistema de classificação dos PRPC, essas frações de galactose: manose nas proporções evidenciadas neste estudo para *A. subdimidiata*, *L. corymbulosa*, e *P. discolor*, indicam a presença de um galactomanano. Em sementes de *P. munguba*, *E. inundata* e *S. guianensis* os monossacarídeos em maior porção são, glucose, galactose e manose, o que sugere a presença de um galactoglucomanano. Os polissacarídeos de parede celular das sementes de *P. glomerata* e *G. americana* são compostos em sua maioria por arabinose > 40% e galactose >30%, porções correspondente a de (arabino)galactano, (Tab. 4).

**Tabela 4:** Composição (%) dos monossacarídeos de reserva de parede celular, nas sementes de nove espécies arbóreas das florestas inundáveis da Amazônia.

Espécies	Monossacarídeos (%)					Classificação PRPC
	Arabinose	Galactose	Glicose	Manose	Xilose	
<i>A. subdimidiata</i>	0.0	43.2	0.8	37.6	18.4	galactomanano
<i>L.corymbulosa</i>	0.0	70.6	4.0	16.5	4.8	galactomanano
<i>P. glomerata</i>	57.6	39.0	1.8	0.6	0.9	(arabino)galactano
<i>C. tapia</i>	0.0	11.4	58.7	30.0	0.0	Glucomanano
<i>P. munguba</i>	0.0	39.8	17.3	36.2	6.6	galactoglucomanano
<i>G. americana</i>	49.1	39.1	3.4	6.9	1.5	(arabino)galactano
<i>E. inundata</i>	0.0	28.2	32.9	38.1	0.9	galactoglucomanano
<i>S. guianensis</i>	0.0	60.9	13.9	24.3	0.9	galactoglucomanano
<i>P. discolor</i>	2.7	68.2	1.8	20.3	7.0	galactomanano

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Análise bioquímica das sementes

O resultado da análise das reservas totais contidas na semente demonstra que os carboidratos (açúcares solúveis, amido e PRPC) constituem o principal material de reserva acumulado, para todas as espécies investigadas neste estudo. Pesquisas com espécies tropicais têm revelado uma elevada diversidade estrutural, metabólica e funcional dos carboidratos, indicando uma grande variedade de estratégias adaptativas de plantas aos seus respectivos ambientes (Ferreira *et al.* 2009; Buckeridge *et al.* 2010; Soriano *et al.* 2012).

Nas nove espécies estudadas, os açúcares solúveis em maior concentração nas sementes foram sacarose e glicose. Esses compostos são considerados como os principais derivados de carboidratos que atuam como reserva em semente, constituindo, com rafinose e frutose, os carboidratos não estruturais. São reservas de uso rápido, com a função de servir como fonte de energia e carbono para a semente durante a fase inicial de germinação (Berna-Lugo e Leopold, 1992). Devido a sazonalidade do ambiente nas florestas alagáveis da Amazônia, que faz com que as plantas alternem seu ciclo de vida ao longo do ano com uma fase aquática e outra terrestre (Piedade *et al.* 2010), as sementes de muitas espécies que colonizam essas áreas, apresentam germinação rápida (Parolin, 2009, Ferreira *et al.* 2010, Oliveira-Wittmann, 2010) e, sob tais circunstâncias, o acúmulo de reservas prontamente utilizáveis no metabolismo das plantas pode favorecer a germinação nesses ecossistemas.

Os estágios iniciais são considerados cruciais no ciclo de vida da planta, pois é onde pode haver as máximas taxas de mortalidade. Nas áreas alagáveis amazônicas, essa é a fase que coincide com as maiores perdas na população (Piedade *et al.* 2000). Assim, nessa etapa, as reservas acumuladas assumem papel de extrema importância, pois a sobrevivência da plântula pode ser fortemente influenciada pelas reservas disponíveis na semente (Santos e Buckeridge, 2004, Ferreira *et al.* 2010). Ferreira *et al.* (2009), em um estudo com populações de *Himatanthus sucuuba*, uma espécie arbórea que coloniza tanto regiões de várzea quanto de terra firme na Amazônia, verificaram diferenças nas reservas acumuladas pelas sementes dos indivíduos das populações desses dois ambientes. As sementes de indivíduos da várzea apresentavam mais de 90% das reservas constituída de PRPC, enquanto aquelas oriundas de indivíduos de populações da terra firme apresentavam conteúdos relativamente menores de PRPC e

concentrações elevadas de açúcares solúveis. Os autores relacionaram as diferenças na concentração e tipo de reserva acumulada pela semente, com o ambiente de origem destas e com as estratégias de germinação e estabelecimento em cada um desses ecossistemas.

Neste estudo, grande parte das reservas de carboidratos das sementes é formada por PRPC (>55% do total de carboidrato) e, apesar das proporções de monossacarídeos presentes na semente indicarem diferentes tipos de polissacarídeos de reserva, a função destes no metabolismo das sementes é semelhante, consistindo em fornecer energia e produtos metabólicos para a construção de órgãos e tecidos até que a plântula alcance a autotrofia. Por outro lado, a concentração de amido nas sementes variou entre as espécies. Ambos os compostos têm a característica de serem mobilizados após a germinação da semente, durante o estabelecimento da plântula. Nas nove espécies estudadas, as reservas compactadas totalizaram mais de 65% das reservas de carboidratos nas sementes. O acúmulo de quantidades substanciais de tais compostos pode ser uma estratégia eficiente, para garantir o rápido desenvolvimento da plântula, especialmente em ambiente sujeitos a frequentes perturbações devido à inundação, de tal forma que as plântulas dispõem de um curto período de tempo para se estabelecerem. O vigor de uma plântula pode ser fortemente influenciado pelos tipos e tipos de substâncias armazenadas nas sementes (Nakagawa, 2000), quanto maior o teor de substâncias que proporcionem grande ganho energético maior será o vigor das plântulas produzidas.

Os lipídeos, assim como os carboidratos também são importantes fontes de carbono, podendo proporcionar grande ganho energético. Devido a isso muitas plantas sintetizam lipídeos durante o desenvolvimento da semente. Os resultados demonstram que os lipídeos são a segunda maior reserva das sementes das espécies avaliadas. Em algumas delas essas reservas chegam a representar mais de 35% do total dos compostos acumulados, como no caso de *L. corymbulosa* e *P. munguba*. Uma maior concentração de lipídeos pode ser uma estratégia complementar para aumentar a disponibilidade de energia para a plântula (Finkelstein e Grubb, 2002). Outra característica importante dessas reservas é que elas são insolúveis na água podendo permanecer intactas por extensos períodos, e serem metabolizadas mais tarde, para suportar o crescimento da plântula (Graham, 2008). Armazenar grandes quantidades de energia pode ser uma

possível vantagem adaptativa às espécies desse estudo, por possibilitar um rápido estabelecimento das plântulas.

As proteínas são as reservas de nitrogênio e enxofre nas sementes, necessários para a formação dos ácidos nucleicos e aminoácidos que irão compor novas proteínas e enzimas. Neste estudo, as proteínas foram os compostos que tiveram as menores concentrações dentre as reservas de sementes analisadas. Em algumas espécies os valores de conteúdos encontrados foram muito baixos, como foi verificado nas sementes de *E. inundata*. Contudo, embora as espécies oriundas das áreas alagáveis apresentem quantidade reduzida de proteínas nas sementes, quando relacionadas com as reservas de carbono, estas são substâncias essenciais no metabolismo das plantas (Coelho e Benedito 2008, Shewry *et al.* 1995; Herman e Larkins 1999), pois os produtos resultantes da hidrólise das proteínas podem ser utilizados durante as várias etapas do metabolismo germinativo e de desenvolvimento da plântula (Buckeridge *et al.* 2004).

No caso das sementes em estudo, as proteínas contidas nas sementes podem, inclusive, contribuir para a síntese de enzimas adaptativas do metabolismo anaeróbico, uma vez que muitas espécies que habitam as áreas alagáveis possuem a capacidade de germinar ainda durante o período de águas altas, em condições de alagamento (Oliveira-Wittmann *et al.* 2007; Ferreira *et al.* 2010, Oliveira-Wittmann *et al.* 2010). A análise de proteínas realizada nesse estudo foi quantitativa, ou seja, foi verificado teor de proteínas totais. No entanto, devido a importância desse composto para a planta e ao baixo conteúdo acumulado pelas sementes das espécies avaliadas, estudos complementares de caracterização qualitativa desses compostos se fazem necessários, a fim de tentar entender quais os papéis desempenhados pelas proteínas no estágio de desenvolvimento inicial da planta.

As proteínas contidas nas sementes analisadas no presente estudo podem, contribuir para a síntese de enzimas adaptativas do metabolismo anaeróbico, uma vez que muitas espécies que habitam as áreas alagáveis possuem a capacidade de germinar ainda durante o período de águas altas, em condições de alagamento (Oliveira-Wittmann *et al.* 2007; Ferreira *et al.* 2010, Oliveira-Wittmann *et al.* 2010, Capítulo 2 do presente estudo). Por outro lado, cabe ressaltar que a análise de proteínas realizada nesse estudo foi quantitativa, tendo sido verificado apenas o teor de proteínas totais. No

entanto, devido a importância desse composto para a planta e ao baixo conteúdo acumulado pelas sementes das espécies avaliadas, estudos complementares de caracterização qualitativa desses compostos se fazem necessários, a fim de tentar entender qual o papel desempenhado pelas proteínas no estágio de desenvolvimento inicial das plantas desses ambientes.

Desenvolver estratégias que levem ao sucesso na germinação das sementes, no estabelecimento e na subsequente sobrevivência da planta durante as fases iniciais do seu ciclo de vida, são de extrema importância para as espécies, pois o desempenho de um organismo é definido em função da sua contribuição em número de indivíduos à geração seguinte na população (Garcia *et al.* 2007). Esse feito vai depender fortemente dos mecanismos utilizados para germinar e da capacidade das plântulas de lidar com condições ambientais adversas ou variáveis (Franco e Silvertown, 1997). Dentre as características citadas acima, podemos resaltar a qualidade e a quantidade das reservas acumuladas nas sementes, como os carboidratos (amido e PRPC) e os lipídeos, reservas compactadas que podem ser estocadas em grandes quantidades até mesmo em sementes menores, como mostra os resultados deste estudo. Sendo esta, talvez, uma maneira das espécies aqui estudadas garantirem energia e nutrientes para a plântula até que está presente sistema radicular e estruturas fotossintéticas bem desenvolvidas, essenciais principalmente nesses ambientes. Visto que um sistema radicular bem desenvolvido pode impedir que as plântulas sejam logo arrancadas durante o início das enchentes, bem como um sistema fotossintético completo irá permiti-las produzir suas próprias reservas de nutrientes, essenciais para sua sobrevivência durante o tempo que ficarão submersa.

## **5. CONCLUSÕES**

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que as espécies investigadas investem na produção de reservas compactadas (amido, PRPC e lipídeos) para uso durante o desenvolvimento e estabelecimento da plântula, pois a degradação dessas reservas pode suprir a grande demanda energética durante a fase inicial de crescimento, permitindo que as plântulas consigam se desenvolver mais rapidamente. Os carboidratos representaram mais da metade das reservas das sementes das nove espécies estudadas. Sendo os carboidratos compostos, na sua maior parte (>65%), por

polissacarídeos de reserva de parede celular, que diferiram muito quanto ao tipo entre as espécies, conforme as proporções de monossacarídeos analisadas.

