

**Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Biológicas
Departamento de Botânica
Pós-Graduação em Biologia Vegetal**

ALEXANDRE SOUZA DE PAULA

Alternância de temperatura
na quebra de dormência física e
identificação de entrada de água nas sementes de
Cassia leptophylla Vogel e *Senna macranthera*
(DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby
(Fabaceae: Caesalpinioideae)

Florianópolis, 2011

ALEXANDRE SOUZA DE PAULA

Alternância de temperatura
na quebra de dormência física e
identificação de entrada de água nas sementes de
Cassia leptophylla Vogel e *Senna macranthera*
(DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby
(Fabaceae: Caesalpinioideae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Biologia Vegetal da Universidade
Federal de Santa Catarina, como requisito
parcial para obtenção do título de Mestre em
Biologia Vegetal.

Orientadora: Marisa Santos
Co-orientadora: Maria Terezinha Silveira Paulilo

Florianópolis, 2011

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

P324a Paula, Alexandre Souza de
Alternância de temperatura na quebra de dormência física e
identificação de entrada de água nas sementes de *Cassia*
leptophylla Vogel e *Senna macranthera* (DC. ex. Collad.) H.S.
Irwin & Barneby (Fabaceae: Caesalpinioideae) [dissertação] /
Alexandre Souza de Paula ; orientadora, Marisa Santos. -
Florianópolis, SC, 2011.
75 p.: il., grafs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Vegetal.

Inclui referências

1. Biologia vegetal. 2. *Cassia leptophylla*. 3.
Caesalpinaceae. 4. Dormência em plantas. 5. Sementes - Efeito da
umidade. 6. Sementes - Morfologia vegetal. I. Santos, Marisa.
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Vegetal. III. Título.

CDU 57

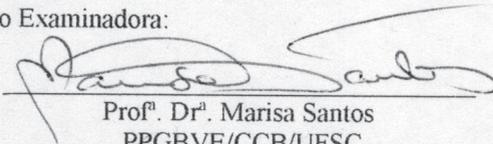
"Alternância de temperatura na quebra de dormência física e identificação de entrada de água nas sementes de *Cassia leptophylla* Vogel e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S.I Irwin & Barneby (Fabaceae: Caesalpinioideae)"

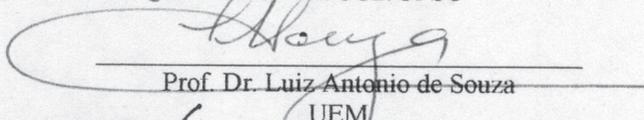
POR

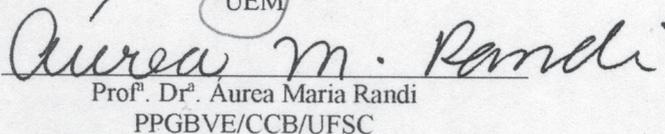
Alexandre Souza de Paula

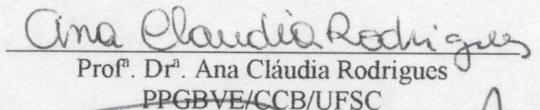
Dissertação julgada e aprovada, em sua forma final, pelo Orientador e membros da Comissão Examinadora.

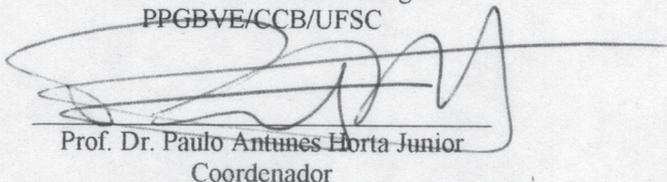
Comissão Examinadora:


Prof.^a Dr.^a Marisa Santos
PPGBVE/CCB/UFSC


Prof. Dr. Luiz Antonio de Souza
UEM


Prof.^a Dr.^a Aurea Maria Randi
PPGBVE/CCB/UFSC


Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Rodrigues
PPGBVE/CCB/UFSC


Prof. Dr. Paulo Antunes Horta Junior
Coordenador

Florianópolis, 03 de junho de 2011

Dedico esta Dissertação aos meus pais, Newton Querino de Paula e Marlene Souza de Paula, essa conquista é de vocês.

AGRADECIMENTOS

A Nossa Senhora do Perpétuo Socorro, minha eterna protetora que desde o meu nascimento intercede junto a DEUS por mim.

À minha orientadora Marisa Santos pela sua orientação, competência, dedicação, paciência e grande conhecimento passado.

À minha co-orientadora Maria Terezinha Silveira Paulilo, por ter aceitado a me orientar, pela amizade e muito bom humor.

A todos os professores do Curso da Pós-Graduação, pelos seus conhecimentos transmitidos.

À secretária da Pós-Graduação Vera Zapellini, pela sua disposição de ajudar sempre quando solicitada.

A Capes, pela bolsa de Mestrado.

Aos meus colegas que conheci durante o Mestrado: Fernando Scherner, Davia Talgatti, Tarsis Aguiar, Michele Carneiro, Cristine Rescarolli, Leonardo Kumagali, Talita Vieira, Romualdo Begnini, Robson Carlos Avi, Bruno Minardi, Ana Paula Voytena, Roberta Andressa Pereira, Sérgio Luis de Almeida, Marco Aurélio Ristow e Francis Pereira Dias, pelas eventuais ajudas e agradável companhia.

As minhas colegas de laboratório Carolina Maria Luzia Delgado e Thaisy Ventura de Souza, pelos dias de trabalho compartilhado e grande companheirismo.

À grande amiga Gilza Maria Santos e a sua família pela moradia em Florianópolis durante os anos do Mestrado.

À minha colega de Mestrado e funcionária do laboratório de fluorescência Chirle Ferreira, por ter me auxiliado com parte dos resultados.

x

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica pela disponibilidade e uso de suas estruturas.

A Edson Murilo Costa, funcionário do Núcleo de Manutenção da UFSC, por ter consertado muitas vezes as câmaras de germinação, essenciais para a dissertação.

A toda a minha família, por sempre me apoiar e demonstrar total confiança em mim.

Aos meus pais, por toda a ajuda que sempre me deram sem a qual não conseguiria realizar esse trabalho e por sempre acreditarem em mim.

RESUMO

A dormência em sementes é definida como um bloqueio da germinação, mesmo quando elas encontram em condições apropriadas para germinar. A dormência física ocorre quando a semente possui um tegumento impermeável à água, impedindo a embebição e posterior germinação. Conforme literatura, a dormência física das sementes de Fabaceae é quebrada quando, sob altas temperaturas, rompe-se o estrofiolo, estrutura especializada. O objetivo desse trabalho foi verificar os efeitos da alternância de temperatura na quebra de dormência física e identificar o local de entrada de água nas sementes de duas espécies de Fabaceae, *Cassia leptophylla* e *Senna macranthera*. Para quebra de dormência física em alternância de temperatura, as sementes das duas espécies foram submetidas a diferentes temperaturas (20°C/30°C, 15°C/25°C, 15°C/30°C e 25°C/35°C) e, como controle, temperaturas constantes (15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C). Também foi testado se a dormência física é quebrada por altas temperaturas, sendo as sementes colocadas em estufa e mantidas por 2 horas, durante 3 dias, a 35°C, 40°C e 45°C. A análise da morfologia das sementes foi feita em microscópio estereoscópico. Para análise da histologia dos tegumentos, em microscopia óptica, foram feitas secções transversais e longitudinais, com micrótomo de deslize. Foram realizados testes histoquímicos (floroglucinol acidificado, cloreto férrico, sudan IV, vermelho de rutênio e azul de toluidina) e análise de fluorescência com azul de anilina. Também foram feitas dissociações de células com peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial. Para a identificação de entrada de água, sementes com e sem escarificação térmica de 2 min foram imersas em azul de anilina (15 e 30 min e 1, 2 e 3 h), seccionadas e observadas em microscopia óptica. Sementes tratadas e não tratadas foram secas em sílica gel e a superfície hilar foi analisada em Microscópio Eletrônico de Varredura. A alternância de temperatura e as altas temperaturas não foram eficazes para a quebra da dormência física, pois em todos os tratamentos houve uma baixa porcentagem de germinação para ambas as espécies. A região hilar é apical em *C. leptophylla* e subapical em *S.*

macranthera e constituída por hilo, micrópila e estrofiolo. Constituição da testa: cutícula (região extra-hilar) ou remanescentes funiculares (região hilar), camada subcuticular (não cutinizada, com substâncias pécticas), camada paliçádica, osteoesclereídes e parênquima esclerificado. A camada paliçádica é formada por macroesclereídes alongadas, com linha lúcida (refrativa, com calose). As osteoesclereídes estão sob a paliçada (ausentes na região hilar) e internamente ao parênquima esclerificado, têm forma de ampulheta, paredes espessas e não lignificadas. O parênquima esclerificado é homogêneo, com células de paredes espessas e não lignificadas. O tégmen (células brancas) é formado por células achatadas tangencialmente e com paredes delgadas, com cutícula distinta entre estas células e a testa. As características do tegumento, como a calose, justificam a restrição na embebição de água pela semente sem procedimentos de quebra de dormência física. A embebição de corante em sementes escarificadas termicamente indicou que a água entra pelo canal micropilar em *C. leptophylla* e pela região do estrofiolo em *S. macranthera*. A análise ultraestrutural da região hilar das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* revelou que, naquelas sem tratamento, os tecidos mantiveram-se intactos. Entretanto, quando utilizada a escarificação térmica, para quebra da dormência física das sementes, a micrópila de *C. leptophylla* e o estrofiolo de *S. macranthera* mostraram-se alterados. Com isso, conclui-se que a entrada de água em sementes com dormência física quebrada por escarificação térmica em *C. leptophylla* ocorre através da micrópila e em *S. macranthera* através do estrofiolo.

Palavras-chave: Fabaceae, semente, dormência física, tegumento, estrofiolo, entrada de água, histologia.

ABSTRACT

The dormancy in seeds is defined as a blockage of the germination, even when they are in proper conditions to germinate. The physical dormancy occurs when the seed has a waterproof coat, preventing imbibement and subsequent germination. According to literature, the physical dormancy of seeds of Fabaceae is broken when, at high temperatures, the strophiole, specialized structure, is broken up. The aim of this study was to evaluate the effects of alternating temperature on breaking of physical dormancy and identify the location of water entrance in the seeds of two species of Fabaceae: *Cassia leptophylla* and *Senna macranthera*. To the breakage of the physical dormancy by alternating temperatures, seeds of both species were subjected to different temperatures (20°C/30°C, 15°C/25°C, 15°C/30°C and 25°C/35°C) and, as control, to constant temperatures (15°C, 20°C, 25°C, 30°C and 35°C). It was also tested whether the physical dormancy is broken by high temperatures, the seeds being placed in an oven and maintained for 2 hours, during 3 days, at 35°C, 40°C and 45°C. The analysis of the morphology of the seeds was made using a stereoscopic microscope. To analyze the histology of the seed coat, in optical microscopy, were made transverse and longitudinal sections, with a sliding microtome. Histochemical tests were performed (phloroglucinol acidified, ferric chloride, sudan IV, ruthenium red and toluidine blue) and analysis of fluorescence with aniline blue. Dissociations of cells were also made with hydrogen peroxide and glacial acetic acid. To identify the water intake, seeds with and without thermal scarification for 2 min were immersed in aniline blue (15 and 30 min and 1, 2 and 3 h), sectioned and observed under an optical microscope. Treated and untreated seeds were dried in silica gel and the hilar surface was examined in Scanning Electron Microscope. The alternating of temperature and high temperatures were not effective to break the physical dormancy, because in all treatments there was a low percentage of germination for both species. The hilar region is apical in *C. leptophylla* and subapical in *S. macranthera* and consists of hilum, micropyle and strophiole. The testa is constituted of cuticle (extra-hilar

region) or remaining funiculars (hilar region), subcuticular layer (not cutinized with pectic substances), palisade layer, osteoesclereids and sclerified parenchyma. The palisade layer is formed by elongated macrosclereids, with lucid line (refractive, with callose). The osteoesclereids are under the palisade (absent in the hilar region) and, internally to the sclerified parenchyma, have an hourglass shape, thick walls and not lignified. Sclerified parenchyma is homogeneous, with thick wall cells and not lignified. The tegmen (white cells) is formed of tangentially flattened cells and with thin walls, with distinct cuticle between these cells and the testa. The characteristics of the seed coat, such as callose, justify the restriction on water intake by the seed without procedures to break physical dormancy. The dye soaking water enters through the micropylar canal in *C. leptophylla* and through the region of the strophiole in *S. macranthera*. The ultrastructural analysis of the hilar region of the seeds of *C. leptophylla* and *S. macranthera* revealed that, in those without treatment, the tissues remained intact. However, when used thermal scarification to break the physical dormancy of seeds, the micropyle of *C. leptophylla* and the strophiole of *S. macranthera* were altered. Thus, it is concluded that the entrance of water in seeds with physical dormancy broken by thermal scarification in *C. leptophylla* occurs through the micropyle and *S. macranthera* through the strophiole.