## 6. REFERÊNCIAS

- Amaral, L. I. V., Gaspar, M., Costa, P. F., Aidar, M. P. M., Buckeridge, M. S. 2007. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea* 34, 425-431.
- Aqüila, M.E.A., 2004. Tipo de diásporos e suas origens. In: Ferreira, A.G., Borghetti, F. (Ed.) *Germinação: Do básico ao aplicado*. Artmed, Porto Alegre, pp. 324.
- Barroso, G. A., 1999. Frutos e sementes. In: Barroso, G. A., Morim, M. P., Peixoto, A L., Ichaso, C. L. F. (Eds.), *Morfologia Aplicada à sistemática de Dicotiledôneas*. Viçosa, MG. p. 443.
- Bernal-Lugo, I.; Leopold, A.C. 1992. Changes in Soluble Carbohydrates during Seed Storage. *Plant Physiology* 98, 1207-1210.
- Bewley, J.D., 1994., In: Bewley, J.D., Black, M., (Eds.) *Seeds: Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, New York. 445p.
- Bobbio, F. O., Bobbio, P. A., 1985. In: Bobbio, F. O., Bobbio, P. A., (Eds.). *Introdução a química de alimentos*. Campinas, Fund Cargill, pp. 306.
- Borges, E. E. L.; Rena, A. B. 1993. Germinação de sementes. In: Aguiar, I. B.; Pina-Rodrigues, F. C. M.; Figliolia, M. B. *Sementes florestais tropicais*. Brasília, ABRATES, 350pp.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Buckeridge, M.S.; Santos, H.P. & Tiné, M.A.S., 2000. Mobilisation of storage cell wall polysaccharides in seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 38,141-156.
- Buckeridge, M.S., 2004a. Acúmulo de reservas. In: Ferreira, A.G., Borghetti, F. (Eds.) *Germinação: Do básico ao aplicado*. Artmed, Porto Alegre, pp. 324.

- Buckeridge, M.S., 2004b. Mobilização de reservas. In: Ferreira, A.G., Borghetti, F. (Eds.) Germinação: Do básico ao aplicado. Artmed, Porto Alegre, pp. 324.
- Buckeridge, M.S., 2010. Seed Cell Wall Storage Polysaccharides: Models to Understand Cell Wall Biosynthesis and Degradation. *Plant Physiology* 154, 1017-1023.
- Camargo, J.L.C., 2008. In: Camargo, J.L.C., Ferraz, I.D.K., Mesquita, M.R., Santos, B.A.; Brum, H.D., (Eds.), Guia de propágulos e plântulas da Amazônia. Manaus, INPA, pp.168.
- Carpita, N.C., Gibeaut, D.M., 1993. Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the cell wall during growth. *Plant Journal* 3, 1-30.
- Coelho C.M.M, Benedito V.A. 2008. Seed development and reserve compound accumulation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Seed Science and Biotechnology* 2, 45-52.
- Coelho, F.F., Capelo, C., Ribeiro, L.C., Figueira, J.E.C. 2008. Reproductive modes in *Leiothrix* (Eriocaulaceae) in south-eastern Brazil: the role of microenvironmental heterogeneity. *Annals of Botany* 101, 353-360.
- Corte, V.B., Borges, E.E.L., Pontes, Leite, I.T.A., Ventrella, M.C., Mathias, A.A., 2006. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento de plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth.(LeguminoseaCaesalpinioideae). *Revista Árvore* 30, 941-949.
- Dolferus, R., Klok, E. J., Delessest, C., Wilson, S., Ismond, K. P., Good, A. G., Peacock, W. J., Dennis, E., 2003. Enhancing the anaerobic response. *Annals of Botany* 91, 111-117.
- Dubois, M., Gilles, A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. 1956. Colorimetric method of determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350-355.
- Fenner, M., Thompson, K., 2006. In: Fenner, M., Thompson, K., (Eds.).The ecology of seeds. Cambridge, U.K. Cambridge: University Press, pp. 250.

- Ferreira, C.S., Piedade, M.T.F., Tiné, M.A.S., Rossatto, D.R., Parolin, P., Buckeridge, M.S., 2009. The role of carbohydrates in seed germination and seedling establishment of *Himatanthus sucuuba*, an Amazonian tree with populations adapted to flooded and non-flooded conditions. *Annals of Botany* 104, 1111-1119.
- Ferreira, C.S., 2010. Genetic Variability, Divergence and Speciation in trees of periodically Flooded Forests of the Amazon: A Case Study of *Himatanthus sucuba* (Spruce) Woodson. In: Junk, W.J., Piedade, M.T.F., Wittmann, F., Schongart, J., Parolin, P. (Eds.). *Amazonian Floodplain Forest*. London, New York. pp.301.
- Finkelstein, S., Grubb, P. J., 2007. Lipid concentration in the embryo–endosperm fraction of seeds of Australian tropical lowland rainforest trees: relevance to defence and dispersal. *Seed Science Research* 12,173–180.
- Franco, M., Silvertown, J. 1997. Life history variations in plants: an exploration of the fast-slow continuum hypothesis. In: Franco, M., Silvertown, J. J. & Harper, J.L. (Eds.). *Plant life histories*. Cambridge University, Cambridge, pp. 210-227.
- Garcia, Q.S., Jacobi, C.M., Ribeiro, B.A., 2007. Resposta germinativa de duas espécies de *Vellozia*(Velloziaceae) dos campos rupestres de Minas Gerais, Brasil. *Acta bot. bras.* 21, 451-456.
- Gonçalves, J.F.C., Lima, R.B.S., Fernandes, A.V., Borges, E.E.L., Buckeridge, M.S., 2010. Caracterização fisiológica e bioquímica do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) durante a germinação de sementes e crescimento de mudas em condições aeróbias e anaeróbias. *Revista Árvore* 34, 1045-105.
- Gorshokova, T .A., Wyatt, S.E., Salnikov, V .V ., Gibeaut, D.M., Ibragimov, M.R., Lozovaya, V .V . & Carpita, N.C.1996. Cell-wall polysaccharides of developing flax plants. *Plant Physiology* 110, 721-729.
- Graham, I.A., 2008. Seed Storage Oil Mobilization. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 115–42.
- Guimarães, R.M., 1999. *Fisiologia de sementes*. Lavras, UFLA-FAEPE, pp. 132.
- Hermana, E. M., Larkins, B. A., 1999. Protein Storage Bodies and Vacuoles. *The Plant Cell*. 11, 601–613.

- Hrmova, M., Banik, M., Harvey, A.J., Garret, T.P.J., Varghese, J.N.; Hol, P.B., Fincher, G.B. Polysaccharide hydrolases in germinated barley and their role in the depolymerisation of plant and fungal cell walls. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21, 67-72, 1997.
- Hoshizaki, K., Miguchi, H., 2005. Influence of Forest Composition on Tree Seed Predation and Rodent Responses: a Comparison of Monodominant and Mixed Temperate Forests in Japan. In: Forget P.M., Lambert, J.E., Hulme, P.E., Vander Wall, S.B., (Eds.) *Seed fate: predation, dispersal and seedling Establishment*. CAB, International, Wallingford, Uk, pp. 253-267.
- Kerbauy, G., 2008. *Fisiologia vegeta*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. 452p.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M., 2002. In: Lehninger, A. L. (Ed.) *Lehninger principles of biochemistry*. New York, Worth Publishers, pp. 975.
- Marcos, F. L., 2005. *Fisiologia de sementes plantas cultivadas*. Piracicaba. FEALQ, pp. 495.
- Metherel, A.H.; Taha A.Y.; Hamidzadi, Stark, K.D. 2009. The application ultra sound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed). *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 81, 417–423.
- Oliveira Wittmann, A., Piedade, M.T.F., Parolin, P., Wittmann, F. 2007. Germination in four low-várzea tree species of Central Amazonia. *Aquatic Botany* 86, 197-203.
- Oliveira-Wittmann, A., 2010. Seed Germination and Seedling Estabeleciment of Amazonian Floodplain Trees. In: Junk, W.J., Piedade, M.T.F., Wittmann, F., Schongart, J., Parolin, P. (Eds.). *Amazonian Floodplain Forest*. London, New York. pp. 259.
- Parolin, P., 2009. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. *Annals of Botany* 103, 359 – 376.
- Parolin, P., 2010. Fruit and seed Chemistry, Biomass and Dispersal. In: Junk, W.J., Piedade, M.T.F., Wittmann, F., Schongart, J., Parolin, P. (Eds.). *Amazonian Floodplain Forest*. London, New York. pp. 243.

- Piedade, M. T. F., Junk, W. J., & Parolin, P. 2000. The flood pulse and photosynthetic response of trees in white water floodplain (várzea) of the Central Amazon, Brazil. *Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, 27, 1734-1739.
- Piedade, M.T.F., Ferreira, C.S., Franco, A.C., 2010. Estrategias reproductivas de la vegetación y sus respuestas al pulso de la inundación en las zonas inundables de la Amazonía Central. *Ecosistemas* 19, 52-66.
- Rajjou, L., Debeaujon, I., 2008. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *Biologies* 331, 796-805.
- Ramadan, M.F.; Kinni, S.G.; Rajana, Y.N.; Seetharan, Y.N.; Seshagiri, M. Mörsel, J.T.M. 2009. Fatty acids, bioactive lipids and radical scavenging activity of *Celastrus paniculatus* Willd. Seed oil. *Scientia Horticulturae* 123, 104–109.
- Santos, H.P.; Buckeridge, M.S. 2004. The Role of the Storage Carbon of Cotyledons in the Establishment of Seedlings of *Hymenaea courbaril* Under Different Light Conditions. *Annals of Botany*, 94, 819-830.
- Shewry, Napier, J.A., Tatham, A.S., 1995. Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. *The Plant. Cell*. 7, 945-956.
- Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Márquez-Guzmán, J., Kitajima, K., Buen, A.G., Huante, P., 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany* 107, 939 – 951.
- Suda, C.N.K., Giorgini, J.F., 2000. Seed Reserve Composition and Mobilization During Germination and Initial Seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Revista Brasileira Fisiologia Vegetal* 12, 226-245.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2009. In: Taiz, L., Zeiger, E., (Eds.), *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre, Artmed , pp.819.
- Tiné, M.A.S., 1997. Mobilização de xiloglucano de reserva em sementes de *Hymenaea courbaril* L. Dissertação de mestrado. UNICAMP, pp.85.

Tonini, P.P., Purgatto, E., Buckeridge, M.S., 2010. Effects of abscisic acid, ethylene and sugars on the mobilization of storage proteins and carbohydrates in seeds of the tropical tree *Sesbania virgata* (Leguminosae). *Annals of Botany* 106, 607 – 616.

Zeeman, S.C., Smith, S.M., Smith, A.M., 2004. The breakdown of starch in leaves. *New Phytologist* 163, 247-261.

## **CAPÍTULO II**

**Germinação, formação, crescimento inicial e recuperação pós  
alagamento de plântulas de nove espécies arbóreas de  
florestas alagáveis da Amazônia**

## 1. INTRODUÇÃO

Para que uma semente germine é necessário um conjunto de condições ótimas como, quantidades ideais de luz, água, oxigênio e temperatura. Nas florestas sujeitas a alagamento, como aquelas distribuídas ao longo das planícies alagáveis da Amazônia, os eventos de dispersão de sementes, germinação e o estabelecimento das plântulas de grande parte das espécies, estão diretamente correlacionados às características da inundação, como a duração e a altura da coluna de água, sendo este um dos principais fatores que influencia a distribuição espacial e ocorrência das espécies nesses ecossistemas (Junk 1989; Wittman *et al.* 2002). Nas florestas alagáveis da Amazônia Central, o alagamento pode durar em médias seis meses, anualmente, e a altura da coluna de água subir até 12 metros (Junk *et al.* 1989, CPRM, 2011). Sob tais condições, anualmente as plântulas podem permanecer submersas por longos períodos (Junk *et al.* 1989; Parolin e Junk, 2002).

Devido a essa alternância nas condições ambientais, a maioria das espécies arbóreas das florestas inundáveis amazônicas sincroniza a floração e a frutificação de modo a que estas ocorram em sincronia com o ciclo hidrológico, permitindo a dispersão dos diásporos pela água ou por peixes (Kubtzki e Ziburski, 1994; Wittmann e Parolin, 1999; Parolin, 2002). Nesses ambientes, a capacidade de flutuação dos diásporos é considerada uma característica importante para sua dispersão, pois a flutuação pode aumentar a distância de dispersão das sementes, em especial aquelas que são pequenas, tendo estas maior probabilidade de serem ingeridas por peixes. As sementes da maioria dessas espécies permanecem viáveis depois de passarem longos períodos submersas, até que as condições se tornem propícias para que elas possam germinar e formar uma plântula, visto que elas dispõem de um curto período de tempo para se estabelecerem antes que o nível das águas volte a subir (Kubtzki e Ziburski, 1994; Parolin e Junk, 2002, Ferreira *et al.* 2009, Oliveira-Wittmann *et al.* 2010).

Outro fator relevante para o sucesso reprodutivo é a resposta germinativa às condições do meio. A adaptação às condições locais e a plasticidade de resposta são características importantes, tanto para o estabelecimento efetivo dentro da população, como para ocupação de novos ambientes (Venable e Brown, 1988). Nas áreas inundáveis um dos principais fatores limitantes ao processo de germinação é o suprimento de oxigênio. A saturação hídrica do solo altera sua estrutura, por reduzir a quantidade de oxigênio, cuja difusão é  $10^4$  vezes menor na água do que no ar (Armstrong 1979), acumulando  $\text{CO}_2$ , e induzindo a decomposição anaeróbica da

matéria orgânica (Janiesch, 1991). Um grande número de sementes de plantas terrestres que possui alta taxa de germinação no solo não germina na água, pois estas perdem rapidamente a viabilidade sob tais condições (Parolin, 2001). Em muitos casos, isto ocorre porque a ativação dos processos fisiológicos necessários para que a germinação ocorra requerem um suprimento adequado de oxigênio (Kozłowski e Pallardy, 1997).

Embora o alagamento possa causar severos danos ao processo de germinação, as sementes respondem diferentemente à hidratação. Nas florestas alagáveis da Amazônia a saturação de água do solo não impede que algumas plantas germinem suas sementes e produzam plântulas enquanto ainda estão boiando ou mesmo submersas (Parolin e Junk, 2002; Scarano *et al.*, 2003; Ferreira *et al.*, 2006; Oliveira-Wittmann, 2007). Estudos realizados sob condições experimentais indicam que as plântulas de algumas espécies são altamente tolerantes a inundação podendo sobreviver por vários meses totalmente submersas (Parolin, 2002; Parolin e Junk, 2002; Ferreira *et al.*, 2006, 2009). No entanto, o grau de tolerância de cada espécie pode variar de acordo com a sua posição no gradiente de inundação (Junk, 1989). A vegetação que ocupa as cotas mais baixas está mais bem adaptada à essas condições, em relação àquela que ocupa cotas mais altas (Wittmann *et al.*, 2002; Parolin *et al.*, 2003).

Parolin (2002) em um estudo com 31 espécies das florestas alagáveis da Amazônia Central, mostrou que nesses ecossistemas é possível reconhecer estratégias distintas de crescimento para o estabelecimento da plântula e que estariam, em alguns casos, relacionadas também com o tamanho da semente. Um dos métodos utilizados para aferir o tamanho da semente é com base na sua massa seca. Em geral, o tamanho da semente está ligado ao tipo de reserva e as condições ambientais estabelecidas e podem refletir os diferentes problemas enfrentados durante o estabelecimento da plântula (Green e Juniper, 2004; Norden *et al.* 2008; Nik *et al.* 2011 ). Porém, no caso das florestas alagáveis da Amazônia, o crescimento das mudas pode ser fortemente influenciado pelas condições do ambiente, pois reflete tanto as respostas evolutivas ao habitat quanto do tamanho da semente (Parolin, 2002, Ferreira *et al.* 2010). No trabalho de Parolin (2002), a autora verificou que as espécies das porções mais elevadas do gradiente de inundação e que não toleram a submersão, apresentavam tanto sementes grandes quanto pequenas e possuíam um rápido crescimento em altura, a fim de manter uma parte da planta fora da água e assim “fugir do alagamento”. Enquanto que, as espécies que colonizam as porções mais baixas, possuíam sementes pequenas e precisam desenvolver estratégias para “tolerar o alagamento”, uma vez que não

conseguiram escapar da submersão, devido a altura da coluna de água nesses locais (Parolin, 2002). De fato, o tamanho das sementes pode ser um aspecto importante no que concerne a adaptabilidade às pressões do ambiente, como por exemplo, a sazonalidade do ecossistema, a topografia local e a frequência das perturbações ( Kelly e Purvis 1993; Hammond e Brown 1995).

Apesar da magnitude e importância das florestas inundáveis da Amazônia, pouco se sabe sobre os processos de regeneração por sementes desses ecossistemas. Estudos sobre a fisiologia da germinação e estabelecimento de plântulas nessas áreas ainda são escassos (Scarano 1998; Parolin e Junk 2002, Parolin, 2001, Ferreira *et al.* 2006; Conserva, 2007; Oliveira-Wittmann *et al.* 2007). Assim sendo, o conhecimento dos processos ligados aos estágios iniciais de estabelecimento da planta, como a germinação da semente, emergência e crescimento das plântulas, podem gerar instrumentos importantes para a compreensão das diferentes estratégias que as espécies utilizam para sobreviver em condições de fortes pressões ambientais, como aquelas às quais estão expostas as árvores das florestas alagáveis amazônicas.

O presente trabalho teve como objetivo, avaliar o tamanho da semente e as características de germinação em nove espécies comumente encontradas nas porções mais baixas do gradiente de inundação das florestas inundáveis da Amazônia. Objetivou-se ainda acompanhar a formação e o crescimento inicial de plântulas em condições de alagamento, bem como a recuperação dessas plântulas após sair do alagamento. As espécies estudadas foram: *Albizia subdmidiata*, *Laetia corymbulosa*, *Pouteria glomerata*, *Crateva tapia*, *Pseudobombax munguba*, *Genipa americana*, *Eugenia inundata*, *Simaba guianensis* e *Parkia discolor*.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Classificação do tamanho da semente**

Devido à grande variedade de formas das sementes (ver capítulo 1, deste trabalho), foi feito o agrupamento destas em classes de tamanho, com base na sua massa seca. Para tanto, foram separados cinco lotes com dez sementes cada, obteve-se a massa seca através do método de secagem em estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , por 24 horas (Brasil, 2009), após o que as sementes foram pesadas em balança de precisão 0,0001g, e os resultados expressos em gramas. As sementes foram classificadas em duas classes, de acordo com

os valores médios de massa seca de 50 sementes, sendo a Classe 1  $\leq$  1g e a Classe 2  $>$  1g.

## 2.2. Germinação

Os experimentos de germinação e formação de plântulas foram conduzidos nas dependências do laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade de Brasília - UnB. Foram utilizadas sementes de frutos maduros, coletados diretamente das espécies no campo, de três a cinco matrizes, de acordo com a disponibilidade. As sementes foram beneficiadas (tiradas do fruto e lavadas em água corrente) e homogeneizadas, obtendo-se amostras compostas de sementes para cada espécie. As sementes foram submetidas a dois tratamentos: (a) alagado, e (b) controle (não-alagado). Para o tratamento de alagamento foram utilizadas caixas gerbox (4 réplicas de 25 sementes) com água destilada (340 mL) de modo que as sementes ficassem totalmente submersas (Fig. 1F e G, anexo). No tratamento controle as sementes foram distribuídas em placas de Petri e/ou caixas gerbox de acordo o tamanho das sementes, com dupla camada de papel de filtro (4 réplicas de 25 sementes), umedecidas diariamente com água destilada. Todas as sementes passaram por um processo de desinfecção em uma solução de hipoclorito de sódio 10% durante 5 minutos e em seguida lavadas em água destilada para retirar o excesso de hipoclorito. As sementes de *P. discolor* passaram por um processo para quebra de dormência tegumentar conforme literatura (Pereira & Ferreira, 2010). Adotou-se o método de escarificação mecânica com lixa nº 15. *A. subdimidiata* nenhuma das sementes de postas para germinar nos tratamentos controle e alagamento emitiram radícula após 30 dias. De modo que foi utilizado o mesmo método de quebra de dormência citado acima para as sementes de *A. subdimidiata*. Os experimentos foram montados em câmaras de germinação tipo BOD a 28°C, e fotoperíodo de 12 horas. Adotou-se como indicativo de germinação a protrusão e encurvamento gravitrópico da radícula. A germinação foi avaliada diariamente com contagem e remoção das sementes germinadas. Foi realizado teste de viabilidade com uso de tetrazólio (trifenil tetrazólio 1%) (Moore, 1973) nas sementes que não germinaram até o final do estudo, que foi de 32 semanas (alagamento e controle). Foram consideradas viáveis as sementes que apresentaram coloração uniforme rósea no eixo embrionário. Durante os experimentos, foram avaliados a porcentagem (%) e o tempo médio de germinação (Tm) das sementes das nove espécies arbóreas. Para verificar as possíveis alterações (hipóxia ou anóxia), nas concentrações normais de oxigênio nos experimentos, foram tomadas as medidas de

O<sub>2</sub> dissolvido na água a cada semana, com um oxímetro digital modelo DM- 4P Digmed e as medidas expressas em mg.L . Os valores médios de oxigênio obtidos foram  $4,9 \pm 1,0$ mg/L.

### **2.3. Experimento de alagamento: formação e crescimento inicial de plântulas**

Após a germinação das sementes, no tratamento controle, foi feita a transferência destas para recipientes de plástico (300 mL), contendo como substrato solo comercial Bioplant, e acompanhado a formação e o crescimento inicial da plântula por 30 dias. As sementes que germinaram no tratamento de alagamento foram logo transferidas para potes plásticos contendo água destilada (500 mL; Fig. 1, anexo) afim de se verificar a formação de plântulas na água e acompanhar o tempo máximo que estas permaneciam saudáveis (sem sinais aparentes de necrose) em condições de alagamento. As concentrações de oxigênio dissolvido na água foram verificadas seguindo o procedimento descrito para o experimento de germinação que foram de  $4,9 \pm 1,0$ mg/L.