Keywords: Fabaceae, seed, physical dormancy, seed coat, strophiole, water intake, histology.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	IX
RESUMO	XI
ABSTRACT	XIII
INTRODUÇÃO	17
OBJETIVOS.....	26
Objetivo geral	26
Objetivos específicos	26
MATERIAL E MÉTODOS.....	27
1. Coleta das sementes.....	27
2. Esterilização e semeadura	27
3. Verificação de dormência	27
4. Quebra da dormência física.....	28
4.1. Alternância de temperatura	28
4.2. Altas temperaturas (calor seco).....	29
5. Quebra da impermeabilidade do tegumento por escarificação térmica.....	29
6. Verificação da viabilidade das sementes	29
7. Aspectos estruturais das sementes	30
8. Entrada de água nas sementes	31

9. Análise de dados.....	32
RESULTADOS	33
1. Verificação de dormência.....	33
2. Quebra da dormência física	34
2.1. Alternância de temperatura.....	34
2.2. Altas temperaturas (calor seco)	41
3. Quebra da impermeabilidade do tegumento por escarificação térmica	42
4. Verificação da viabilidade das sementes.....	42
5. Aspectos estruturais das sementes.....	43
6. Entrada de água nas sementes.....	44
DISCUSSÃO.....	46
1. Dormência e germinação.....	46
2. Aspectos estruturais das sementes.....	49
3. Entrada de água nas sementes.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
ILUSTRAÇÕES.....	64

INTRODUÇÃO

Os ecossistemas florestais contêm cerca de 90% da biomassa terrestre e cobrem aproximadamente 40% de sua superfície; as florestas apresentam uma elevada taxa de fixação de carbono, quando comparadas com outras tipologias vegetais (Gardner *et al.*, 1980). O Brasil, com sua grande amplitude de terras cobertas por florestas, possui um grande estoque de carbono (Schroeder, 2004); entretanto, o desmatamento tropical contribui com um incremento de carbono na atmosfera na ordem de 1,6 giga toneladas anuais (Hendriks & Graus, 2004). De acordo com o *World Resources Institute*, o Brasil é o quarto emissor de gases do efeito estufa do mundo, porém, se levarmos em consideração o ano de 2030, o Brasil é visto como um dos cinco países com grande potencial de reduzir essas emissões (Matzinger, 2006).

A necessidade de se conhecer os principais fatores que governam a germinação de sementes de espécies florestais nativas do Brasil, segundo Bello *et al.* (2008), adquiriu maior importância nos últimos anos, principalmente em função de derrubadas indiscriminadas para abertura de novas fronteiras agrícolas, o que compromete a biodiversidade e aumenta a lista de espécies ameaçadas de extinção. De acordo com os mesmos autores, o desconhecimento da ecologia dessas espécies restringe a sua utilização e ameaça sua conservação, uma vez que a velocidade da degradação ambiental tem sido muito superior aos esforços para garantir a manutenção da biodiversidade. Acrescentam ainda que há risco de perda de recursos genéticos insubstituíveis, já que muitas dessas espécies têm propriedades medicinais ainda desconhecidas e que também são de grande interesse econômico.

Quando uma semente encontra condições apropriadas para a germinação e, de fato, germina, considera-se que ela é quiescente (Ferreira & Borguetti, 2004). Porém, conforme Bewley (1997), muitas vezes não é vantajoso para uma semente germinar livremente, mesmo em condições favoráveis. Neste caso, acrescenta o autor, a semente encontra-se em estado de dormência, que pode ser definida como o bloqueio de uma semente intacta e viável de completar a germinação mesmo sob condições favoráveis.

A dormência, conforme Foley (2001), é uma forma de inibição do desenvolvimento e é uma característica adaptativa que promove a sobrevivência de muitos organismos. Segundo o autor, no caso da dormência em sementes, esta propicia o aumento da distribuição da

germinação ao longo do tempo, aumentando assim a sobrevivência das plantas em ambientes que estão em constante mudança.

A dormência possui características genéticas, envolvendo muitos genes, mas também é influenciada substancialmente pelo meio em que a semente desenvolve-se (Bewley, 1997). A combinação destes fatores, de acordo com Larcher (2000), permite que a germinação ocorra, não quando os fatores ambientais estão favoráveis apenas para a germinação e sim, quando permitirem o posterior estabelecimento da plântula.

Há uma variedade de fatores que podem atuar isolada ou conjuntamente no bloqueio da germinação da semente. De acordo com Baskin & Baskin (2001), são reconhecidos cinco tipos de dormência: a morfológica (dormência por imaturidade do embrião), a morfofisiológica, a fisiológica, a física (dormência tegumentar) e a física+fisiológica (dormência combinada).

A dormência morfológica, segundo Baskin & Baskin (2004), é aquela em que o embrião da semente é subdesenvolvido em termos de tamanho, mas é diferenciado em cotilédones e eixo hipocótilo-radicular. Nesta classe de dormência, o embrião não é fisiologicamente dormente, simplesmente necessita de tempo para crescer e germinar. De acordo com os mesmos autores, a dormência morfofisiológica ocorre quando os embriões são subdesenvolvidos e fisiologicamente dormentes. Acrescentam ainda que a dormência física+fisiológica é aquela em que na mesma semente coexistem dormência fisiológica do embrião e impermeabilidade do tegumento à água.

Dormência fisiológica, esclarecem Baskin & Baskin (2004), é aquela em que a presença de substâncias inibidoras ou ausência de substâncias promotoras da germinação impedem que a germinação ocorra. Complementam que esta dormência pode ser profunda, quando os embriões não crescem ou, se crescem, produzem plântulas anormais; e não profunda, quando os embriões excisados das sementes produzem plântulas normais. De acordo com Fenner & Thompson (2005), a dormência fisiológica permite maior flexibilidade de respostas ao ambiente em relação às dormências morfológica e física, já que apresenta diferentes graus de profundidade e, ao contrário das outras duas, pode ser reversível. Para Zaidan & Barbero (2004), a importância de diferentes graus de dormência está em evitar uma germinação rápida e uniforme de todas as sementes produzidas em um determinado momento, podendo ocorrer competição entre plântulas ou a morte de todas elas imediatamente após sua emergência, em caso de mudança drástica no ambiente.

A dormência física em sementes é causada por um envoltório impermeável à água em sementes ou frutos (Baskin & Baskin, 2004). Esta impermeabilidade desenvolve-se durante a maturação das sementes (Van Staden *et al.*, 1989) ou frutos (Li *et al.*, 1999). Uma camada paliçádica no tegumento da semente é responsável pela impermeabilidade, tornando-a permeável à água quando uma abertura forma-se através de estrutura anatômica especializada (Baskin *et al.*, 2000). A camada paliçádica, refere Esau (1997), é característica das sementes das Fabaceae, sendo constituída de esclereídes – macrosclereídes, ou células de Malpighi com paredes desigualmente espessadas. A autora refere que a chamada linha lúcida das células paliçádicas resulta em alto grau de reforço em região restrita das paredes, sendo considerada como região particularmente impermeável. Essa região, em secção tangencial na semente, situa-se um pouco acima da metade de cada célula, mostrando refração entre células adjacentes e, por esta razão, formam uma linha contínua através da epiderme quando vista em corte. As células da camada subepidérmica, conforme a autora, diferenciam-se nas chamadas “células colunares” também denominadas células em pilar, ampulheta ou osteoesclereídes, dependendo da distribuição dos espessamentos da parede e formato das células; espaços intercelulares grandes podem ocorrer entre essas células. Quanto ao sistema vascular das Fabaceae, esclarece a autora, é bem desenvolvido e, a partir do funículo, o feixe vascular estende-se até a região da calaza, onde pode se ramificar.

Segundo Gama-Arachchige *et al.* (2010) é conhecida a ocorrência de sementes com dormência física em 17 famílias de angiospermas e a presença em gimnospermas é desconhecida. Conforme os mesmos autores, dentre as angiospermas a dormência física ocorre em apenas uma família de monocotiledônea (Cannaceae) e em 16 famílias de eudicotiledôneas. Baskin & Baskin (2000) e Gama-Arachchige *et al.* (2010) citam algumas famílias com espécies que apresentam dormência física como, por exemplo: Anacardiaceae, Bixaceae, Cistaceae, Cochlospermaceae, Convolvulaceae, Cucurbitaceae, Dipterocarpaceae, Fabaceae, Geraniaceae, Malvaceae, Nelumbonaceae, Rhamnaceae, Sapindaceae, Sarcocaulaceae e Sphaerosepalaceae. A constatação de dormência física em Dipterocarpaceae, Sarcocaulaceae e Sphaerosepalaceae, conforme Gama-Arachchige *et al.* (2010), foi baseada somente na anatomia do tegumento. Os autores acrescentam que, algumas famílias que contêm espécies com dormência física também podem apresentar espécies com dormência fisiológica, dormência combinada ou podem não apresentar

dormência. Entre as eudicotiledôneas, 13 famílias estão no clado rosídes, e somente uma (Convolvulaceae) está no clado asterídes (Baskin & Baskin, 2000; Jayasuriya *et al.*, 2007). Segundo Baskin & Baskin (2001), a dormência física ocorre apenas nas famílias mais evoluídas filogeneticamente sendo o último tipo de dormência a evoluir. A maioria das espécies de Fabaceae, segundo Villers (1972), Morrison *et al.* (1998), Baskin & Baskin (2001) e Smith *et al.* (2003), apresentam sementes com dormência física.

Os óvulos nas espécies de Fabaceae, segundo Corner (1976), são anátropos ou mais ou menos campilótropos bitegmentados. Quanto às características gerais das sementes, o autor descreve como variando de pequenas a muito grandes, geralmente com superfície dura e lisa, ariladas ou não, albuminosas ou não; a testa geralmente é múltipla, com epiderme externa, tipicamente com células de Malpighi, em forma de paliçada, prismáticas e com facetas hexagonais, com presença de linha lúcida; o lúmen é linear e as paredes celulares são espessadas, não ou levemente lignificadas, frequentemente com a parede exterior mucilaginosa, abaixo da cutícula; o mesofilo das sementes é aerenquimatoso, tipicamente com uma hipoderme externa formada por uma camada de células em forma de ampulheta (*hourglass*), frequentemente de paredes espessadas, mas não lignificadas, mais ou menos comprimidas na maturidade; a epiderme interna é inespecializada ou com uma camada de células em ampulheta; o tégmen não é múltiplo, apresentando-se inespecializado e comprimido na semente totalmente desenvolvida; nas sementes de Fabaceae, a calaza é simples, com vários feixes vasculares, e o endosperma é nuclear, o qual pode ter arilo funicular ou micropilar; o funículo é frequentemente bastante longo ou robusto.

Os representantes de Fabaceae, família composta por três subfamílias – Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (Faboideae) – conforme Gunn (1991), mostram algumas características estruturais dos óvulos e sementes distintas, como descreve Corner (1976); as sementes das espécies de Caesalpinioideae são as que possuem as mais diversas formas e estruturas, os óvulos são anátropos; a testa das sementes, em alguns casos, possui um pleurograma – termo que, conforme Barroso *et al.* (1999), significa marca lateral na superfície de certas sementes, originada pela interrupção na camada paliçada da exotesta ou por diferenças nas camadas externas complexas da testa – sem uma linha de fissura, aberta no final do hilo; o feixe vascular é tipicamente estendido ao redor da semente, indo do hilo até a micrópila, na rafe-antirafe; o hilo é pequeno e arredondado ou um pouco oblongo,

simples e fechado pela camada paliçádica da testa; a testa frequentemente possui células de ampulheta; o funículo muitas vezes é grosso e raramente arilado, o endosperma, quando presente possui células com paredes espessas; o embrião está em linha reta, com radícula curta e espessa e os cotilédones são constituídos por células de paredes finas e geralmente sem grãos-de-amido. As sementes da subfamília Mimosoideae são como as de Caesalpinioideae, mas com um pleurograma definido por uma linha de fissura; o funículo é frequentemente longo e delgado, em raros casos com arilo funicular. Em Papilionoideae, os óvulos são mais ou menos campilótopos; as sementes são em formato curvado, com o hilo arredondado ou usualmente mais ou menos alongado, sem pleurograma; a rafe é menor que a antirafe; o hilo tipicamente possui arilo, com dupla camada paliçádica, sulco mediano, barra de traqueides e dois feixes vasculares recorrentes; o funículo é usualmente pequeno e achatado; o endosperma é geralmente ausente e, quando presente, está formado por células de paredes espessas; o embrião é curvo, pois a radícula é curva; os cotilédones possuem células de parede finas e contêm amido.

Os aspectos estruturais da semente estão diretamente relacionados com a dormência. Na natureza, a quebra da dormência pode ocorrer efetivamente em aberturas de clareiras ou através da ação de animais escavadores que permitem que sementes, antes cobertas pelo solo, possam ser expostas à luminosidade e dessa forma germinarem (Larcher, 2000). Porém, sementes com tegumento muito duro, frequentemente, necessitam da ação de microrganismos para a germinação; outras só são capazes de germinar após substâncias inibidoras terem sido removidas, por exemplo, pelo trato digestivo de animais (Zaidan & Barbedo, 2004). Fenner & Thompson (2005) sugerem que esta quebra de dormência não deve estar ligada a eventos tão casuais e sim a eventos específicos no ambiente. Entre estes eventos estão aqueles citados por Baskin & Baskin (2001): alternância de temperatura, seca a altas temperaturas após períodos de chuvas, baixas temperaturas de inverno e exposição ao fogo. Uma das evidências que indica isto, segundo os autores, é que sementes com dormência física têm uma região anatômica especializada que é rompida por altas temperaturas, permitindo assim a entrada de água e a posterior germinação. Vários tipos diferentes de abertura à água ocorrem em sementes de 12 das 17 famílias com dormência física descritas por Baskin *et al.* (2000), tipos estes que diferem em origem, morfologia e anatomia. Os autores citam como exemplo: estrofolo, lente ou fenda hilar em Fabaceae, válvula calazal em Malvaceae, carpo micropilar em

Anacardiaceae, plugue válvula bixoide em Bixaceae, Cistaceae, Cochlospermaceae, Dipterocarpaceae e Sarcolaenaceae, tampa de embebição em Cannaceae, estrutura igual a um plugue na região da micrópila em Convolvulaceae, rolha suberizada em Geraniaceae e protuberâncias em Nelumbonaceae.