### **2.4. Recuperação de plântulas após o alagamento**

As plântulas do experimento de alagamento foram mantidas na água até que apresentassem sintomas de injúrias, definidos como apodrecimento/necrose das raízes. Quando esse sintoma era observado em cerca de 20% das plântulas, as plântulas restantes com aparência saudável eram transferidas para recipientes plásticos, com substrato comercial Bioplant, e em seguida colocadas em câmaras de germinação tipo BOD à 28°C, com fotoperíodo de 12 horas. As plântulas permaneceram nestas condições por três semanas, para que pudesse ser acompanhada sua recuperação e sobrevivência após o alagamento.

### **2.5. Massa seca de plântulas**

A avaliação da massa seca foi feita para as plântulas do experimento controle, de forma individualizada em um total de 20 plântulas de cada espécie. As plântulas inteiras foram levadas para secar em estufa de circulação forçada a 95° C por 72h e pesadas em balança de precisão de 0,0001g, para quantificação da massa seca.

## 2.6. Análises Estatísticas

Os resultados de germinação foram avaliados segundo Labouriau (1983), onde a porcentagem de germinação (%G), representa o número total de sementes germinadas em relação ao número de sementes colocadas para germinar.

$$\%G = (\sum ni \cdot N^{-1}) \cdot 100$$

$\sum ni$  = número de sementes germinadas em relação número total de sementes colocadas para germinar (N).

O tempo médio (dias) corresponde à média do tempo necessário para um conjunto de sementes germinar, dando ao processo um caráter cinético (Borghetti & Ferreira, 2004).

$$T_m = \sum ni \cdot t_i / \sum ni$$

Onde:  $n_i$  é o número de sementes germinadas dentro de determinado intervalo de tempo  $t_{i-1}$  e  $t_i$

A porcentagem de sementes viáveis (V) foi calculada de acordo a seguinte equação:

$$V = \frac{N^\circ \text{ de sementes viáveis} \times 100 \%}{N^\circ \text{ total de sementes}}$$

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com arranjo fatorial 2 x 8 (2 tratamentos efeito fixo e 8 espécies efeito aleatório). Os dados de porcentagem de germinação, tempo médio ( $T_m$ ) e produção de plântulas foram transformados em arco-seno  $(x/100)^{0,5}$ , para atender as premissas de normalidade (de acordo o teste de Kolmogorov-Smirnov) e homocedasticidade de variância de acordo o teste de Levene, e submetidos à análise de variância para verificar a interação entre os fatores. A comparação de medias foi feita pelo teste de Fischer ( $\alpha = 0.05$ ) para porcentagem de germinação e Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para os demais dados, (Zar, 1999). Análise de Cluster foi realizada utilizando as variáveis de germinação, utilizou-se o

método hierárquico aglomerativo de Ward, tendo como medida de dissimilaridade a distância euclidiana. A regressão linear foi utilizada para testar a relação entre a massa seca das sementes e o peso seco das plântulas (com trintas dias de observação). Os softwares utilizados foram: Statistica 8.0 e PCORD5. Gráficos foram construídos no software SigmaPlot 11.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Tamanho da semente

Todas as espécies apresentaram sementes pequenas, segundo as Regras de Análises de Sementes (Brasil, 2009), sendo que as espécies *A. subdimidiata*, *L. corymbulosa*, *P. munguba*, *G. americana*, *E. inundata* foram distribuídas na Classe 1 (massa de 50 sementes  $\leq$  1g) e *P. glomerata*, *S. guianensis*, *P. discolor* e *C. tapia*, na Classe 2 (massa de 50 sementes  $>$  1g) (Tab. 1).

**Tabela 1:** Massa seca de sementes de nove espécies arbóreas das florestas alagáveis da Amazônia. Classe 1  $\leq$  1g e a Classe 2  $>$  1g. Média  $\pm$  desvio padrão.

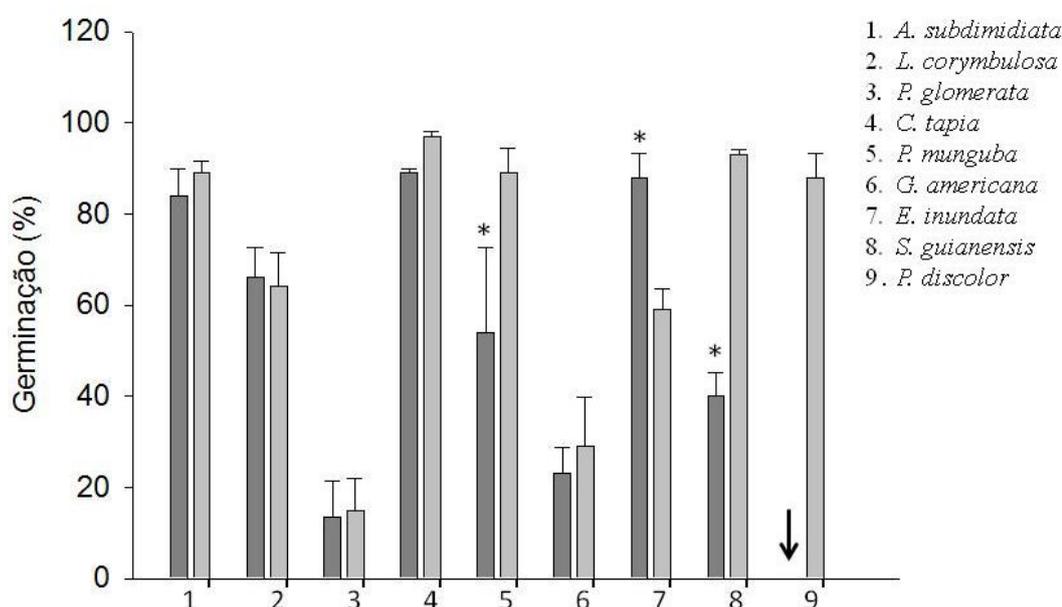
Espécies	Massa seca semente	Classes
	(g)	
<i>A. subdimidiata</i>	0,38 $\pm$ 0,01	1
<i>L. corymbulosa</i>	0,07 $\pm$ 0,01	1
<i>P. glomerata</i>	23,08 $\pm$ 1,03	2
<i>C. tapia</i>	1,65 $\pm$ 0,12	2
<i>P. munguba</i>	0,26 $\pm$ 0,03	1
<i>G. americana</i>	0,08 $\pm$ 0,04	1
<i>E. inundata</i>	0,62 $\pm$ 0,07	1
<i>S. guianensis</i>	2,09 $\pm$ 0,27	2
<i>P. discolor</i>	3,43 $\pm$ 0,17	2

#### 3.2. Germinação

As maiores porcentagem de germinação na água foram de *C. tapia*, *E. inundata* e *A. subdimidiata* (89, 88 e 84%), porém, apenas para *E. inundata* esses valores mostram-se estatisticamente significativos quando comparados com o tratamento controle (59%;  $p < 0.05$ ). Já as espécies *S. guianensis*, e *P. munguba* apresentaram estatisticamente ( $p < 0.05$ ) os menores valores médios de germinação, no tratamento de

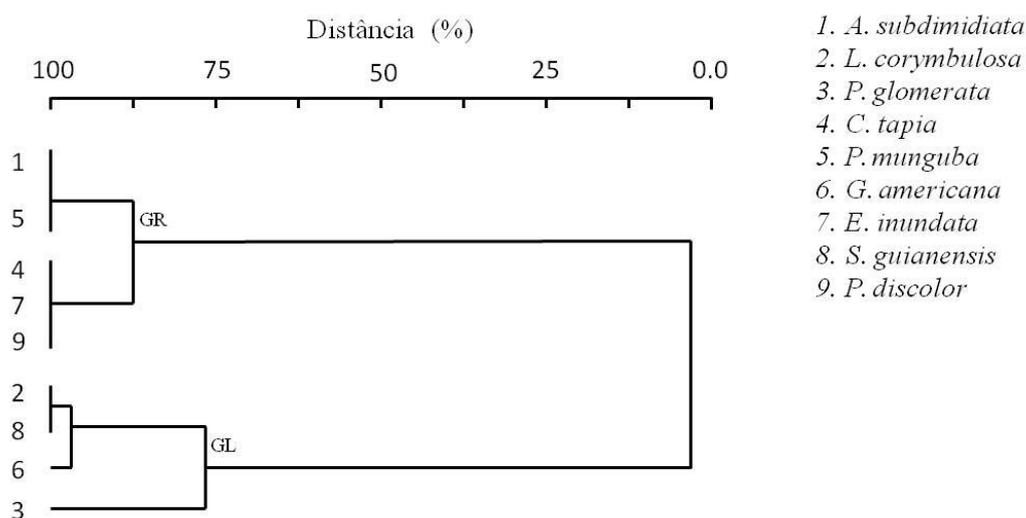
alagamento quando comparado com o controle (40 alagado, 93% controle; 54 alagado, 89% controle,). Entre as espécies estudadas *P. glomerata* foi a que apresentou o menor número de sementes germinadas no tratamento controle (20%), valores estatisticamente não significativos quando comparados com os obtidos no tratamento de alagamento ( $p < 0.05$ ), (Fig.1).

O teste de viabilidade (tetrazólio) foi aplicado a todas as sementes que não germinaram nos experimentos e o percentual de sementes viáveis foi obtido a partir do total de sementes colocadas para germinar. Aquelas que apresentavam embriões viáveis no tratamento de alagamento foram *S. guianensis* (15 sementes ~ 15%), *C. tapia* (3 sementes ~3%) e *G. americana* ( 2 sementes ~ 2%). No tratamento controle foram *A. subdimidiata* (4 sementes ~ 4%) e *G. americana* (5 sementes 5%). Nos dois tratamentos, as demais espécies que tiveram sementes não germinadas, apresentaram o embrião morto. Não foi realizado o teste de viabilidade para as sementes de *L. corymbulosa*, *P. munguba* e *P. glomerata*, pois as características das sementes tornaram sua manipulação impossível sob risco de danificar o embrião.



**Figura 1.** Porcentagem de germinação de sementes submetidas a alagamento e não-alagada. Símbolos: (\*) indicam diferenças significativas entre os tratamentos de acordo com o teste de Fisher ( $P < 0,05$ ), seta a ausência de sementes germinadas. Barras indicam médias  $\pm$  erro padrão. Alagado ■ e controle □

A germinação das sementes de oito das nove espécies no experimento controle ocorreu durante os primeiros 60 dias, com exceção de *P. glomerata* que teve um tempo médio de germinação de 140 dias. Foram reconhecidos dois grupos pela análise de cluster, espécies com uma germinação rápida e espécies com germinação lenta. As espécies que apresentaram uma germinação rápida, (<25 dias) foram: *A. subdimidiata*, *P. munguba*, *C. tapia*, *E. inundata*, e *P. discolor*. Já as espécies *L. corymbulosa*, *S. guianensis*, *G. americana*, e *P. glomerata* tiveram uma germinação lenta (>20 dias) (Fig.3). No tratamento de alagamento a germinação ocorreu num período de até 70 dias, exceto para *S. guianensis* cujo Tm foi de 100 dias. Essas diferenças observadas na germinação das espécies quando submetidas ao alagamento como a redução do Tm (*P. glomerata* e *E. inundata*), ou mesmo um aumento (*S. guianensis*, *L. corymbulosa*, *C. tapia*, *P. munguba* e *A. subdimidiata*.), (Fig. 2), não foram estatisticamente significativas, ( $F=1,81$ ;  $p=0,10$ ).

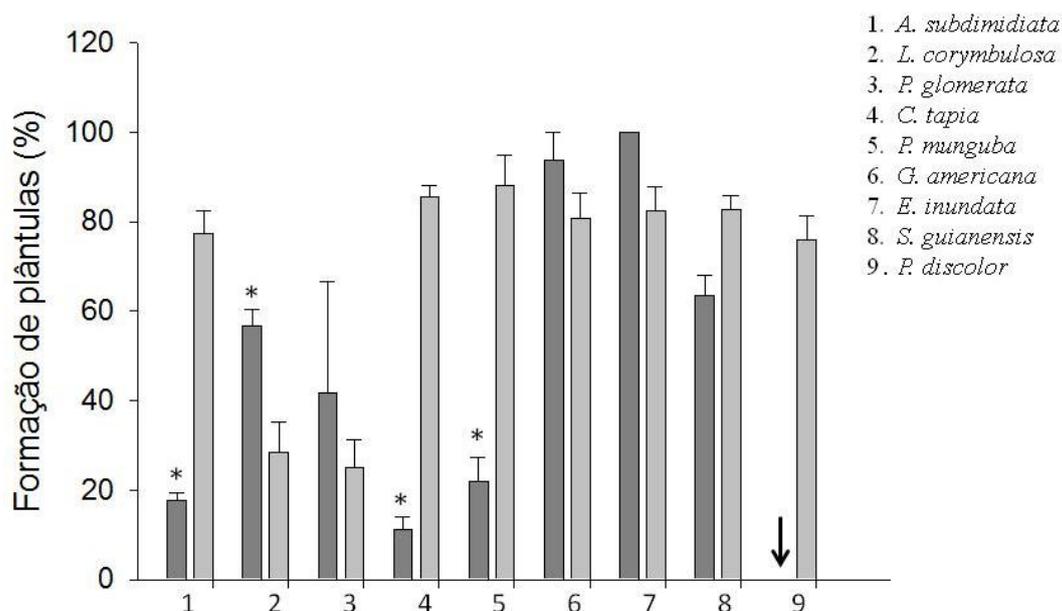


**Figura 2.** Dendrograma da análise de cluster. Divisão de acordo a germinação e o tempo médio de germinação. Germinação rápida (GR) e germinação lenta (GL).

### 3.2. Formação e crescimento inicial de plântulas

Todas as espécies que germinaram produziram plântulas saudáveis quando submersas (48,37%), porém, a produção de plântulas em condições de submersão foi significativamente ( $F= 23,59$ ;  $p= 0.000$ ) menor em relação ao número de plântulas produzidas em condições controle (67,96%). As maiores porcentagens de formação de

plântulas submersas foram observadas para *E. inundata* (100%), seguida por *G. americana* (93,8%), *S. guianensis* (63,7%), *L. corymbulosa* (56,7%), e *P. glomerata* (41,7%). A menor produção de plântulas submersas foi em *C. tapia* (13,5%), *A. subdimidiata* (17,86%) e *P. Munguba* (21,9%). Porém, *E. inundata* e *G. americana* não mantiveram a alta porcentagem de produção de plântulas no experimento controle (Fig. 3).



**Figura 3.** Produção de plântulas alagadas e controle de 9 espécies arbóreas de florestas inundáveis da Amazônia de acordo o número de sementes germinadas. Símbolo (\*) indica diferença estatística entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Barras indicam médias  $\pm$  erro padrão. Alagado ■ e controle □

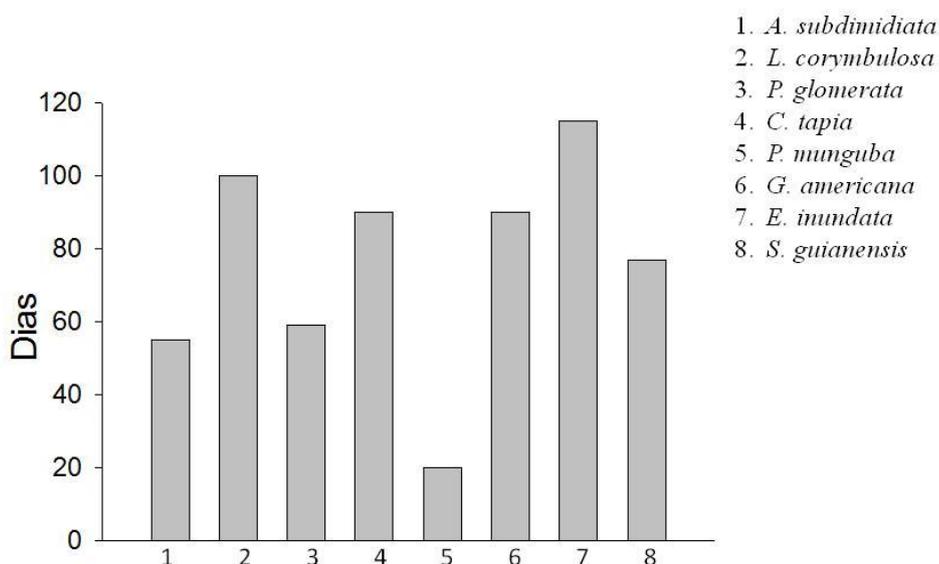
O tamanho e massa seca das plântulas variaram bastante entre as espécies. *P. discolor*, *P. munguba*, *S. guianensis* e *C. tapia* foram as que apresentaram as maiores plântulas ( $> 20\text{cm}$ ) seguido dos maiores valores de massa seca (0.17g). O menores valores de crescimento e massa seca verificados foram de *A. subdimidiata* (10.7cm; 0.02g) (Tab. 2).

**Tabela 2.** Crescimento (cm) inicial e biomassa de plântulas do controle de oito espécies de florestas alagáveis da Amazônia. Médias  $\pm$  erro padrão, n = 20.

Espécies	Plântulas	
	Crescimento (cm)	Massa seca (g)
<i>A. subdimidiata</i>	10.70 $\pm$ 0.70	0.02 $\pm$ 0.00
<i>L. corymbulosa</i>	11.29 $\pm$ 0.79	0.05 $\pm$ 0.01
<i>C. tapia</i>	22.43 $\pm$ 1.35	0.17 $\pm$ 0.01
<i>P. Munguba</i>	31.62 $\pm$ 1.28	0.22 $\pm$ 0.01
<i>G. americana</i>	11.75 $\pm$ 1.08	0.09 $\pm$ 0.02
<i>E. inundata</i>	16.48 $\pm$ 0.87	0.05 $\pm$ 0.01
<i>S. guianensis</i>	20.14 $\pm$ 1.47	0.17 $\pm$ 0.02
<i>P. discolor</i>	27.33 $\pm$ 0.86	0.39 $\pm$ 0.11

*P. glomerata* não formou plântula no tratamento controle.

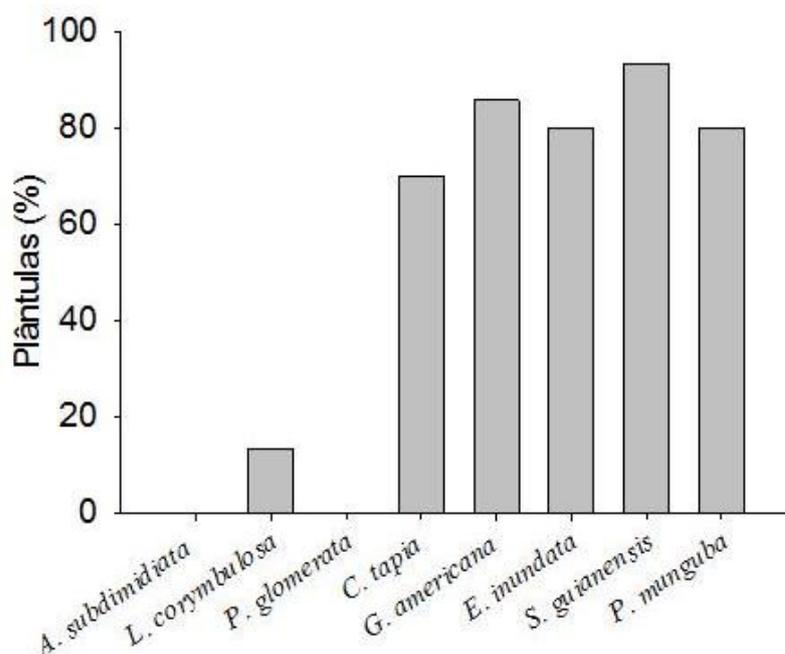
Quanto à tolerância das plântulas ao alagamento *P. munguba*, foi a espécie que tolerou por menos tempo a inundação. Com apenas 20 dias de experimento as plântulas apresentaram sinais de necrose nas raízes, seguido de *A. subdimidiata* (55 dias) e *P. glomerata* (59 dias). As espécies que se mostraram mais tolerantes ao alagamento foram: *E. inundata* que permaneceu 115 dias na água até apresentar os primeiros sinais de necrose na radícula, seguido de *L. corymbulosa* (100 dias), *G. americana* (90 dias), *C. tapia* (90 dias) e *S. guianensis* (77 dias), (Fig. 4).



**Figura 4:** Tempo (dias) que as plântulas do experimento de alagamento, das oito espécies das florestas inundáveis da Amazônia permaneceram alagadas até que aparecessem sinais de necrose na radícula.

### 3.4. Recuperação de plântulas após o alagamento

As plântulas do experimento de alagamento que apresentavam aspecto saudável, sem sinais de necrose na radícula ou folhas, após vinte dias de transferência para o solo apresentaram as seguintes taxas de sobrevivência: *E. inundata* (93%), *S. guianensis* (80%), *G. americana* (80%), *C. tapia* (70%), *P. munguba* (85%) e *L. corymbulosa* (13%). As plântulas de *A. subdimidiata* e *P. glomerata* não sobreviveram depois de retiradas da água e colocadas no solo (Fig. 5).



**Figura 5.** Porcentagem de sobrevivência de plântulas produzidas em condições de alagamento, quando observadas por vinte dias no pós-alagamento.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Tamanho da semente

Foi muito variável o tamanho das sementes das nove espécies estudadas. Essa variedade observada pode estar associada a diversos fatores, como os estágios sucessionais da floresta, uma vez que, dentre as nove espécies aqui avaliadas há tanto aquelas de estágios iniciais como secundários das florestas alagáveis da Amazônia e, segundo estudos o tamanho das sementes pode variar em diferentes estágios de sucessão de uma floresta (Foster e Janson 1985; Conserva, 2007). A morfologia das sementes também pode refletir as diferentes estratégias de dispersão e estabelecimento das plantas (Harper *et al.*, 1971; Fenner, 1983; Westoby *et al.*, 1992; Parolin, 2000; Fenner e

Thompson, 2006; Soriano *et al.*, 2012), pois o tamanho e a massa seca das sementes pode afetar a distância que estas serão dispersas tendo em vista que sementes menores são mais facilmente ingeridas pelos peixes, ou mesmo transportadas por vetores como o vento e a água (Moegenburg, 2002), principais dispersores nas áreas alagáveis (Kubitzki e Ziburski, 1994). Embora os atributos morfológicos da semente, que incluem o tamanho, possa ainda ser um fator inerente do genótipo, dependendo das pressões ambientais exercidas em alguns ambientes, essa característica também pode representar um fator de seleção das espécies para colonizar determinados ecossistemas. Nas áreas inundáveis da Amazônia, por exemplo, sementes grandes são encontradas principalmente em ambientes pobres em nutrientes como as florestas de igapó, já sementes pequenas a médias com massa em torno de 1g em média, são predominantes nas florestas de várzea (Parolin, 2000).