Nas florestas pluviais, segundo Baskin & Baskin (2001), a dormência fisiológica é o tipo mais comum. Entretanto, Torres (2008), em levantamento feito com espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa, refere predominância de dormência física. Conforme Baskin & Baskin (2005), é mais provável encontrar dormência de sementes em ambientes com estações bem distintas, como florestas temperadas, do que ambientes que não têm grandes variações. Porém, comentam os autores, encontram-se muitas espécies com sementes dormentes em florestas tropicais, onde supostamente não há muitas mudanças estacionais; havendo um aumento nos casos de espécies com sementes dormentes em consequência de diminuição da temperatura e da precipitação. Cardoso (2004) comenta que, considerando um gradiente do ambiente mais úmido (floresta tropical úmida) até o mais seco (savana/cerrado), os casos de dormência fisiológica e morfológica decrescem e os casos de dormência física aumentam à medida que diminui a disponibilidade de água.

A dormência de sementes parece ser mais frequente em espécies pioneiras do que em espécies de estádios sucessionais mais tardios (Vásquez-Yanes & Janzem, 1988). Em uma distribuição dos tipos de dormência, considerando o grupo sucessional da espécie, observa-se que a dormência fisiológica é mais comum no grupo das não-pioneiras, enquanto a dormência física tende a ocorrer mais nas espécies consideradas pioneiras (Carvalho, 2006). Entretanto, Torres (2008) refere que, com espécies arbóreas ocorrentes na Floresta Ombrófila Densa, não há relação entre grupo ecológico e dormência em sementes.

Espécies de Fabaceae ocorrem no Bioma Mata Atlântica, em três tipos de Florestas – Ombrófila Densa, Estacional Semidecidual e Ombrófila Mista (Carvalho, 2006).

A Floresta Ombrófila Densa, também conhecida por Floresta Tropical Pluvial Amazônica e Atlântica, segundo Carvalho (2006) está ligada ao clima quente e úmido, sem período biologicamente seco, com chuvas bem distribuídas durante o ano (excepcionalmente com até 60 dias de umidade escassa) e temperaturas médias variando de 22°C a 26°C. Conforme o autor, ela ocupa parte do espaço amazônico e estende-se pela costa litorânea, desde o Nordeste até o Extremo Sul; é

caracterizada pela presença de árvores de grande e médio porte, além de lianas e epífitas em abundância.

Na Floresta Estacional Semidecidual, conhecida também como Floresta Tropical Subcaducifólia, o conceito de estacionalidade, comenta Carvalho (2006), está relacionado a dois tipos de variação climática, um na Região Tropical e outro na Região Subtropical; na Região Tropical, dois períodos são bem marcados – um chuvoso e outro seco – com temperaturas em torno de 21°C; a Região Subtropical; caracteriza-se por clima estacional menos chuvoso, marcado por alternância de períodos frio/seco e quente/úmido; essa estacionalidade atinge os elementos arbóreos dominantes, induzindo-os ao repouso fisiológico, que resulta num percentual de árvores que perdem as folhas, entre 20% e 50% do conjunto florestal.

A Floresta Ombrófila Mista, também conhecida como Floresta de Araucárias, é uma formação florestal caracterizada pela presença da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze – Araucariaceae, espécie arbórea, conhecida como Pinheiro-do-Paraná ou Pinheiro-brasileiro, com copas corimbiformes e folhagem verde-escuro, essa espécie encontra-se na floresta geralmente representada por indivíduos emergentes, os quais imprimem um aspecto fitofisionômico próprio e muito característico (Kosera *et al.*, 2006). Abaixo dos indivíduos emergentes podem ainda ser observados outros três estratos, o arbóreo superior, o arbóreo inferior e o arbustivo herbáceo (Klein, 1979). A Floresta Ombrófila Mista compreende as formações florestais típicas dos planaltos da região sul do Brasil, com disjunções na região sudeste e em países vizinhos (Argentina e Paraguai); encontra-se predominantemente entre as altitudes de 800 a 1.200 m, podendo eventualmente ocorrer acima desses limites (Roderjan *et al.*, 2002). As áreas ocupadas pela floresta apresentam valores de precipitação média situados entre 1.500 e 1.750 mm anuais e temperatura variável, sendo que no verão as médias estão entre 20°C e 21°C e no inverno entre 10°C e 11°C (Klein, 1960).

Entre as Fabaceae, referidas na literatura como apresentando dormência física, duas espécies de Caesalpinioideae foram selecionadas para o presente estudo, *Cassia leptophylla* Vogel e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby.

Cassia leptophylla – chamada popularmente de falso-barbatimão, medalhão de ouro e grinalda de noiva – é uma espécie arbórea, secundária inicial e sua ocorrência no interior da mata primária é rara (Carvalho, 2006). Possui sementes com dormência física (Fowler & Bianchetti, 2000). Segundo Carvalho (2006), a espécie tem origem no

Brasil, ocorrendo no Bioma Mata Atlântica (Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Ombrófila Mista), desde o Estado de São Paulo até o Rio Grande do Sul, sendo mais comum em solos argilo-arenosos, bem como drenados e férteis; floresce de novembro a março; frutifica de maio a setembro, possui frutos indeiscentes; é monóica, polinizada essencialmente por abelhas de diversas espécies; a dispersão dos frutos e sementes é autocórica (barocórica) e zoocórica; as árvores maiores atingem dimensões próximas a 20 m de altura. O autor acrescenta que ocorre em climas com precipitação pluvial média anual de 1.400 mm a 2.100 mm, com chuvas uniformemente distribuídas na região sul e periódicas no leste de São Paulo, com deficiência hídrica nula na região sul e de pequena a moderada no leste de São Paulo. A temperatura média anual, em que ela ocorre, é de 17,2°C a 22,3°C, a temperatura média do mês mais frio é de 12,2°C a 14,3°C, a temperatura mínima absoluta é de -7°C; a temperatura média do mês mais quente é de 22,4°C a 24,7°C. A germinação é epígea ou fanerocotiledonar. A emergência da radícula tem início de 15 a 35 dias após a sementeira. Utilizando-se tratamentos para superação da dormência, refere o autor, o poder germinativo varia de 50% a 97%; sem tratamentos ou tratamentos considerados ineficazes, de 0% a 8%. O autor ainda comenta a utilidade da espécie; mencionando que: pode ser empregada em obras internas e externas leves, em caixotaria, em confecções de brinquedos e laminados; é melífera produzindo néctar e pólen; é muito cultivada com fins ornamentais e quando isolada, forma uma copa frondosa, podendo servir como árvore ornamental, sendo excelente para paisagismo em geral, tanto pela beleza da floração, como pela forma da copa; na região Sul do Brasil, tem sido muito utilizada na arborização de ruas, por seu porte mediano, sendo também recomendada para compor maciços em parques ou jardins grandes e pequenos, devendo ser plantada isoladamente; possui uma massa foliar expressiva e resistente a vendavais; como planta rústica, mostra-se adaptada à insolação direta, sendo indicada para plantios mistos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente.

Senna macranthera – conforme Carvalho (2006) é popularmente denominada de manduirana, chuva-de-ouro e fedegoso – é uma espécie arbórea pioneira a secundária tardia, semidecídua ou decídua durante o inverno, heliófita, indiferente às características físicas do solo; possui sementes com dormência física; é muito frequente nas regiões de altitude, desde o Estado do Ceará até o Paraná; ocorre no Bioma Mata Atlântica (Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila Densa

e na Vegetação com Influência Marinha - Restinga) e Cerrado; floresce de dezembro a setembro; frutifica de março a agosto e possui frutos deiscentes. Segundo o autor, é uma espécie monóica, polinizada efetivamente por abelhas mamangavas (*Bombus morio*) e *Centris (Melanocentris) dorsata*, mas com polinizadores ocasionais (*Xylocopa* sp., *Xylocopa frontalis* e *Exomalopsis* sp.); a dispersão de frutos e sementes é autocórica (barocórica) e zoocórica. Aves, como *Elaenia flavogaster*, *Thraupis sayaca* (sanhaço-cinza) e *Tangara cayana* (sanhaço-cara-suja), podem consumir seus frutos ou diásporos (Andrade, 2003). Conforme Carvalho (2006), as árvores desta espécie atingem de 6 a 8 m de altura, o tronco tem de 20 a 30 cm de diâmetro; as árvores maiores atingem 15 m de altura e 40 cm de DAP, na idade adulta. O autor ainda refere que a espécie ocorre em climas com precipitação pluvial média anual de 730 mm a 2.200 mm, com regimes de precipitação de chuvas uniformemente distribuídas, na Serra do Mar e periódicas nos demais locais, com deficiência hídrica nula na Serra do Mar, de pequena a moderada, no inverno nos demais locais. A espécie ocorre em lugares com temperatura média anual de 18,1 a 27,2°C, com temperatura média do mês mais frio de 15,3 a 25°C, temperatura mínima absoluta de -2,7°C e temperatura média do mês mais quente de 20 a 28,7°C. A germinação é epígea ou fanerocotiledonar. A emergência da radícula tem início de 10 a 30 dias após a semeadura; a porcentagem de germinação, para sementes não tratadas, varia de 0 a 20% e, para sementes tratadas, de 40 a 99%. Entre as utilidades da espécie, o autor destaca que oferece grande potencial como planta ornamental, para jardins e parques, sendo muito cultivada; é recomendada para arborização urbana e rodoviária, exibindo farta floração de coloração amarelada durante um amplo período, sendo ideal para a composição de plantios em áreas degradadas; as flores são melíferas e a madeira é de reduzida importância, embora possa ser utilizada na confecção de pequenas peças, como caixotaria e obras leves.

Assim, como estas duas espécies arbóreas são encontradas na Mata Atlântica, o que possibilitaria a coleta de suas sementes, as quais apresentam dormência física, serviram como modelos para investigar a quebra de dormência por alternância de temperatura e identificação de entrada de água, através de estudos fisiológicos e morfo-anatômicos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Estudar os efeitos da alternância de temperatura na quebra da dormência física, analisar os aspectos morfo-anatômicos e identificar o local de entrada de água na germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby.

Objetivos específicos

Identificar o efeito da escarificação térmica sobre a quebra da impermeabilidade do tegumento das sementes.

Verificar a porcentagem de germinação das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* mantidas em temperaturas alternadas, constantes e em altas temperaturas.

Analisar a morfologia e a histologia da região hilar e extra-hilar das sementes.

Identificar morfo-histologicamente o caminho de entrada de água nas sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Coleta das sementes

As sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* var. *macranthera* (Fabaceae, de acordo com o sistema de classificação da APG II, 2003) foram coletadas, em julho de 2009, em árvores das ruas e do Bosque Alemão da cidade de Curitiba-PR. Neste Bosque, que é uma área de conservação da Floresta Ombrófila Mista, de acordo com Paula & Dunaiski (2010), ocorrem estas duas espécies de Fabaceae. Os frutos foram coletados com o auxílio de um podão, sendo retiradas as sementes e armazenadas em frascos de vidro, sob condição ambiente, até serem utilizadas. De acordo com a literatura, as sementes de *C. leptophylla* têm mais de um ano de viabilidade (Longhi *et al.*, 1984) e as de *S. macranthera* têm dois a quatro anos de viabilidade (Santarém & Áquila, 1995). Exemplares férteis de *C. leptophylla* e *S. macranthera* foram depositados no Herbário FLOR (UFSC, Florianópolis, SC), sob números 37.685 e 37.686, respectivamente.

2. Esterilização e semeadura

Para esterilização, as caixas “gerbox” foram colocadas em solução de hipoclorito de sódio a 20%, durante 20 minutos e as sementes em solução de hipoclorito de sódio a 10%, por 5 minutos, e após esse período imersas em água destilada, por 5 minutos (Oliveira, 2001). Em seguida as sementes foram semeadas nas caixas “gerbox”, de maneira que não encostassem umas nas outras, sobre dupla camada de papel de filtro umedecido com solução de benlate a 0,2%. A emergência da radícula foi o critério usado para considerar as sementes germinadas.

3. Verificação de dormência

Para verificar o comportamento germinativo das sementes, se dormentes ou não, as sementes foram esterilizadas e semeadas, em caixas “gerbox” pretas, conforme o item 2. Em seguida, as sementes foram colocadas para germinar em câmaras de germinação B.O.D., marca Fanem, modelo 347 CD, em temperaturas constantes de 25°C e

35°C, em cada câmara foram colocadas oito caixas “gerbox” contendo 15 sementes em cada caixa, quatro caixas por espécie. As contagens para verificação da germinação foram realizadas de 2 em 2 dias durante 24 dias.

A verificação da ocorrência ou não de dormência física foi feita através da colocação das sementes para embeber em água e verificar a ocorrência ou não da embebição. Para tal, três repetições de 10 sementes por espécie foram colocadas para embeber em béqueres contendo 250 ml de água e deixados, por 48 horas, em bancada de laboratório, em temperatura ambiente. Cada repetição teve o peso das sementes medido antes da embebição e depois de permanecerem por 24 e 48 h em água. A cada medida, teve-se o cuidado de remover a umidade superficial das sementes com papel absorvente. Com os valores obtidos antes e depois da embebição foi calculado o ganho de água em relação ao peso inicial.

4. Quebra da dormência física

4.1. Alternância de temperatura

Para a verificação da quebra da dormência por temperaturas alternadas e posterior germinação, as sementes foram esterilizadas e semeadas conforme o item 2. Foram feitas 4 repetições com 25 sementes de cada espécie em cada tratamento.

As sementes foram levadas para a câmara de germinação B.O.D., marca Dist, modelo 312-240 M em caixas “gerbox” transparente esterilizadas conforme o item 2, em temperaturas alternadas de 30°C/20°C, 25°C/15°C e 30°C/15°C, luz/escuro, com 12 horas para cada regime de temperatura. Para controle as sementes foram colocadas em câmaras de germinação B.O.D, marca Dist, modelo 300-220 EF às temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C, com fotoperíodo de 12 horas. Também foi testada a alternância de temperatura a 35°C/25°C, luz/escuro, com fotoperíodo de 6 horas para 35°C e de 18 horas para 25°C; para controle foram usadas as temperaturas constantes de 25°C e 35°C, com fotoperíodo de 12 horas. As contagens para verificação da germinação foram realizadas de 2 em 2 dias, durante 40 dias.