#### 4.2. Germinação

Com exceção de *P. discolor*, todas as espécies apresentaram sementes germinando em condição de alagamento. No caso *P. discolor*, as sementes escarificadas apodreceram quando foram colocadas na água. Resultados semelhantes foram obtidos por Scarano e Crawford, (1992), para *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp., que embora tenha sementes que toleram longos períodos submersão, não germinaram na água. A porcentagem de germinação na água de *L. corymbulosa* e *C. tapia* foi elevada (64% e 97%, respectivamente) e diferiu da encontrada por Oliveira-Wittmann *et al.* (2007) e Koshikene (2004), cujos valores máximos foram de 40%. Embora a germinação na água possa ocorrer para algumas espécies que colonizam as áreas alagáveis da Amazônia (Ferreira *et al.* 2005, Koshikene 2005, Oliveira Wittmann *et al.* 2007) essa não é uma estratégia comum de se encontrar entre as espécies arbóreas, o que sugere uma adaptação desenvolvida por essas espécies ao longo do tempo as inundações anuais a que são submetidas nesses ambientes.

A tolerância ao alagamento é uma característica importante especialmente nas florestas alagáveis da Amazônia onde as plantas têm de passar vários meses alagadas ou mesmo submersas. Os resultados aqui demonstram que a tolerância ao alagamento variou entre as espécies. Por exemplo, *S. guianensis* e *P. munguba* apresentaram uma redução significativa da germinação quando as sementes foram submetidas ao

alagamento. No entanto, algumas espécies conseguiram germinar melhor suas sementes na água, este foi o caso de *E. inundata*. Nas florestas de igapó a família Myrtaceae está entre aquelas que possuem maior número de espécies (Scudeller *et. al.*, 2009), sendo *E. inundata* uma das espécies dominantes, principalmente nas zonas mais baixas do gradiente de inundação, que passam mais tempo alagadas durante o ano (Oliveira *et. al.*, 2001). A vantagem da germinação na água, é que esta possa favorecer o estabelecimento do novo indivíduo quando começar a fase terrestre.

Em florestas tropicais uma rápida germinação é importante, visto que a maioria das espécies possuem sementes recalcitrantes, conhecidas por perder rapidamente viabilidade se expostas por muito tempo a ambientes secos (Bewley e Black, 1994), período que coincide com a redução das precipitações nas florestas alagáveis da Amazônia (Parolin e Wittmann, 2010). A maioria das espécies aqui estudadas apresentou uma germinação rápida, até mesmo aquelas que germinaram alagadas, uma vez que não houve diferença estatística significativa entre o tempo de germinação dos tratamentos controle e alagamento. Uma germinação rápida é característica de espécies cuja estratégia é se estabelecer no ambiente enquanto as condições ainda são favoráveis para o desenvolvimento do novo indivíduo (Oliveira-wittmann, *et al.* 2007). O tempo médio de germinação também pode ser um bom índice para avaliar a rapidez com que uma espécie pode ocupar determinado ambiente (Ferreira *et al.* 2001), nas florestas alagáveis amazônicas estas espécies poderiam ter mais tempo para estabelecer uma plântula, provavelmente reduzindo as perdas causadas pelas frequentes inundações, especialmente para as que ocupam as porções mais baixas do gradiente topográfico.

*Pouteria glomerata* foi a espécie que apresentou as menores porcentagens de germinação, tanto no controle quanto em alagamento, com a germinação ocorrendo de forma lenta e irregular por longo período de tempo. De acordo com Baskin e Baskin (1998) esse comportamento germinativo é indicativo de dormência fisiológica em que uma das causas pode ser a imaturidade do embrião. Porém, devido à dureza do envoltório da semente, não foi possível analisar o embrião e testar a viabilidade das sementes que não germinaram. No entanto, faz-se necessário um estudo mais detalhado deste aspecto, visto que a dormência é uma forma natural de permitir que a semente inicie a germinação quando as condições ambientais venham a favorecer a sobrevivência da plântula (Perez, 2004), evitando a perda de toda a população durante a fase aquática (Kozlowski, 1984).

### 4.3. Formação e crescimento inicial de plântulas

Existe uma variedade de fatores bióticos e abióticos que podem afetar a produção, estabelecimento, desenvolvimento e sobrevivência de plântulas de espécies arbóreas. A forma como as espécies respondem a esses fatores vai determinar o sucesso ou não de uma população em estabelecer novos indivíduos no ambiente. Nas planícies inundáveis da Amazônia, a submersão é um dos principais elementos que determinam o destino das plântulas da maioria das espécies. Assim, plântulas não adaptadas a flutuações dos níveis da água nesses ecossistemas, tendem a sofrer elevados índices de mortalidade (Melo *et al.* 2004). Para as espécies do presente trabalho, a saturação hídrica do solo parece não afetar a capacidade de desenvolvimento pós-seminal, uma vez que todas aquelas que tiveram sementes germinando na água, conseguiram formar plântulas normais enquanto estavam alagadas, corroborando a hipótese inicial desse estudo. Contudo, para que essa seja, de fato, uma estratégia de sucesso, as espécies devem dispor de mecanismos eficientes e coordenados que possibilitem a permanência da semente germinada e/ou da plântula flutuando, até a exposição do solo e sua fixação neste e com o consumo das reservas acumuladas, cujo esgotamento deve coincidir com o estabelecimento das plântulas no ambiente, caso contrário estas provavelmente morreria. Uma vez que durante os estágios iniciais de crescimento a plântula depende das reservas acumuladas na semente para se desenvolver. Portanto a quantidade e o tipo de substâncias acumuladas nas sementes é um dos fatores determinantes quanto à adaptabilidade das espécies a seus respectivos ambientes como verificado neste estudo (vide capítulo 1 deste trabalho).

Os resultados apresentados mostram que embora algumas plantas consigam sobreviver vários meses alagadas como *E. inundata*, outras não suportam longos períodos de alagamento (*P. munguba*). Resultados parecidos foram encontrados para algumas espécies arbóreas das florestas de várzea da Amazônia (Parolin *et al.* 2003; Parolin e Junk, 2002; Ferreira *et al.* 2006; 2009). De acordo com esses dados, para que a produção de plântulas na água seja eficiente nesses ambientes, a dispersão dos propágulos deve estar sincronizado com o final do pico máximo da cheia, o que poderia diminuir as chances das plântulas morrerem antes mesmo do início da fase terrestre. Uma vez que, a capacidade das plantas em manter suas raízes e ramos vivos até o início da fase terrestre pode favorecer a fixação e o rápido estabelecimento do indivíduo jovem durante a descida das águas (Sacarano *et al.* 2003). Assim, um aumento na frequência e

duração das inundações não traria graves danos principalmente para as espécies que ocupam as porções mais baixas das florestas inundáveis da Amazônia.

#### **4.4. Recuperação de plântulas após o alagamento**

A produção de plântulas saudáveis na água e a sobrevivência das espécies deste estudo após serem transplantadas para o solo indicam que estas plantas estão altamente adaptadas às condições extremas existentes nesses ecossistemas, como as restrições de oxigênio causadas pelo alagamento, bem como aos efeitos nocivos da reaeração. Estudos mostram que a maioria das espécies sofrem mais com a reaeração que mesmo com os baixos níveis de oxigênio causados pelo alagamento, períodos de hipóxia seguidos de reaeração pode prejudicar severamente o metabolismo da plântula inteira, levando-a a morte (Biemelt *et al.* 1998).

Segundo Lopez e Kursar (1999), o modo como as plantas respondem a eventos que ocorrem pós-alagamento (toxicidade do oxigênio e secagem do solo), desempenha um importante papel, na determinação de quais espécies são mais competitivas em ambientes sazonalmente inundados. As características verificadas nas espécies aqui estudadas provavelmente lhes confere uma vantagem competitiva. Pois as plantas disporiam de mais tempo para o aproveitamento e captação de recursos do solo. Podendo apresentar melhores condições de sobrevivência quando as águas subirem, período que ficarão completamente submersas durante vários meses (Parolin, 2001). Principalmente aquelas que ocupam as porções mais baixas do gradiente de inundação, que dispõem de pouco tempo para se estabelecerem, visto que são as primeiras a serem inundadas e as últimas a saírem do alagamento (Parolin, 2009). Este é o caso das espécies avaliadas neste trabalho.

#### **4.5. Massa seca das sementes *versus* biomassa das plântulas**

Estudos recentes tem mostrado que a massa das sementes é considerada um atributo importante para a germinação, desenvolvimento e estabelecimento da plântula (Leishman *et al.* 2000; Melo *et al.* 2004, Norden *et al.* 2008, Henning *et al.* 2010). Sementes grandes apresentariam maior conteúdo de reservas, porque teriam sido mais bem nutridas durante seu desenvolvimento (Carvalho & Nakagawa, 2000). E produziriam plântulas com maior probabilidade de sucesso no estabelecimento, pois

estas conseguiriam sobreviver por mais tempo à custa das reservas da semente, especialmente em locais onde as condições ambientais não permitem o aproveitamento das reservas nutricionais e hídricas do solo e a realização da fotossíntese. Os resultados obtidos neste estudo mostram que, embora o tamanho das sementes tenha influenciado diretamente a biomassa das plântulas, essa característica não influenciou na formação de plântulas, no tempo de resistência ao alagamento das plântulas (necrose nos tecidos) e na recuperação das plântulas pós-alagamento, uma vez que não foram as maiores sementes que tiveram maior sucesso. Assim, a tolerância ao alagamento pode estar estritamente relacionada não apenas com a quantidade de reservas acumuladas pela semente, mas a qualidade dessas reservas e o potencial de uso nas diferentes etapas do desenvolvimento inicial de plântulas (vide capítulo 1, deste trabalho).

## 5. CONCLUSÕES

Embora a literatura relate que espécies com sementes maiores tenham um melhor desempenho, pois, teriam maiores quantidades de reservas, os resultados apresentados neste estudo indicam que esta característica pode estar ligada a outros fatores, conforme capítulo um desse trabalho. Uma vez que não foram as maiores sementes que apresentaram as maiores porcentagens germinação, que produziram mais plântulas, que toleraram por mais tempo o alagamento e conseguiram se recuperar pós-alagamento. As espécies se mostraram altamente adaptadas às condições do seu ambiente de origem, o que é confirmado pela germinação e formação de plântulas em baixo da água de todas as espécies avaliada, exceto *Parkia discolor*. Sendo a germinação rápida mesmo na água, já que não houve diferença significativa do tempo de germinação entre os tratamentos controle e alagamento das nove espécies estudadas. Quanto ao tempo de resistência das plântulas ao alagamento, todas as espécies consegue tolera mais de trinta dias de submersão, ou mais de 100 dias como *Eugenia inundata*. Em geral, a espécies aqui estudadas parecem estar altamente adaptadas às flutuações do nível das águas das florestas amazônicas, que estabelece nesses ambientes uma fase aquática seguido de uma fase terrestre, pois a maioria conseguiu se recuperar após o alagamento, verificado pela sobrevivência das plântulas após serem retiradas da água e colocadas no solo.