4.2. Altas temperaturas (calor seco)

Com o objetivo de verificar se a dormência física das sementes é quebrada por altas temperaturas, as sementes das duas espécies foram colocadas em uma estufa e submetidas as temperaturas de 35°C, 40°C e 45°C durante 2 horas por 3 dias. Após isso, foram levadas para germinar em uma câmara de germinação B.O.D, marca Dist, modelo 300-220 EF, a temperatura constante de 25°C. Para esterilização das sementes e das caixas “gerbox” transparentes, procedeu-se conforme descrito no item 2. Foram utilizadas 15 sementes de cada espécie por temperatura testada. As sementes germinadas foram contadas a cada 2 dias durante 30 dias.

5. Quebra da impermeabilidade do tegumento por escarificação térmica

Foi montado um experimento com três repetições de 15 sementes de cada espécie. As sementes foram colocadas em água quente, a 96°C, por 2 minutos, e levadas em caixas “gerbox” transparentes para câmara de germinação B.O.D, marca Dist, modelo 300-220 EF a 25°C constante, durante 40 dias, em luz. As sementes e as caixas “gerbox” foram esterilizadas conforme o item 2. A fim de verificar se ocorreu quebra da impermeabilidade do tegumento das sementes através da escarificação térmica, a quantidade de sementes que embeberam foram contadas a cada 2 dias. O aumento da permeabilidade à água foi avaliado através de observação visual do aumento de volume das sementes.

6. Verificação da viabilidade das sementes

Com a finalidade de verificar se as sementes que não germinaram eram viáveis, procedeu-se o teste de tetrazólio. Para isto foram selecionadas vinte sementes de cada espécie não germinadas do procedimento de verificação de dormência e de cada tratamento da quebra de dormência por alternância de temperatura, cinco sementes por espécie de cada temperatura testada na quebra de dormência por altas

temperaturas (calor seco) e quinze sementes por espécie do tratamento de quebra da impemeabilidade do tegumento por escarificação térmica, as quais foram escarificadas manualmente e colocadas em tubos de ensaio contendo solução de cloreto de 2,3,5 tri-feniltetrazólio a 0,5% e envolvidos em papel de alumínio, em seguida os tubos de ensaio foram levados para uma câmara de germinação B.O.D, marca Dist, modelo 300-220 EF a 25°C e mantidas durante 24 horas (Brasil, 2009).

7. Aspectos estruturais das sementes

Com a finalidade de verificar a histologia do tegumento, as sementes foram coladas em blocos de madeira, com adesivo instantâneo “Super Bonder[®]”, e seccionadas, longitudinal e transversalmente, na região hilar e extra-hilar, em micrótomo de deslize Micron HM400. Posteriormente, as secções de 40 μ m foram colocadas sobre lâminas histológicas, com água, e cobertas com lamínulas. As observações e registro de imagens foram feitas em microscópio óptico Leica, modelo MPS 30 DMLS. As fotomicrografias foram capturada com câmara digital Sony.

Para uma melhor compreensão de como é o formato das células dos tegumentos das sementes, foi feito um experimento de dissociação segundo Franklin (1945, modificado por Kraus & Arduin, 1997). Para tal, uma semente de cada espécie foi cortada transversalmente ao meio e colocadas em frascos, separados por espécie, contendo uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial 1:1 (v/v) e deixados em uma estufa a 60°C, por 48 horas. Após isso, o material foi transferido para tubos de ensaio e centrifugado em centrífuga marca EVLAB, modelo EV:011D afim de deixar as células no fundo do tubo. A seguir, o material foi lavado com água destilada, por três vezes, pipetando-se o líquido sobrenadante após algum tempo de decantação das partículas sólidas (células). O material foi corado com azul de toluidina, depois coletado com pipeta Pasteur e colocado sobre lâminas, com água, sendo coberto com lamínula e observado no mesmo microscópio referido acima.

Foram feitas observações sem e com ação de reagentes. Para testes histoquímicos foram utilizados: sudan IV, para suberina, óleos, ceras epicuticulares e cutina (Costa, 1982); floroglucinol acidificado, para lignina (Costa, 1982); cloreto férrico, para lignina (Costa, 1982); azul de toluidina, com reações policromáticas para lignina (azul

esverdeado) e celulose (avermelhado púrpura) (O'Brien *et al.*, 1965) e vermelho de rutênio para substâncias pécticas (Gerlach, 1984).

Para verificação de calose nas sementes, foi usado um procedimento segundo Ruzin (1951), no qual secções da região hilar e extra-hilar foram imersas em azul de anilina, a 0,05 % em tampão de fosfato de potássio, 0,1 M e pH 8,3. De acordo com o autor, o tempo deveria ser de 2 horas ou mais; neste estudo, foram imersas na solução tampão por cerca de 12 horas. Como controle, algumas secções foram imersas apenas em tampão de fosfato de potássio, sem uso do corante. As secções foram colocadas entre lâmina e lamínula, com água, e observadas em microscópio marca Olympus, modelo BX41, com sistema de iluminação de vapor de mercúrio (HBO 100), com epifluorescência em filtro de cor azul (UMWU2), com excitação de 330 – 385nm e emissão de 420nm, que de acordo com o manual do fabricante é indicado para o corante azul de anilina. As fotos foram capturadas com câmara de imagem digital colorida, com 3,3 mpixel QColor 3C da Q-imaging, utilizando um computador, no qual está instalado o programa de captura de imagens Q-capture Pro 5.1 da Q-imaging.

Com o objetivo de descrever os aspectos morfológicos externos e estruturais internos, as sementes foram observadas em microscópio estereoscópico Leica, modelo EZ4D. As fotomicrografias foram capturadas com câmara digital Sony.

8. Entrada de água nas sementes

Para se verificar por onde entra a água nas sementes, foi usado um procedimento segundo Jayasuriya *et al.* (2007). Para isso, 20 sementes de cada espécie foram submetidas à escarificação térmica, colocando-as durante 2 minutos em água a 96°C. As 20 sementes escarificadas e 20 sementes não escarificadas (controle) foram imersas em uma solução (aquosa) de anilina azul a 1%, retirando-se duas sementes após 15 e 30 minutos e 1, 2 e 3 horas. Após isso foram feitas secções longitudinais, algumas à mão livre com lâmina de barbear e outras em micrótomo de deslize Micron HM400 (40µm), na região hilar e extra-hilar, para identificar o caminho percorrido pela solução. As secções foram analisadas em microscópio estereoscópico Leica, modelo EZ4D e em microscópio óptico Leica, modelo MPS 30 DMLS. Fotomicrografias foram capturadas com câmara digital Sony.

Para analisar ultraestruturalmente a superfície hilar, 5 sementes tratadas com escarificação térmica e 5 não tratadas, de cada espécie, foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M – pH 7,2 por 2 horas, lavadas por 3 vezes em tampão fosfato de sódio e desidratadas em série etílica (20, 40, 50, 70, 80, 90, 96 e duas vezes em 100° GL - meia hora cada). Posteriormente, as amostras foram levadas ao ponto crítico de CO₂ Leica, modelo EM CDP 300. As amostras secas foram aderidas, sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita de carbono dupla face, e cobertas com 20 nm de ouro, em metalizador Leica, modelo EM SCD 500. As amostras foram observadas e documentadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), marca Jeol, modelo XL30. Como as substâncias usadas para pré-microscopia alteraram não só as sementes tratadas, mas também as não tratadas, afetando a estrutura do tegumento, outro procedimento foi empregado, mostrando resultados mais satisfatórios. As sementes foram cortadas ao meio, para retirada do endosperma (substâncias de reserva oleosa, acumuladas nas células, poderiam danificar o MEV e não teriam interesse na análise do tegumento) e colocadas em frascos de vidro com sílica gel durante um mês para absorção total da água. Amostras secas da região hilar das sementes foram aderidas sobre suportes de alumínio e analisadas em MEV, nas mesmas condições referidas acima.

9. Análise de dados

Para a análise dos dados da germinação foi usado o programa BioEstat 5.0, utilizando o teste *t* de Student para comparação entre dois tratamentos e o ANOVA para três tratamentos.

RESULTADOS

1. Verificação de dormência

A porcentagem de germinação em temperatura constante de 25°C e 35°C para *C. leptophylla* foi de 7% e 8%, respectivamente (Fig. 1) e para *S. macranthera* foi 20% e 0%, respectivamente (Fig. 2).

O peso médio das sementes não embebidas de *C. Leptophylla* e *S. macranthera* foi de 2,9316 g e 0,7181 g, respectivamente. Após 48 horas de embebição, o peso das sementes aumentou 0,0021g para de *C. Leptophylla* e manteve-se constante para *S. macranthera*.

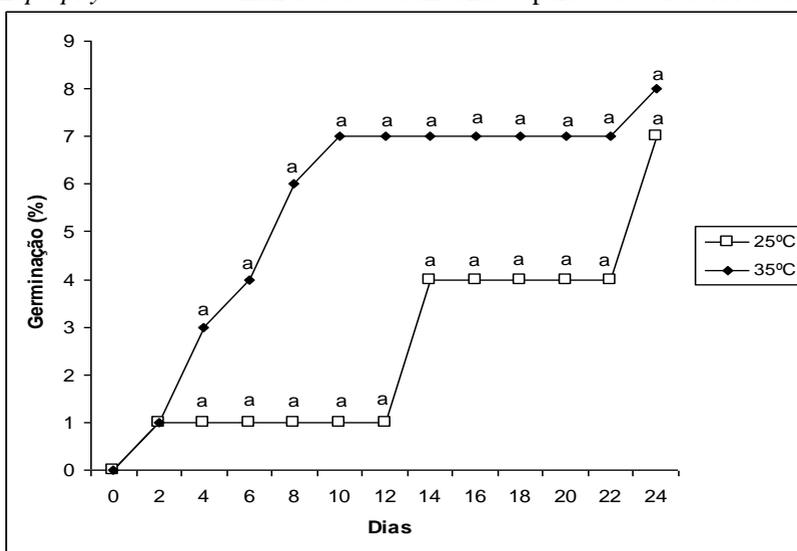


Figura 1. Curvas de germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 25°C e 35°C, no escuro. Letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre os tratamentos.

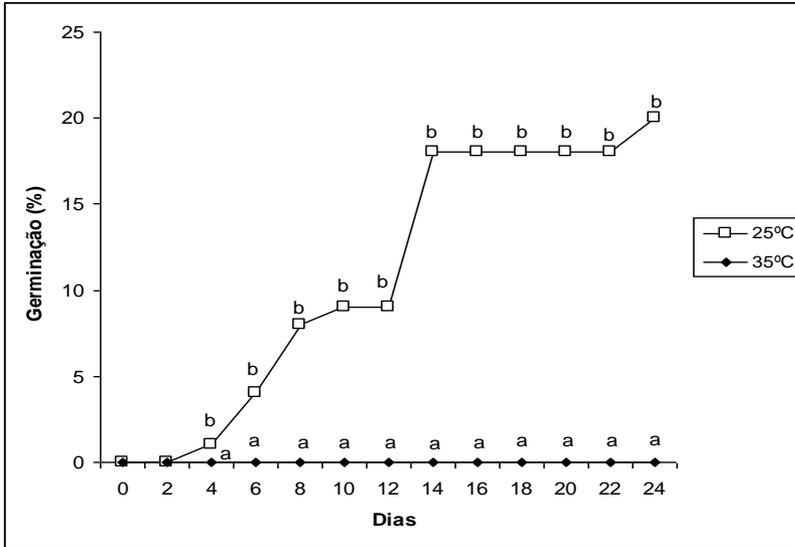


Figura 2. Curvas de germinação de sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 25°C e 35°C, no escuro. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

2. Quebra da dormência física

2.1. Alternância de temperatura

A porcentagem de germinação de *C. leptophylla* em temperaturas alternadas de 20°C/30°C, amplitude de 10°C de flutuação da temperatura, foi de 8% e nas temperaturas controle de 20°C e 30°C foram 5% e 6% respectivamente, sendo estes valores significativamente iguais, ocorrendo apenas atraso no início da germinação a 20°C em relação aos outros regimes de temperatura (Fig. 3). Para *S. macranthera* também não houve diferença significativa entre a porcentagem de germinação em temperatura alternada de 20°C/30°C (12%) e a 20°C (20%), mas a 30°C a germinação foi de apenas 1%, revelando grande inibição (Fig. 4).

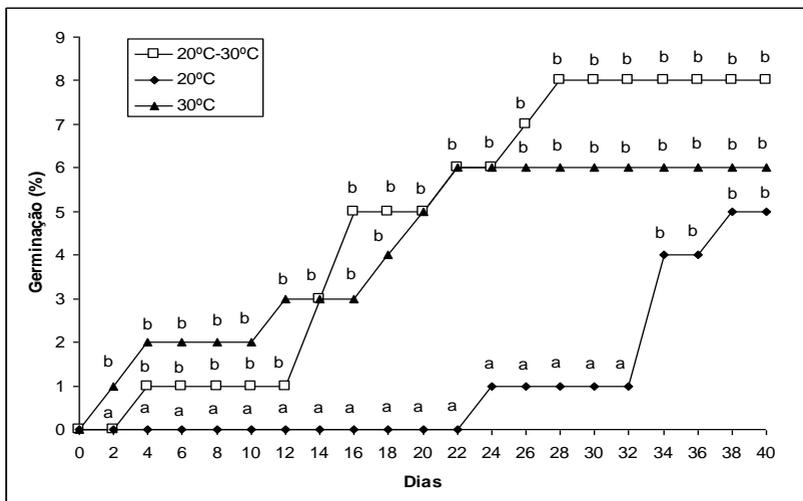


Figura 3. Curvas de germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 20°C, 30°C e 20°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

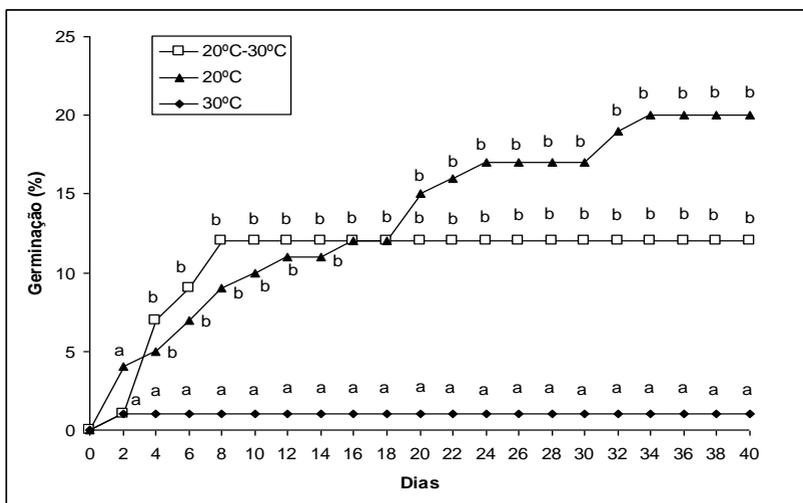


Figura 4. Curvas de germinação de sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 20°C, 30°C e 20°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

Utilizando a mesma amplitude de variação da temperatura alternada, de 10°C, mas alterando as temperaturas limites mínima e máxima para 15°C e 25°C, observou-se baixa porcentagem de germinação para ambas as espécies, havendo, entretanto, uma diminuição significativa da germinação a 15°C em relação aos outros dois regimes de temperatura (Fig. 5-6).

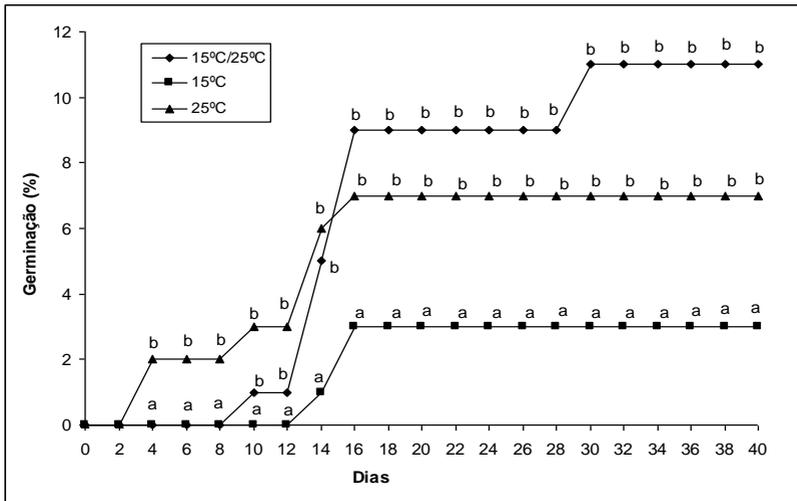


Figura 5. Curvas de germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 15°C, 25°C e 15°C/25°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

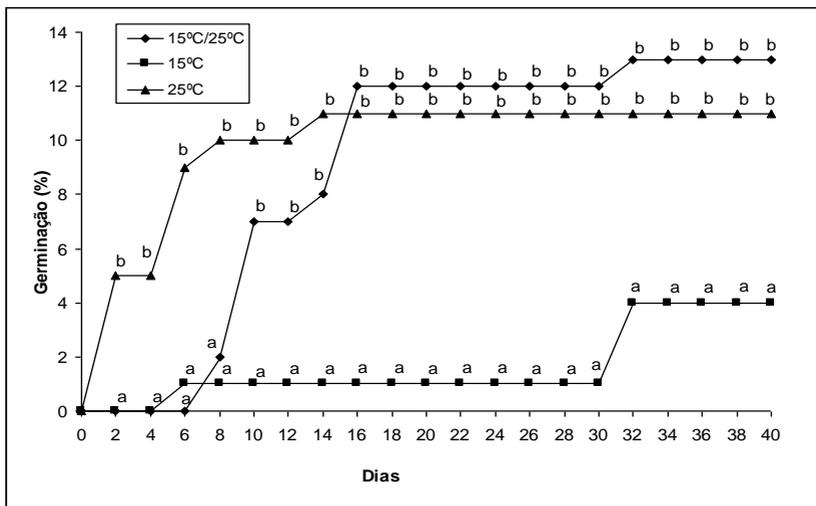


Figura 6. Curvas de germinação de sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 15°C, 25°C e 15°C/25°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

Aumentando a amplitude de variação da temperatura alternada para 15°C (15°C/ 30°C), a porcentagem de germinação de *C. leptophylla* foi de 2%, na temperatura de 15°C foi de 5% e na de 30°C foi de 4% (Fig. 7). Para *S. macranthera* a porcentagem de germinação foi de 1% para 15°C/30°C e para 15°C, mas de 8% para 30°C, sendo esta diferença significativa em relação aos outros dois regimes de temperatura (Fig. 8).

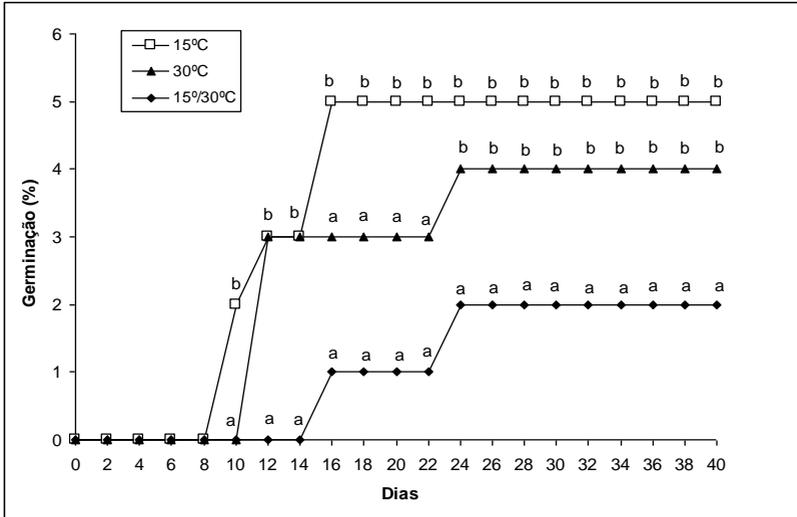


Figura 7. Curvas de germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 15°C, 30°C e 15°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

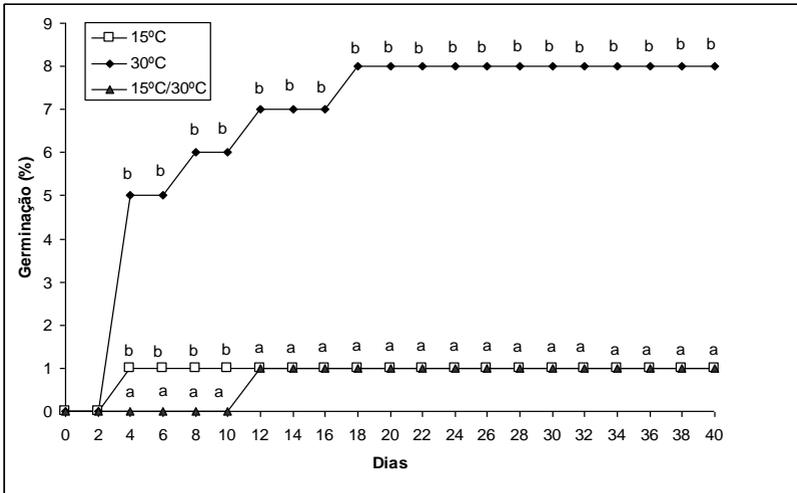


Figura 8. Curvas de germinação de sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 15°C, 30°C e 15°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

Aumentando os limites inferior (25°C) e superior (35°C), mas com amplitude de flutuação da temperatura de 10°C, a porcentagem de germinação de *C. leptophylla* em temperatura alternada de 25°C/35°C foi de 3%, na temperatura controle de 25°C foi de 4% e na de 35°C foi 0% (Fig. 9). Houve diferença significativa nas porcentagens de germinação entre 35°C e os demais tratamentos, tendo esta temperatura inibido completamente a germinação. Para *S. macranthera* também não houve germinação a 35°C, e a temperatura alternada foi melhor para a germinação que a constante de 25°C (Fig. 10).

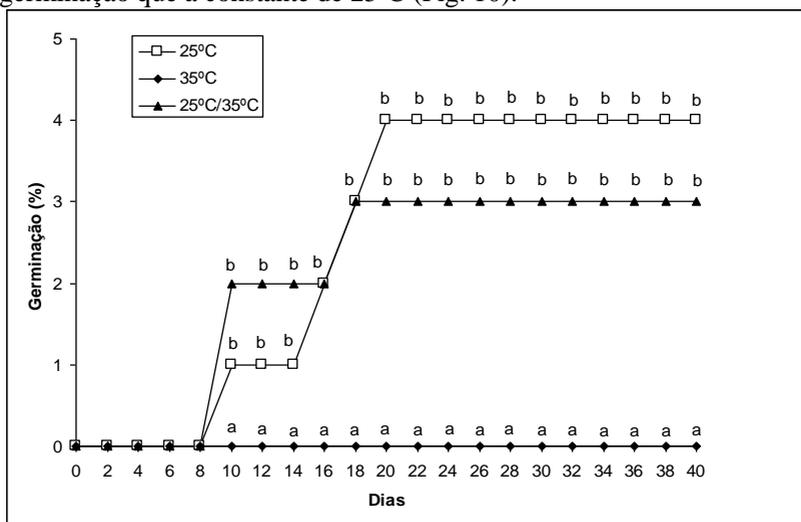


Figura 9. Curvas de germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 25°C, 35°C e 25°C/35°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

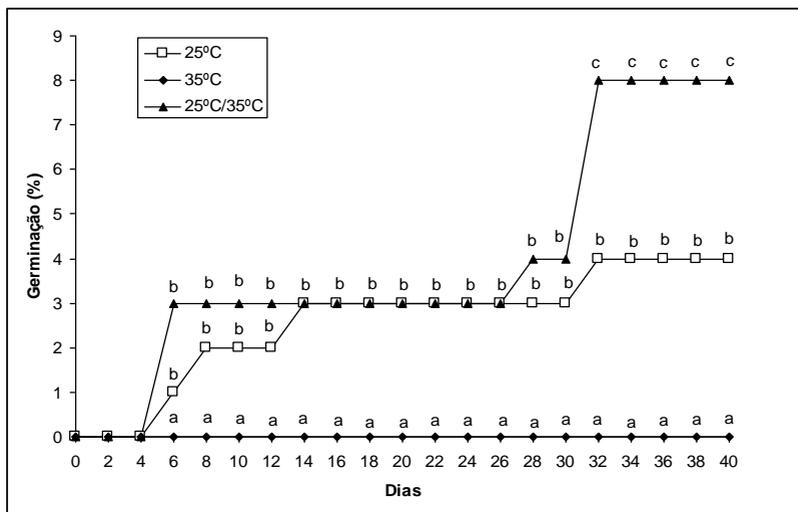


Figura 10. Curvas de germinação de sementes de *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinioideae) incubadas a 25°C, 35°C e 25°C/35°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

A tabela 1 resume os resultados da germinação final de sementes tratadas com vários regimes de temperaturas alternadas.

Tabela 1 – Porcentagem de germinação ao final dos experimentos nas temperaturas testadas. Letras diferentes indicam diferenças significativas, comparando cada três tratamentos na coluna.

Temperaturas (C°)	% Germinação	
	<i>Cassia leptophylla</i>	<i>Senna macranthera</i>
20/30	8b	12b
30	6b	1a
20	5b	20b
25/15	11b	13b
25	7b	11b
15	3a	4a
15/30	2a	1a
30	4b	8b
15	5b	1a
25/35	3b	8c
35	0a	0a
25	4b	4b

2.2. Altas temperaturas (calor seco)

A porcentagem de germinação das sementes após serem submetidas ao calor seco para *C. leptophylla* foi de 0% em todas as temperaturas testadas e para *S. macranthera* foi de 7% em 35°C, 0% em 40°C e de 13% em 45°C.

3. Quebra da impermeabilidade do tegumento por escarificação térmica

As sementes escarificadas termicamente, por 2 minutos, a 96°C, mostraram uma alta porcentagem de embebição, 89% para *C. leptophylla* e 91% para *S. macranthera* (Fig. 11).

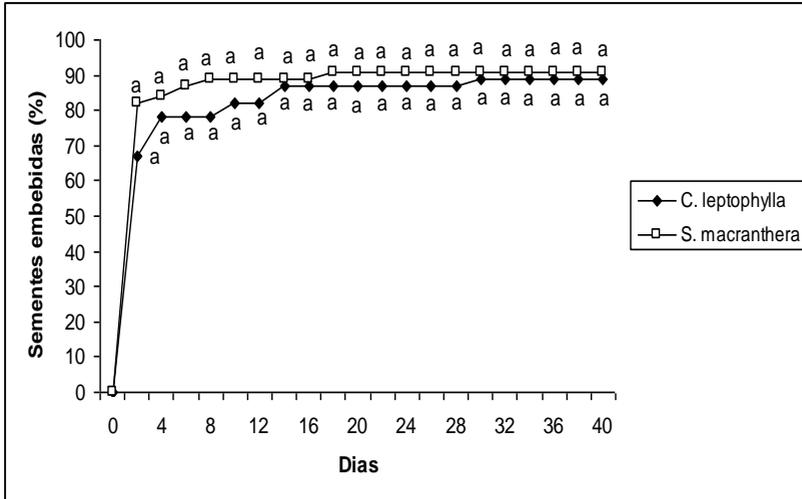


Figura 11. Curvas de porcentagem de sementes embebidas de *Cassia leptophylla* Vogel e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae – Caesalpinioideae), submetidas à escarificação térmica, a 96°C, por 2 minutos. Letras iguais indicam que não houve diferenças significativas entre os tratamentos.