## 6. REFERÊNCIAS

- Armstrong, W. 1979. Aeration in higher plants. Academic Press, pp. 225-332.
- Baskin, J.M., 1998. In: Baskin, J.M., Baskin, C.C., (Eds), Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. San Diego, Academic Press, pp. 666.
- Bewley, J.D., 1994., In: Bewley, J.D., Black, M., (Eds.), Seeds: Physiology of Development and Germination. Plenum Press, New York. 445p.
- Biemelt, S. Keetman, U., Albrecht G. 1998. Re-aeration following hypoxia or anoxia leads to activation of the antioxidative defense system in roots of wheat seedlings. *Plant Physiology*, 116, 651–658.
- Borghetti, F., 2004. Interpretação de Resultados de germinação. In: Ferreira, A.G., Borghetti, F. (Eds.) Germinação do básico ao aplicado. Artmed, Porto Alegre, pp. 209-222.
- Brasil. 2009. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Brasília.
- Carvalho, N.M., 2000. In: Nakagawa, J. (Ed.), Sementes: ciência, tecnologia e produção. Jaboticabal, São Paulo, SP, pp. 588.
- Conserva, A. S. 2007. Germinação de sementes, emergência e recrutamento de plântulas de dez espécies arbóreas das várzeas da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã e Mamirauá, Amazônia Central. Tese - INPA/UFAM, Manaus, 132 pp.
- CPRM. 2011. Serviço Geológico do Brasil. Relatório da cheia de 2011.<acesso em 09/02/2013. <http://www.cprm.gov.br/>>.
- Fenner, M. 1983. Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of compositae. *New Phytologist* 95, 697-706.
- Ferreira, A. G., Cassol, B., Rosa, S. G. T., Silveira, T. S., Stival, A. L., Silva, A. A., 2001. Germinação de sementes de Asteraceae nativas no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 15, 231-242.

- Ferreira, C.S.; Piedade, M.T.F.; Parolin, P.; Barbosa, K.M.N. 2005. Tolerância da espécie *Himatanthus sucuuba* Wood. (Apocynaceae), ao alagamento na Amazônia Central. *Acta Botanica Brasilica*.15, 100-112.
- Ferreira, C.S., Piedade, M.T.F., Junk, W.J., Parolin, P. 2006. Floodplain and upland populations of Amazonian *Himatanthus sucuuba*: effects of flooding on germination, seedling growth and mortality. *Environmental and Experimental Botany* 60, 477-483.
- Ferreira C.S., Piedade, M.T.F., Franco, A.C., Gonçalves, J.F.C., Junk, W.J. 2009. Adaptive strategies to tolerate prolonged flooding in seedlings of floodplain, upland populations of *Himatanthus sucuuba*, a Central Amazon tree. *Aquatic Botany* 90, 246-252.
- Ferreira, C.S., 2010. Genetic Variability, Divergence and Speciation in trees of periodically Flooded Forests of the Amazon: A Case Study of *Himatanthus sucuba* (Spruce) Woodson. In: Junk, W.J., Piedade, M.T.F., Wittmann, F., Schongart, J., Parolin, P. (Eds.). *Amazonian Floodplain Forest*. London, New York. pp.301.
- Foster, S. A., C. H. Janson. 1985. The relationship between seed size and establishment conditions in tropical woody plants. *Ecology* 66, 773–780.
- Franco, M., Silvertown, J. 1997. Life history variations in plants: an exploration of the fast-slow continuum hypothesis. In: Franco, M., Silvertown, J. J. & Harper, J.L. (Eds.). *Plant life histories*. Cambridge University, Cambridge, pp. 210-227.
- Green P.T., Juniper, P.A., 2004. Seed–seedling allometry in tropical rain forest trees: seed mass-related patterns of resource allocation and the ‘reserve effect’. *Journal of Ecology* 92, 397 – 408.
- Hammond, D.S., Brown, V.K., 1995. Seed size of woody plant in relation to disturbance, dispersal, soil type in wet neotropical forest. *Ecology* 76, 2544-2561.
- Harper, J.L., Lovell, P.H., Moore, K.G. 1971. The shapes and sizes of seeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 2, 327-356.

- Henning, F.A., Mertz, L.M., Junior, E.A.J., Machado, R. D., Fiss, G., Zimmer, P.D., 2010. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. *Acta Bot.* 69, 727-734.
- Janiesch, P., 1991. Ecophysiological adaptations of higher plants to waterlogging. In: Rozema, J.; Verkleij, J.A.C. (Eds.) *Ecological Responses to Environmental Stresses*. Dordrecht, The Netherlands. pp. 50-60.
- Junk, W.J., 1989. Flood tolerance and tree distribution in Central Amazonian Floodplains. In: Nielsen, L.B.; Nielsen, I.C.; Baslev, H., (Eds.). *Tropical forests: Botanical dynamics, speciation and diversity*. Academic Press, London, U.K, pp. 47-64.
- Kelly, C.K., Purvis, A. 1993. Seed size and establishment conditions in tropical trees: on the use of taxonomic relatedness in determining ecological patterns. *Oecologia* 94, 356-360.
- Koshikene, D. 2005. Estratégias germinativas de sete espécies florestais de diferentes estágios sucessionais da várzea na Amazônia Central. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/ Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas. pp.74.
- Kozlowski, T.T.; Pallardy, S.G. 1984. Effect of flooding on water, carbohydrate, and mineral relations. In: Kozlowski, T.T. (Ed.). *Flooding and plant growth*. Academic Press, London. pp. 165-193.
- Kozlowski, T.T., Pallardy, S.G., 1997. *Growth Control in Woody Plants*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 14-72.
- Kubitzki, K., Ziburski, A. 1994. Seed dispersal in flood plain forests of Amazonia. *Biotropica* 26, 30 – 43
- Leishman, M.R.W., I.J., Moles, A.T., Westoby, M. (2000). The evolutionary ecology of seed size. In Fenner, M. (Ed.), *Seeds the ecology of regeneration in plant communities*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 31-58.
- Labouriau, L.G. 1983. A germinação das sementes. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington. pp. 270.

- Lopez, O.R., Kursar, T.A., 1999. Flood tolerance of four tropical tree species. *Tree Physiology* 19, 925-932.
- Melo, F. P. L., 2004. Recrutamento e Estabelecimento de Plântulas. In: Ferreira, A.G. & Borghetti, F. (Eds) *Germinação do básico ao aplicado*. Porto Alegre, Artmed. pp. 238-250.
- Moegenburg, S.M., 2002. Spatial and temporal variation in hydrochory in Amazonian floodplain forest. *Biotropica* 34, 606-612.
- Moore, R.P. 1973. Tetrazolium staining for assessing seed quality. In: W. Heydecker (ed.). *Seed Ecology*. Londres, Butterworths, pp. 347-366.
- Norden, N., Daws, M.I., Antoine, C., Gonzalez, M.A., Garwood, N.C., Chave, J., 2008. The relationship between seed mass and mean time to germination for 1037 tree species across five tropical forests. *Functional Ecology* 23, 203-210.
- Nik, M. M., Babaeian, M., Tavassoli, A., 2011. Effect of seed size and genotype on germination characteristic and seed nutrient content of wheat. *Scientific Research* 6, 2019-2025.
- Oliveira, A.A., D.C. Daly, A. Vincentini, M., Cohn-Haft. 2001. Florestas sobre areia: Campinaranas e Igapós. In: Oliveira, A.A., D.C. Daly. (Eds.), *Florestas do rio Negro*. Schwarcz, São Paulo, pp.339.
- Oliveira Wittmann, A., Piedade, M.T.F., Parolin, P., Wittmann, F. 2007. Germination in four low-várzea tree species of Central Amazonia. *Aquatic Botany* 86,197-203.
- Parolin, P., 2000. Seed mass in Amazonian floodplain forests with contrasting nutrient supplies. *Journal of Tropical Ecology* 16, 417-428.
- Parolin, P., 2001. Seed germination and early establishment of 12 tree species from nutrient-rich and nutrient-poor Central Amazonian floodplains. *Aquatic Botany* 70, 89-103.
- Parolin, P., 2002. Submergence tolerance vs. escape from submergence: Two strategies of seedling establishment in Amazonian floodplains. *Environmental and Experimental Botany* 48, 177-186.

- Parolin, P., Junk, W.J. 2002. The effect of submergence on seed germination in trees from Amazonian floodplains. In: Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi de Historia Natural e Etnografia 18, 321-329.
- Parolin, P.; Ferreira, L.V.; Junk, W.J. 2003. Characteristics of germination and establishment of trees from Central Amazonian floodplains. Tropical Ecology 44, 155-167.
- Parolin P. 2009. Submerged in darkness: adaptations to prolonged submergence by woody species of the Amazonian floodplains. Annals of Botany 103, 359-376.
- Parolin, P., F. Wittmann., 2010. Struggle in the flood: tree responses to flooding stress in four tropical floodplain systems. Annals of Botany 105, 129-139.
- Pereira, S.A, Ferreira, S.A.N., 2010. Superação da dormência em sementes de visgueiro-do-igapó (*Parkia discolor*). Acta Amazonica, Manaus, 40, 151–156.
- Perez, S. C. J. G. A., 2004. In: Ferreira A. G., Borghetti, F. (Eds.), Germinação do básico ao aplicado. Porto Alegre, Artmed. pp. 125-133.
- Scarano, F.R.; Crawford, R.M.M. 1992. Ontogeny and the concept of anoxia tolerance: the case of the Amazonian leguminous tree *Parkia pendula*. Journal of Tropical Ecology 8, 349-352.
- Scarano, F. R.; Rios, R. I. & Esteves, F. A., 1998. Tree species richness, diversity and flooding regime: case studies of recuperation after anthropic impact in Brazilian flood-prone forests. International Journal of Ecology and Environmental Sciences 24, 223-235.
- Scarano, F.R., Pereira, T.S., Rocas, G., 2003. Seed germination during flotation and seedling growth of *Carapa guianensis*, a tree from flood-prone forests of the Amazon. Plant Ecology 168, 291–296.
- Scudeller, V.V., Souza, A.M.G. 2009. Florística da mata de igapó na Amazônia Central. In: E.N. Santos-Silva, Scudeller, V.V. (Eds.), Biotupé: Meio Físico, Diversidade Biológica e sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central. Universidade Estadual do Amazonas, Manaus, pp. 97-108.

- Soriano, D., Orozco-Segovia, A., Márquez-Guzmán, J., Kitajima, K., Buen, A.G., Huante, P., 2011. Seed reserve composition in 19 tree species of a tropical deciduous forest in Mexico and its relationship to seed germination and seedling growth. *Annals of Botany* 107, 939 – 951.
- Venable, D.L., Brown, J.S., 1988. The selective interactions of dispersal, dormancy and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *American Naturalist* 131, 360-383.
- Westoby, M., Jurado, E. & Leishman, M.R. (1992). Comparative evolutionary ecology of seed size. *Trends in Ecology and Evolution*, 7, 368–372.
- Wittmann, F., Parolin, P. 1999. Phenology of six tree species from central Amazonian várzea. *Ecotropica* 5, 51-57
- Wittmann F, Anhuf D, Junk W.J. 2002. Tree species distribution and community structure of Central Amazonian varzea forests by remote sensing techniques. *Journal of Tropical Ecology* 18, 805 – 820.
- Wittmann F, Schoengart J, Montero JC, Motzer T, Junk WJ, Piedade MTF, Queiroz HL, Worbes M. 2006. Tree species composition and diversity gradients in white-water forests across the Amazon Basin. *Journal of Biogeography* 33, 1334–1347.
- Zar, J.H. 1999. *Bioestatistical Analisis*. Fourth Edition, Prentice-Hall, New Jersey, pp. 929.