4. Verificação da viabilidade das sementes

As sementes selecionadas não germinadas em todos os tratamentos de germinação, com exceção das sementes de *S. macranthera* a 35°C do procedimento de verificação de dormência, que estavam todas mortas, reagiram positivamente ao teste do tetrazólio (Fig. 12-13), indicando respiração celular e, portanto, estavam vivas.

5. Aspectos estruturais das sementes

Nas sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* distinguem-se a região hilar, constituída por micrópila, hilo e estrofiolo (Fig. 14-15). A região hilar é apical em *C. leptophylla* (Fig. 14, 16) e subapical em *S. macranthera* (Fig. 15, 17). Nas duas espécies o hilo apresenta-se sempre em posição intermediária à micrópila e ao estrofiolo, sendo as três estruturas alinhadas na mesma direção (Fig. 18-21). O embrião, com eixo hipocótilo- radicular voltado para região apical da semente e cotilédones para a região oposta, é envolvido por endosperma e tegumentos em ambas as espécies (Fig. 16-17).

A testa das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* é formada por: camada paliçádica, osteoesclereídes e parênquima esclerificado (Fig. 22-25).

A camada paliçádica é constituída por macroesclereídes dispostas compactamente (Fig. 26-31). Na região hilar, esta paliçada é delimitada externamente por camada subcuticular e remanescentes funiculares (Fig. 26-27) e, na região extra-hilar, adjacente à paliçada ocorre uma camada subcuticular, com estrias transversais e, mais externamente, uma camada cuticular (Fig. 28, 30). As macroesclereídes são células alongadas, nas quais distingue-se uma linha refrativa que percorre transversalmente toda camada paliçádica, denominada linha lúcida (Fig. 29, 31). Esta linha possibilita a distinção de duas porções nas macroesclereídes, uma superior e outra inferior (Fig. 32-33). A porção superior é cônica, mais alongada em *S. macranthera* (Fig. 33) do que em *C. leptophylla* (Fig. 32), e apresenta-se mais estreita do que a porção inferior (Fig. 32-33). As macroesclereídes, na porção apical e parte da porção basal, mostraram reação positiva para lignina com azul de toluidina, enquanto na região que delimita as duas porções destas células, correspondendo à linha lúcida, e a região basal da porção inferior, não ocorreu nenhuma reação (Fig. 34-35). Exatamente nestas duas regiões que não reagiram ao azul de toluidina, ocorreu a fluorescência com uso de azul de anilina, sem evidenciarem autofluorescência quando da ausência do reagente (Fig. 36-39), indicando presença de calose. A microanálise química das camadas que revestem a camada paliçádica revelou que há uma fina camada cuticular externa, que reagiu positivamente ao sudan IV, porém a camada subcuticular não revelou presença de cutina, mas a reação foi positiva com vermelho de rutênio, indicando presença de substâncias pécticas.

As osteoesclereídes (*hourglass*) são células que apresentam paredes espessadas, as quais, com base nos testes histoquímicos utilizados, não mostraram reação positiva à presença de lignina. Sua denominação decorre da sua forma de ampulheta, cujas extremidades distais são dilatadas e há uma constrição mediana (Fig. 40-41), que deixa presente conspícuos espaços intercelulares (Fig. 42-43). Estas células constituem uma camada adjacente à camada paliçádica (Fig. 44-45), ausente na região hilar (Fig. 22-23), e outra camada contínua, presente na região hilar (Fig. 22-23, 42-43) e extra-hilar (Fig. 24-25, 44-45), interna ao parênquima esclerificado.

O parênquima esclerificado apresenta um maior número de camadas na região hilar (Fig. 22-23) do que na região extra-hilar (Fig. 24-25). Na região extra-hilar, porém o número de estratos é maior em *C. leptophylla* (Fig. 24) do que em *S. macranthera* (Fig. 25). Este tecido é constituído por células com paredes espessadas (Fig. 46-49), as quais, com base nos testes histoquímicos utilizados, não mostraram reação positiva à presença de lignina. Estas células formam um tecido homogêneo (Fig. 46-47), sendo alongadas no sentido horizontal à superfície da semente e com reduzidos espaços intercelulares.

Internamente aos tecidos que constituem a testa das sementes ocorre uma fina camada de células brancas (Fig. 50-53), as quais constituem o tégmen. Estas células apresentam paredes delgadas, muito claras e quase imperceptíveis; o formato é alongado horizontalmente, com cutícula distinta entre estas células e a testa, separando as osteoesclereídes do endosperma (Fig. 52-53). O endosperma (Fig. 54-55) é formado por células de formato irregular e de paredes espessadas.

6. Entrada de água nas sementes

A análise ultraestrutural da região hilar das sementes de *C. leptophylla* (Fig. 56) e *S. macranthera* (Fig. 57) revelou que naquelas dormentes, sem tratamento, os tecidos desta região mantiveram-se intactos, ou seja, sem rompimentos. Entretanto, quando utilizado tratamento por escarificação térmica, a micrópila nas sementes de *C. leptophylla* (Fig. 58) e o estrofiolo em *S. macranthera* (Fig. 59) mostraram-se alterados. Em *C. leptophylla* (Fig. 60), a micrópila mostrou-se mais aberta; em *S. macranthera* (Fig. 61), a região do estrofiolo apresentou um contorno de rompimento dos tegumentos.

Nas sementes dormentes de *C. leptophylla* e *S. macranthera*, sem escarificação térmica, após embebição com azul de anilina por 1 a 3

horas, não ocorreu entrada do corante nos tecidos, ou seja, não penetrou nos tegumentos (Fig. 62-65), exceto na camada subcuticular (Fig. 64-65).

Em sementes que tiveram a dormência quebrada por escarificação térmica e foram submetidas a embebição com azul de anilina, após 15 minutos observou-se uma coloração azulada contornando o canal micropilar em *C. leptophylla* (Fig. 66) e na região do estrofiolo em *S. macranthera* (Fig. 67). Após 30 minutos, a coloração avançou nos tecidos periféricos do canal micropilar e também na região do hilo e através do feixe vascular da rafe em *C. leptophylla* (Fig. 68); em *S. macranthera* a embebição foi mais acentuada, corando também os tegumentos e endosperma e sendo absorvido pela radícula, percebendo-se a coloração azulada no tecido próvascular (Fig. 69). Após uma hora de embebição, nas duas espécies (Fig. 70-71), os tegumentos estavam totalmente corados, entretanto, enquanto em *S. macranthera* todas as demais estruturas internas da semente estavam coradas (Fig. 71) em *C. leptophylla* (Fig. 70), não foi observada a infiltração do corante no endosperma e embrião, mesmo quando submetida a um período de até 3 horas de imersão em azul de anilina. Na região extra-hilar (Fig. 72-77), constatou-se que em *C. leptophylla* após 15 minutos a camada paliçádica já estava corada (Fig. 72); após 30 minutos, o azul de anilina avançou para o parênquima esclerificado (Fig. 74), não chegando a corar as células brancas; estas também não coraram, após 1 hora, assim como o endosperma e os cotilédones (Fig. 76). Em *S. macranthera*, inicialmente corou apenas a camada paliçádica (Fig. 73), mas após meia hora já avançou através dos demais tegumentos (Fig. 74) e, após uma hora de embebição no azul de anilina, o endosperma também corou (Fig. 77). Após uma hora, também observaram-se fissuras ao longo do tegumento, em ambas as espécies (Fig. 76-77).

DISCUSSÃO

1. Dormência e germinação

Uma semente intacta e viável é considerada dormente quando é incapaz de germinar sob condições favoráveis, as quais são umidade, temperatura e oxigenação adequadas (Bewley & Black, 1994). Uma semente dormente não irá germinar sob condições ótimas para a germinação sem primeiro receber um estímulo para a quebra da dormência, estímulo este que não é requerido para a germinação propriamente dita, indicando que os dois processos, quebra da dormência e germinação, são eventos separados (Bewley *et al.*, 2006).

As sementes intactas de *C. leptophylla* e *S. macranthera* mostraram baixos níveis de germinação em temperaturas que seriam favoráveis à germinação de sementes não dormentes. Sementes intactas de *S. macranthera* não germinaram a 35°C. Silva (2001) observou que sementes escarificadas de *S. macranthera* não germinaram entre 39°C e 42°C e após 48 horas todas as sementes estavam moles e envolvidas por uma substância gelatinosa. A autora identificou este processo como característico da proliferação de microorganismos que inviabilizam a germinação. Estes resultados podem explicar os aqui encontrados, de ausência de germinação em sementes intactas a 35°C, temperatura que poderia ser acima do limite máximo para a germinação neste lote de sementes. O limite máximo para a germinação pode variar entre populações da mesma espécie (Baskin & Baskin, 2001).

Para um grande número de espécies tropicais e subtropicais a faixa de 20°C a 30°C tem sido adequada para a germinação (Borges & Rena, 1993) e para a maioria das espécies tropicais, a temperatura ambiente de 25°C a 30°C é bastante favorável para a germinação máxima (Smith *et al.*, 2003). Os trabalhos realizados com espécies arbóreas nativas do Brasil mostraram que entre 15°C a 30°C as sementes apresentam porcentagens elevadas de germinação (Santos & Aguiar, 2005). Para sementes escarificadas de *S. macranthera*, encontrou-se germinação de 80% ou mais em temperaturas entre 18°C e 33°C (Eschiapati-Ferreira & Perez, 1997; Silva, 2001). A presença de dormência em sementes de *C. leptophylla* já tinha sido antes observada por Figliolia (1982) e Fowler & Bianchetti (2000) e em *S. macranthera* por Santarém & Áquila (1995), Lemos Filho *et al.* (1997), Eschiapati-Ferreira & Perez (1997) e Silva (2001).

A alternância de temperatura tem sido considerada um estímulo para a quebra da dormência em sementes com dormência física e, sendo uma vez quebrada a dormência, as sementes germinam mesmo em temperatura constante (Baskin & Baskin, 2001). A alternância de temperatura foi o tratamento eficaz para a quebra da dormência física de sementes de espécies arbóreas florestais tropicais como em *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake (Souza, 2010), *Acacia polyhylla* DC. (Silva, 2007) e *Croton floribundus* Spreng (Abdo & Paula, 2006) nas quais foi verificada uma alta porcentagem de germinação utilizando temperaturas alternadas de 20°C/30°C. Outros limites de alternância de temperatura foram relatados como eficazes para a quebra da dormência física de outras espécies florestais tropicais como foi verificado por Amaro *et al.* (2006), trabalhando com *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. e Santos & Aguiar (2005), com *Sebastiania comersoniana* (Baillon) Smith & Downs, os quais constataram uma alta porcentagem de germinação a temperaturas alternadas de 25°C/30°C.

Vazques-Yanes & Orozco-Segovia (1982) verificaram uma alta porcentagem de germinação em sementes de *Heliocarpus donnel-smithii* Rose, quando colocadas em alternância de temperatura com temperaturas altas por 6 horas entre 32°C e 36°C, porém observaram que as mesmas temperaturas aplicadas por um longo tempo (18 h) promovem a germinação, mas são letais para as plântulas. Vasques-Yanes (1974) constatou que o tratamento ideal para a germinação de *Ochroma lagopus* Swartz ocorre quando suas sementes são submetidas a temperatura alternada de 25°C por 20 horas e 45°C por 4 horas.

Entretanto, no presente estudo a alternância de temperatura não foi eficiente para a quebra da dormência física das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera*. Antes de ser descartada a influência de temperatura alternada na quebra da dormência das sementes destas espécies, vários fatores ainda devem ser avaliados, como a amplitude e o período de duração do tratamento. O tratamento de temperatura capaz de quebrar a dormência depende da amplitude de flutuação da temperatura ou, no caso da alta temperatura constante, até que esta atinja determinado nível (Quinlivan, 1966). Souza (2010) conseguiu quebrar a dormência física em sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) S.F. Blake utilizando flutuação de 10°C (alternada de 20°C/30°C), embora obtivesse germinação também a 30°C, só que a velocidade mais lenta. Vazques-Yanes & Orozco-Segovia (1982) obtiveram sucesso com amplitude de variação de temperatura de 15°C, mas não de 5°C. Em sementes embebidas de *Ipomoea lacunosa* L. (Convolvulaceae) a

dormência foi quebrada com flutuação de temperatura de 15°C (em alternância de temperatura de 35°C/20°C) ou à temperatura constante de 35°C (Jayasuriya *et al.*, 2007). Na espécie de Fabaceae *Thermopsis lupinoides* Link. encontrada em dunas no Japão, flutuação na temperatura de 15°C (alternância de temperatura de 25°C/35°C) promoveu a quebra da dormência (Kondo & Takahashi, 2004). Estas amplitudes de flutuação da temperatura foram testadas aqui, mas sem sucesso. Talvez o tempo em que as sementes estiveram sob as temperaturas fosse pequeno, uma vez que Moreno-Casasola *et al.* (1994) encontraram que a germinação de espécies de dunas tropicais foi aumentada após 45 dias de flutuação de temperatura maiores que 20°C. Outros autores citados por Van Assche *et al.* (2003) também encontraram quebra da dormência em sementes de *Trifolium subterraneum* L., uma espécie que ocorre em dunas da Austrália, quando há flutuação durante várias semanas ou meses. No caso de *C. leptophylla* e *S. macranthera* ainda há que se proceder a novos experimentos para elucidar como se dá a quebra da dormência de sementes destas espécies através de tratamentos compatíveis com aqueles que podem ocorrer na natureza. Para isto precisa-se conhecer bem o habitat das espécies, já que a alternância ocorre devido à mudança no ambiente ou devido às estações do ano. Por exemplo, flutuação de temperatura pode ocorrer perto da superfície do solo nos dias de verão na região subtropical e também pela remoção do estrato gramíneo em meses secos (Argel & Paton, 1999); pode estar relacionada com a resposta à profundidade em que as sementes estariam enterradas no solo (Hu *et al.*, 2009) ou, então à localização da semente em uma clareira, onde na borda a variação de temperatura é menor que no centro desta (Vásquez-Yanes & Orozco-Segovia, 1982).