## 7. ANEXOS

### CAPITULO 01

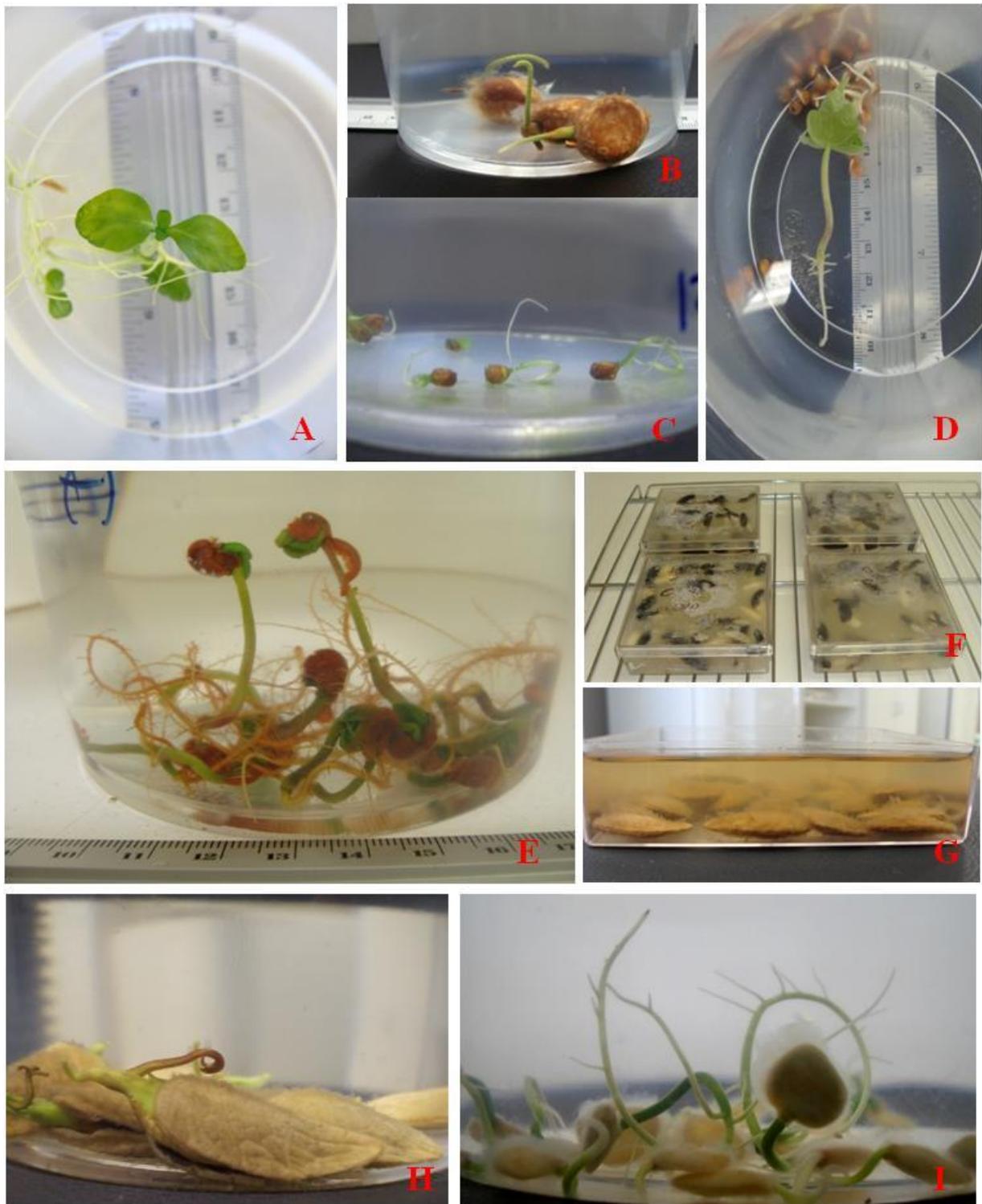
**Tabela 1.** Reserva de sementes de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia.

Espécies	Reservas µg/mg				
	AST	Amido	Proteína	Lipídeos	PRPC
<i>A. subdimidiata</i>	216.061 ± 8.7	22.339 ± 1.7	13.372 ± 1.0	106.667 ± 11.5	434.500 ± 3.5
<i>L. corymbulosa</i>	26.136 ± 3.4	27.101 ± 2.2	5.648 ± 0.5	284.667 ± 11.7	304.278 ± 3.4
<i>P. glomerata</i>	29.885 ± 7.4	121.201 ± 0.7	14.352 ± 0.4	45.333 ± 4.1	269.889 ± 3.8
<i>C. tapia</i>	38.788 ± 8.0	174.319 ± 8.7	10.169 ± 0.8	299.333 ± 13.3	423.833 ± 1.9
<i>P. Munguba</i>	80.920 ± 9.0	3.313 ± 0.4	13.308 ± 0.2	404.000 ± 17	488.500 ± 6.4
<i>G. americana</i>	84.674 ± 12.9	6.460 ± 0.2	6.631 ± 0.6	54.000 ± 2.3	187.556 ± 2.1
<i>E. inundata</i>	117.955 ± 17.5	172.180 ± 4.0	3.368 ± 0.6	11.333 ± 6.1	383.333 ± 3.6
<i>S. guianensis</i>	80.584 ± 11.1	125.507 ± 3.4	11.540 ± 1.2	283.333 ± 3.46	420.381 ± 2.9
<i>P. discolor</i>	69.167 ± 7.6	2.172 ± 0.5	7.494 ± 0.4	72.000 ± 26.7	515.111 ± 3.7

**Tabela 2.** Fracionamento da parede celular em porções pécticas (oxalato de amônio) e hemicelulósicas (NaOH 1e 4M), depois que foram extraídos os açúcares solúveis e o amido de nove espécies arbóreas de florestas alagáveis da Amazônia. Foi considerado resíduo tudo o que não se conseguiu extrair com NaOH. Valores médios expressos em mg e porcentagem (%).

Espécies	Pectinas		Hemiceluloses		Resíduo (mg)
	AST e Amido (mg)	Oxalato (mg)	1M (mg)	4M (mg)	
<i>A. subdimidiata</i>	135.87	40.93	49.47	31.07	42.66
<i>L. corymbulosa</i>	118.67	28.40	48.73	9.87	94.33
<i>P. glomerata</i>	191.67	42.97	31.93	6.07	27.36
<i>C. tapia</i>	101.50	73.33	13.00	52.90	59.27
<i>P. Munguba</i>	108.50	47.15	43.15	60.33	40.87
<i>G. americana</i>	110.77	17.10	20.13	19.03	132.97
<i>E. inundata</i>	129.60	47.30	63.30	4.40	55.40
<i>S. guianensis</i>	122.03	46.57	13.00	113.03	5.37
<i>P. discolor</i>	58.50	36.73	86.80	95.50	22.47

## CAPÍTULO 02



**Figura 1.** Fotos dos experimentos de alagamento: germinação e produção de plântulas. Figuras: (A) *G. americana*; (B) *P. glomerata*; (C) *L. corymbulosa*; (D) *P. munguba* (E) *E. inundata*; (H) *S. guianensis* e (I) *A. subdimidiata*, produzindo plântulas na água, (F) *P. discolor* sementes podres, (G) sementes de *S. guianensis* na água.

**Tabela 3.** Tempo médio de germinação (dias) das espécies de florestas alagáveis da Amazônia submetidas a alagamento e controle. Media seguida do erro padrão, (média ± erro padrão).

Espécies	TEMPO MÉDIO	
	Alagado	Controle
<i>A. subdimidiata</i>	7,1 ± 0,1	2,1 ± 0,1
<i>L. corymbulosa</i>	72,8 ± 4,7	58,7 ± 3,6
<i>P. glomerata</i>	77,2 ± 44,7	141,4 ± 47,2
<i>C. tapia</i>	12,7 ± 0,4	8,4 ± 0,2
<i>P. munguba</i>	7,1 ± 1,2	2,2 ± 0,1
<i>G. americana</i>	21,5 ± 2,1	21,6 ± 4,5
<i>E. inundata</i>	9,7 ± 1,4	10,3 ± 1,0
<i>S. guianensis</i>	110,8 ± 4,1	59,8 ± 4,8
<i>P. discolor</i>	n. a.	5,2 ± 0,0

**Tabela 4:** Porcentagem de germinação (número de sementes germinadas em relação ao total de sementes postas para germinar) dos tratamentos de alagamento e controle. Media ± erro padrão.

Espécies	Alagado	Controle
<b>Germinação (%)</b>		
<i>A. subdimidiata</i>	84,0 ± 5,9	89,0 ± 2,5
<i>L. corymbulosa</i>	66,0 ± 6,6	64,0 ± 7,5
<i>P. glomerata</i>	13,3 ± 8,2	15,0 ± 6,9
<i>C. tapia</i>	89,0 ± 1,0	97,0 ± 1,0
<i>P. munguba</i>	54,0 ± 18,5*	89,0 ± 5,3
<i>G. americana</i>	23,0 ± 5,7	29,0 ± 10,6
<i>E. inundata</i>	88,0 ± 5,2*	59,0 ± 4,4
<i>S. guianensis</i>	40,0 ± 5,2*	93,0 ± 1,0
<i>P. discolor</i>	n. a.	88,0 ± 5,4

Para cada experimento símbolo (\*) na mesma linha diferem entre si pelo teste de Fisher ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 5.** Valores médios de formação de plântulas de espécies arbóreas de florestas alagáveis amazônicas. Os valores de produção de plântulas foram calculados com base no número de sementes germinadas. Média  $\pm$  erro padrão.

Espécies	Formação de plântulas (%)	
	Alagado	Controle
<i>A. subdimidiata</i>	17,8 $\pm$ 1,5*	77,5 $\pm$ 4,9
<i>L. corymbulosa</i>	56,7 $\pm$ 7,3*	28,5 $\pm$ 6,6
<i>P. glomerata</i>	41,7 $\pm$ 23,6	25 $\pm$ 6,3
<i>C. tapia</i>	13,5 $\pm$ 5,6*	85,5 $\pm$ 2,8
<i>P. munguba</i>	21,9 $\pm$ 5,4*	88,0 $\pm$ 5,9
<i>G. americana</i>	93,8 $\pm$ 12,5	80,8 $\pm$ 5,5
<i>E. inundata</i>	100 $\pm$ 0,0	82,4 $\pm$ 5,3
<i>S. guianensis</i>	63,7 $\pm$ 8,6	82,7 $\pm$ 3,1
<i>P. discolor</i>	n. a.	76 $\pm$ 5,2

Para cada experimento símbolos (\*) na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (p <0,05).