Para *C. leptophylla* um limite superior de temperatura poderia ser pesquisado, mas para *S. macranthera* um limite superior de temperatura não parece adequado, pois as sementes parecem não suportar temperaturas acima de 40°C (Silva, 2001) e no presente trabalho a temperatura de 35°C não levou à germinação das sementes. Outros fatores relatados como eficientes na quebra da dormência física em sementes de espécies tropicais são alta temperatura aplicada em sementes secas, fogo e efeito de animais (Baskin & Baskin, 2001). Calor a seco foi aplicado às sementes sem resultado nas temperaturas testadas de 35°C, 40°C e 45°C durante 2 horas por 3 dias, entretanto poderiam ser utilizadas temperaturas mais altas e por períodos maiores. O fogo, outro fator, não ocorre no ambiente das espécies, sendo improvável ser o agente causador da quebra da dormência nestas espécies. Perfurações

nas sementes por animais, é possível que ocorram, mas esta não deve ser a maneira encontrada pelas espécies durante a evolução para a quebra da dormência, já que estas mostraram estruturas especiais para a entrada de água, as quais não seriam necessárias se a quebra da dormência se desse por perfurações por animais.

2. Aspectos estruturais das sementes

Em Caesalpinioideae, o hilo apresenta-se em posição intermediária à micrópila e ao estrofiolo (Gunn, 1991), estando estas três estruturas alinhadas em uma mesma direção (Corner, 1951; Gunn, 1991). A análise estrutural das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* confirmou estas características.

O estrofiolo, conforme Barroso *et al.* (1999), corresponde a um pequeno intumescimento sobre a rafe. Este termo, adotado por Bewley & Black (1994), também é referido na literatura como lente (*lens*) (Corner, 1951; Gunn, 1991; Serrato-Valenti *et al.*, 1995) ou plugue estrofiolar (Dell, 1980). Esta estrutura têm grande relevância em investigações relacionadas com a quebra de dormência física para entrada de água em sementes de Fabaceae (Baskin & Baskin, 2000).

A análise histológica dos tegumentos das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* revelou algumas diferenças entre a região hilar e extra-hilar. O hilo forma-se quando o funículo rompe-se do fruto, formando-se uma camada abscíssica em continuação com a camada paliçádica do tegumento externo, sendo intermediado por feixes vasculares (Corner, 1951). Estes remanescentes do hilo, adjacentes à camada paliçádica, foram observados nas duas espécies estudadas, determinando uma das distinções entre a região hilar, com remanescentes do hilo, e região extra-hilar, com camada paliçádica revestida por camada subcuticular e cuticular. Corner (1951) refere que a cutícula é uma camada sempre fina e lisa, uma película espessa e resistente, formando a casca da testa, consistindo na extremidade da camada paliçádica e a camada subcuticular como uma camada mucilagínosa, que representa a parede periclinal entre o lúmen celular e a cutícula com cones formando uma camada espessa. Souza (1982) constatou que em sementes de *Cassia cathartica* Mart. a cutícula é fina e a camada subcuticular é formada por matriz acelular de natureza péctica e hemicelulósica, provida de estrias transversais. Nas sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* ocorre uma camada externa

cutinizada e uma camada subcuticular, não cutinizada, com presença de substâncias pécticas.

De acordo com Corner (1976), as sementes podem ser classificadas quanto à posição e à estrutura da principal camada de tecido mecânico dos tegumentos, podendo ser testais ou tégmicas. Nas sementes testais, esclarece o autor, distinguem-se as exo, meso e endotestais, com base na posição das camadas mecânicas. Quando a epiderme externa, que constitui a testa, é formada por camada paliçádica rígida, cujas células têm paredes espessadas, lignificadas ou não, denominadas macroesclereídes, as sementes são exotestais, como ocorre em Fabaceae, acrescenta o autor. A análise histológica dos tegumentos das sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* confirmou que estas espécies de Fabaceae são exotestais.

Entre as Fabaceae, algumas espécies apresentam dupla camada paliçádica, como em *Pterocarpus violaceus* Vogel (Nakamura & Oliveira, 2005) e *Dipterix odorata* (Aubl.) Will. (Bessa *et al.*, 2001) – Papilionoideae, enquanto outras apresentam apenas uma camada como em *Cassia cathartica* (Souza, 1982) e *Chamaecrista flexuosa* (Paula & Oliveira, 2007) - Caesalpinioideae. Nas sementes de Caesalpinioideae, conforme descrito por Corner (1951), a camada paliçádica está constituída por um único estrato celular, tanto na região hilar quanto extra-hilar, o que também foi constatado nas espécies aqui estudadas. A camada paliçádica, afirmam Baskin *et al.* (2000), Baskin (2003) e Jayasuriya (2007), constituída por células alongadas radialmente, na maioria das sementes duras, é responsável pela impermeabilidade das sementes. Segundo os autores, esta camada paliçada impede a absorção de água pelo seu arranjo físico e por revestimentos químicos impregnados nas células (lignina, cutina, suberina, ceras). Segundo Evert (2006) a lignina é um revestimento hidrofóbico que repele a água da parede celular.

A camada paliçádica está constituída por células de Malpighi, que apresentam uma linha refringente denominada linha lúcida, a qual pode mostrar distinções entre as sementes de Fabaceae (Corner, 1951). Melo-Pinna *et al.* (1999) observaram que em *Senna spectabilis* (DC.) H.S. Irwin & Barneby - Caesalpinioideae, a linha lúcida localizava-se um pouco acima da metade das macroesclereídes. Borges & Mendonça (2009) analisando o tegumento de *Bauhinia monandra* Kurz – Caesalpinioideae, observaram a presença da linha lúcida, ou linha clara, descrevendo-a como uma região reforçada acima do meio das células, formando uma linha contínua, acompanhando toda a extensão do tegumento.

A presença de calose na linha lúcida de sementes de Fabaceae, tem sido referida na literatura, como em *Trifolium subterraneum* L. (Bhalla & Slaterry, 1984), *Sesbania punica* Cav. (Benth.) (Bevilacqua *et al.*, 1987), *Stylosanthes scabra* Vog. (Serrato-Valenti *et al.*, 1993), *Leucaena leucocephala* Lam. (De Wit) (Serrato-Valenti *et al.*, 1995) e *Glicine max* (L.) Merr. (Ma *et al.*, 2004). Bhalla & Slaterry (1984) sugerem que a calose atua como uma barreira do movimento da água para dentro das sementes, sendo responsável pela sua impermeabilidade. A calose é designada como um grupo de hemicelulose, no qual predominam ligações ricas em glucanos e o grau de polimerização pode afetar a sua característica de solubilidade (Bevilacqua *et al.*, 1987). Segundo os autores, do ponto de vista funcional, a calose é considerada como uma vedação ou um composto de ligação formado rapidamente em resposta ao estresse, ferimentos e outros estímulos, como a infecção por patógenos. A linha lúcida está presente na camada paliçádica de *C. leptophylla* e *S. macranthera*, com presença de calose, substância que é responsável pela impermeabilidade das sementes dessas duas espécies, além de distinguir duas regiões nas células que constituem a paliçada.

A ausência de lignina na camada paliçádica de sementes de Fabaceae foi relatada por vários autores, tais como Bevilacqua *et al.* (1987), para *Sesbania punicea* (Cav.) Benth., Serrato-Valenti *et al.* (1993), para *Stylosanthes scabra* Vog., Serrato-Valenti *et al.* (1995) para *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit e Souza (1982), para *Cassia cathartica* Mart.. Entretanto, Torres *et al.* (2009), para *Centrolobium robustum* (Vell.) Mart. ex Benth. e Krzyzanowski *et al.* (2008), para *Glicine max* (L.) Merrill, registraram presença de lignina na camada paliçádica. Em sementes de *C. leptophylla* e *S. macranthera*, a lignina também foi observada, porém, restrita à determinadas regiões das macrosclereídes, mais especificamente na porção superior cônica e na região basal da porção inferior.

As osteosclereídes frequentemente são denominadas de células em ampulheta (*hourglass*) devido a sua forma. Souza (1982) relata a ocorrência destas células, em sementes de *Cassia cathartica* Mart. (Caesalpinioideae), constituindo uma hipoderme, ausente na região hilar, e uma camada interna a um tecido parênquimático. Nas sementes das espécies aqui estudadas, isto também foi constatado, sendo que a ausência deste estrato de osteosclereídes constitui outra diferença entre a região hilar e extra-hilar. Melo-Pinna *et al.* (1999) também observou duas camadas de osteosclereídes intercaladas pelo parênquima em *Caesalpinia ferrea* Mart. ex. Tul., *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Senna martiana* (Benth.) Irwin & Barneby e *Senna spectabilis* (D.C.) Irwin &

Barneby (Caesalpinioideae), descrevendo-as como células colunares. Entretanto, Bitencourt *et al.* (2008) observaram osteoesclereídes presentes somente sob a camada paliçádica em sementes de *Senna occidentalis* (L.) Link (Caesalpinioideae) constatando que eram esclerificadas e entrelaçadas. As osteoesclereídes de *C. leptophylla* e *S. macranthera* apresentaram paredes celulares bastante espessadas, porém não foi detectada presença de lignina, o que também não foi detectado por nenhum dos autores citados.

Na região sub-hilar, sob a camada paliçádica, Corner (1951) comenta que, muitas vezes, encontra-se um tecido duro, compacto de 2-6 ou mais camadas de células, com paredes muito espessas, servindo como um suporte à contração da testa sobre a radícula, denominado esta região de mesofilo. Souza (1982), para *Cassia*, observou o mesmo tipo de tecido na região sub-hilar, denominando-o de parênquima esclerificado, acrescentando que este tecido apresenta um maior número de estratos celulares do que na região extra-hilar. Paula & Oliveira (2007) observaram na região sub-hilar em sementes maduras de três espécies de *Chamecrista* (Caesalpinioideae), que este tecido está formado por células justapostas, alongadas com paredes exibindo espessamentos em faixas transversais de aspecto espiralado, impregnados por substâncias pécticas. Na região extra-hilar Melo-Pinna *et al.* (1999) e Bitencourt *et al.* (2008) consideraram o tecido apenas como camada parenquimática, sendo que no primeiro estudo foi constatado que as células apresentavam paredes espessas e celulósicas, enquanto no segundo estudo foi registrada a presença de células com paredes delgadas. Borges & Mendonça (2009) verificaram que esse estrato apresenta células desuniformes de paredes ligeiramente espessas, com conteúdo resinífero de coloração marrom-avermelhado. Em *C. leptophylla* e *S. macranthera*, este tecido encontra uma distribuição similar ao relatado por Souza (1982), para outra espécie de Caesalpinioideae, ou seja, sob a camada paliçádica na região hilar, onde ocorre o maior número de camadas, e entre as duas camadas de osteoesclereídes na região extra-hilar, sendo mantida a denominação de parênquima esclerificado devido ao amplo espessamento das paredes celulares, apesar não ter sido detectada a presença de lignina, sendo apenas confirmada a presença de celulose e substâncias pécticas.

Células de paredes delgadas, quase imperceptíveis, resultantes da compressão devido ao desenvolvimento do embrião, são denominadas de células brancas e foram observadas, sob a camada paliçádica, em *Leucena leucochala* (Lam.) De Wit (Serrato-Valenti *et al.*, 1995) e *Stylosanthes hamata* (L.) Taub. (Castillo & Guenni, 2001). Oliveira *et*

al. (2007) constataram que a região extra-hilar das sementes de *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth., está constituída por camada paliçádica, células parenquimáticas e resquícios celulares do tégmen. Outros estudos com Fabaceae não mencionam a presença desta camada de células, tais como Souza (1982), Melo-Pinna *et al.* (1999) e Bitencourt *et al.* (2008). Este último autor comenta que o endosperma, na região extra-hilar de *Senna occidentalis* (L.) Link é reduzido a vestígios, sendo formado por células disformes, de parede delgada, constituindo massas mucilaginosas. Em *C. leptophylla* e *S. macranthera* células brancas foram observadas, porém abaixo do parênquima esclerificado, o que possivelmente corresponde ao tégmen, como observado por alguns autores. Além disto, nas duas espécies o endosperma apresentou-se distinto das células brancas, pois enquanto estas apresentavam-se achatadas radialmente e com paredes delgadas, aquelas mostravam formato irregular e paredes espessadas.

As estruturas dos tegumentos de *C. leptophylla* e *S. macranthera* seguem o padrão estrutural das sementes de Fabaceae, sendo uma adaptação das sementes, com a função de impedir que elas embebam e germinem até que tais estruturas sejam rompidas.

3. Entrada de água nas sementes

O estrofiolo tem sido relatado como local inicial de entrada de água em sementes de espécies arbóreas de florestas tropicais de Fabaceae com dormência física, após escarificação térmica para a quebra de dormência. Isto foi constatado em *Albizia lophanta* (Willd.) Benth. (Dell, 1980), *Sesbania punicea* (Cav.) Benth (Manning *et al.*, 1987), *Leucaena leucocephala* (Lam.) De Wit (Serrato-Valenti, 1995) e *Sesbania sesban* (L.) Merr. (Hu *et al.*, 2009). Baskin & Baskin (2000) esclarecem que, nas sementes de Fabaceae, após a quebra de dormência física, a água entra nas sementes através de uma abertura no estrofiolo.

Nos resultados obtidos no presente estudo isso foi confirmado apenas para *S. macranthera*, pois em *C. leptophylla* a entrada de água ocorreu através da micrópila. Além disso, ambas as espécies, após uma hora de imersão na solução corante, mostraram fissuras ao longo do tegumento, o que posteriormente também favoreceu uma maior infiltração.

Outros autores sugerem que o estrofiolo não é a única estrutura responsável pela entrada inicial de água, após a quebra da dormência. Rangaswamy & Nandakumar (1985) indicaram que o hilo e a micrópila

de *Rhynchosia minima* (L.) DC. são importantes estruturas para absorção de água. Bhattacharya & Saha (1990) demonstraram que a absorção de água e germinação de uma espécie de *Cassia* estavam correlacionadas com a natureza da abertura da micrópila e do estrofiolo. Estes dados foram confirmados para *C. leptophylla*, na qual a micrópila foi a estrutura de abertura inicial para a captação de água, após a quebra da dormência.

Barroso *et al.* (1999) salientam que o hilo é o tecido mais permeável da testa. Hu *et al.* (2008) observaram que a entrada de água em sementes de *Sophora alopecuroides* L., é através de uma rachadura no hilo, quando tratadas com ácido sulfúrico; porém, quando tratadas com água quente, a entrada de água ocorre através de rachaduras no hilo e na região extra-hilar e não no estrofiolo. Os autores acrescentaram ainda que, após 35 a 40 min. no ácido sulfúrico, ocorreu uma rachadura no estrofiolo, fazendo com que a embebição fosse mais rápida. Hu *et al.* (2009) verificaram resultados semelhantes em *Vigna oblongifolia* A. Rich. ou seja, rachaduras no hilo, em sementes tratadas com ácido sulfúrico, e rachaduras no hilo e na região extra-hilar, quando tratadas com água quente, fatos que possibilitaram a entrada de água nas sementes.

Os resultados aqui encontrados, mostrando a ocorrência de estruturas especiais para a entrada de água, são consistentes com a hipótese de que a quebra da dormência física em sementes não deve ocorrer ao acaso, mas sim em situações ambientais que promoveriam a quebra destas estruturas, embora este estudo não tenha conseguido esclarecer que fatores ambientais poderiam estar envolvidos. A alternância de temperatura seria o mais provável, dado ao ambiente das espécies, entretanto, os resultados aqui obtidos não identificaram que valores de temperaturas alternadas seriam eficientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdo, M.T.V.N. & Paula, R.C. 2006. Temperaturas para a germinação de sementes de Capixingui (*Croton fluribundus* – Spreng – Euphorbiaceae). **Revista brasileira de sementes** 28: 135-140.
- APG II, 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. **Botanical Journal of Linnean Society** 141: 399–436.
- Amaro, M.S., Filho, S.M., Guimarães, R.M. & Teófilo, E.M. 2006. Influência da temperatura e regime de luz na germinação de sementes de Janaguba (*Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel. **Ciência e Agrotecnologia** 30: 450-457.
- Andrade, M.A. 2003. **Árvores zoocóricas como núcleos de atração de avifauna e dispersão de sementes**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 91 p.
- Argel, P.J. & Paton, C.J. 1999. Overcoming legume hardseededness. *In*: Loch, D.S. & Ferguson, J.E. (Ed.) **Forage seed production: tropical and sub-tropical species**. Wallingford, CAB International. p. 247-265.
- Baskin, J.M., Baskin, C.C. & Li, X. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. **Plant Species Biology** 15: 139-152.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 2001. **Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. London, Academic Press. 666 p.
- Baskin, C.C. 2003. Breaking physical dormancy in seed – focusing on the lens. **New Phytologist** 158: 227-238.
- Baskin, J.M. & Baskin, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research** 14: 1-16.
- Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 2005. Seed dormancy in trees of climax tropical vegetation types. **Tropical Ecology** 46: 17-28.

- Barroso, G.M., Morim, M.P., Peixoto, A.L. & Ichaso, C.L.F. 1999. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledônea**. Viçosa, ed. UFV. 443 p.
- Bello, E.P.B.C., Albuquerque, M.C.F., Guimarães, S.C. & Mendonça, F. 2008. Germinação de sementes de *Amburana acreana* (Ducke) A.C. S.m. submetidas a diferentes condições de temperatura e de estresse hídrico. **Revista Brasileira de Sementes** 30: 16-24.
- Bevilacqua, L.R., Fossati, F. & Dondero, G. 1987. 'Callose' in the impermeable seed coat of *Sesbania punicea*. **Annals of Botany** 59: 335-341.
- Bessa, D.T.O., Mendonça, M.S. & Araújo, M.G.P. 2001. Morfo-anatomia de sementes de *Dipteryx odorata* (Aubl.) Will. Fabaceae como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região amazônica. **Acta Amazonica** 31: 357-364.
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. **Seeds: physiology of development and germination**. New York, Plenum Press. 445 p.
- Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. **Plant Cell** 9: 1055-1066.
- Bewley, J.D., Black, M. & Halmer, P. 2006. **The encyclopedia of seeds: science, technology and uses**. Wallingford, CAB International. 900 p.
- Bhalla, P.L. & Slaterry, H.D. 1984. Callose deposits make Clover seeds impermeable to water. **Annals of Botany** 53: 125-128.
- Bhattacharya, A. & Saha, P.K. 1990. Ultrastructure of seed coat and water uptake pattern of seeds during germination in *Cassia* sp. **Seed Science Technology** 18: 97-103.
- Bitencourt, G.A., Resende, U.M. & Favero, S. 2008. Descrição morfo-anatômica de sementes de *Senna occidentalis* (L.) Link. (Fabaceae-Caesalpinioidea) e *Phyllanthus niruri* L. (Euhorbiaceae) **Revista de Biologia e Farmácia** 3: 38-44.

- Borges, E.E.L. & Rena, A.B. 1993. Germinação de sementes. *In*: Aguiar, I.B., Piña-Rodrigues, F.C.M. & Figliolia, M.B. (Ed.) **Sementes florestais tropicais**. Brasília, Abrates. p. 83-135.
- Borges, F.I. & Mendonça, M.S. 2009. Morfo-anatomia da semente de *Bauhinia monandra* Kurz. (Leguminosae - Caesalpinioideae) **Revista Brasileira de Sementes** 31: 168-174.
- Brasil, 2009. **Regras para análise de sementes**. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria de Defesa Agropecuária. 395 p.
- Cardoso, V.J.M. 2004. Dormência: estabelecimento do processo. *In*: Ferreira, A.G. & Borghetti, F. (Ed.) **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre, ed. Artmed. p. 95-108.
- Carvalho, P.E.R. 2006. **Espécies arbóreas brasileiras**. V.2. Brasília, Embrapa. 627 p.
- Castillo, R. & Guenni, O. 2001. Latencia em semillas de *Stylosanthes hamata* (Leguminosae) y su relación com la morfologia de la cubierta seminal. **Revista de Biología Tropical** 49: 287-299.
- Corner, E.J.H. 1951. The leguminous seed. **Phytomorphology** 1: 117-150.
- Corner, E.J.H. 1976. **The seeds of dicotyledons**. Cambridge, Cambridge University Press. 311 p.
- Costa, A.F. 1982. **Farmacognosia**. V.3. 2ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032 p.
- Dell, B. 1980. Structure and function of the strophliolar plug in seeds of *Albizia lophanta*. **American Journal of Botany** 67: 556-563.
- Esau, K. 1997. **Anatomia das plantas com sementes**. São Paulo, ed. Edgard Blücher. 293 p.
- Eschiapati-Ferreira, M.S. & Perez, S.C.J.G.A. 1997. Tratamentos para superar a dormência de sementes de *Senna macranthera* (DC. ex.

- Collad.) Irwin & Barneby (Fabaceae-Caesalpinioideae) **Revista Brasileira de Sementes** 19: 230-236.
- Evert, R.F. 2006. **Esau's Plant Anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body - their structure, function, and development.** New Jersey, Wiley-Interscience. 601p.
- Fenner, M. & Thompson, K. 2005. **The ecology of seeds.** Cambridge, Cambridge University Press. 263 p.
- Ferreira, A.G. & Borghetti, F. 2004. **Germinação – do básico ao aplicado.** Porto Alegre, ed. Artmed. 324 p.
- Figliolia, M.B. 1982. Germinação de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel sob diversos tratamentos para quebra de dormência. **Silvicultura em São Paulo** 16: 901-907.
- Foley, M.E. 2001. Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. **Weed Science** 49: 305-317.
- Fowler, J.A.P. & Bianchetti, A. 2000. **Dormência em sementes florestais.** Colombo, Embrapa Florestas, documentos n. 40. 27 p.
- Gama-Aracchige, N.S., Baskin, J.M., Geneve, R.L. & Baskin, C.C. 2010. Identification and characterization of the water gap in physically dormant seeds of Geraniaceae, with special reference to *Geranium carolinianum*. **Annals of Botany** 105: 997-990.
- Gardner, R.H., Mankin, J.B. & Emanuel, W.R. 1980. A comparison of three carbon models. **Ecological Modelling** 8: 313-332.
- Gerlach, D. 1984. **Botanische mikrotechnik.** Stuttgart, ed. George Thieme Verlag. 311 p.
- Gunn, C.R. 1991. **Fruits and seeds of genera in the subfamily Caesalpinioideae (Fabaceae).** Springfield, United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Technical Bulletin n.1755. 408 p.

- Hendriks, C. & Graus, W. 2004. **Global carbon dioxide storage: potencial and cost**. Netherlands, Ecofys. 71 p.
- Hu, X.W., Wang, Y.R., Wu, Y.P., Nan, Z.B. & Baskin, C.C. 2008. Role of the lens in physical dormancy in seeds of *Sophora alopecuroides* L. (Fabaceae) from north-west China. **Australian Journal of Agricultural Research** 59: 491–497.
- Hu, X.W., Wang, Y.R., Wu, Y.P. & Baskin, C.C. 2009. Role of the lens in controlling water uptake in seeds of two Fabaceae (Papilionoideae) species treated with sulphuric acid and hot water **Seed Science Research** 19: 73–80.
- Jayasuriya, K.M.G.G., Baskin, J.M., Geneve, R.L. & Baskin, C.C. 2007. Morphology and anatomy of physical dormancy in *Ipomoea lacunosa*: identification of the water gap in seeds of Convolvulaceae (Solanales). **Annals of Botany** 100: 13–21.
- Klein, R.M. 1960. O aspecto dinâmico do pinheiro brasileiro. **Sellowia** 12: 17-44.
- Klein, R.M. 1979 . Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia** 31: 11-164.
- Kondo, T. & Takahashi, K. 2004. Breaking of physical dormancy and germination ecology for seeds of *Thermopsis lupinoides* Link. **Journal of the Japanese Society of Revegetation Technology** 30: 163-168.
- Kosera, C., Dittrich, V.A.O., Silva, S.M. 2006. Composição florística da Floresta Ombrófila Mista Montana do Parque Municipal Barigui, Curitiba, PR. **Floresta** 36: 45-58.
- Kraus, J.E. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica, ed. Universidade Rural do Rio de Janeiro. 194 p.
- Krzyzanowski, F.C., Neto, J.B.F., Mandarin, J.M.G. & Kaster, M. 2008. Evaluation of lignin content of soybean seed coat stored in a controlled environment. **Revista Brasileira de Sementes**. 30: 220-223.

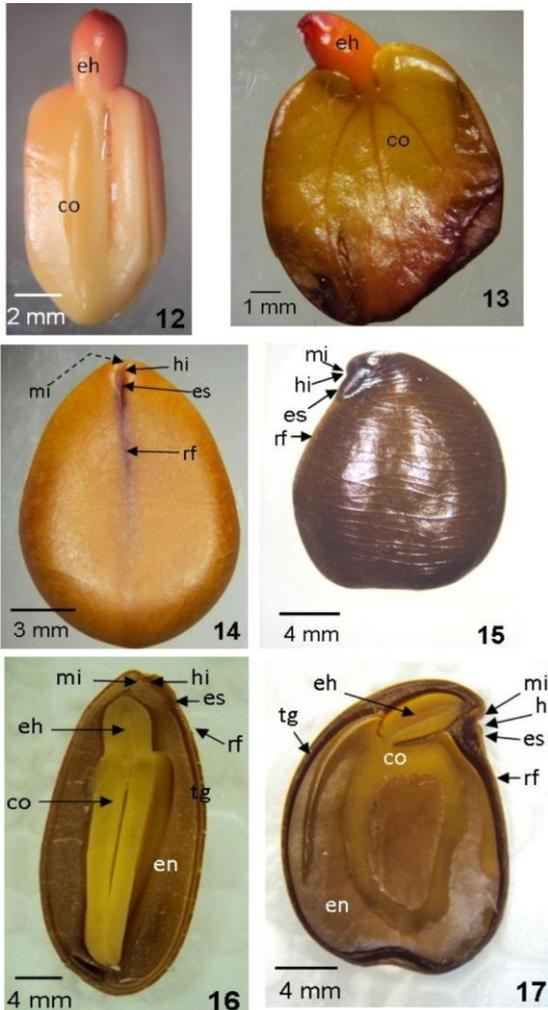
- Larcher, W. 2000. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, Ed. Rima Artes e Textos. 550 p.
- Lemos Filho, J.P., Guerra, S.T.M., Lovato, M.B. & Scotti, M.R.M.M.L. 1997. Germinação de sementes de *Senna macranthera*, *Senna multijuga* e *Stryphnodendron polyphyllum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 32: 357-361.
- Li, X., Baskin, J.M. & Baskin, C.C. 1999. Anatomy of two mechanisms of breaking physical dormancy by experimental treatments in seeds of two North American *Rhus* species (Anacardiaceae). **American Journal of Botany** 86: 1505–1511.
- Longhi, R.A., Marques, S.E. & Bissani, V. 1984. Época de colheita, tratamento de sementes e métodos de semeadura utilizados no viveiro florestal de Nova Prata. In: **Anais do Congresso Florestal Estadual de Nova Prata**. V.2. p. 533-553.
- Ma, F., Cholewa, E., Mohamed, T., Peterson C.A. & Jzen, M.J. 2004. Cracks in the Palisade Cuticle of Soybean Seed Coats Correlate with their Permeability to Water. **Annals of Botany** 94: 213–228.
- Manning, J.C. & Van Staden, J. 1987. The role of the lens in seed imbibition and seedling vigour of *Sesbania punicea* (Cav.) Benth. (Leguminosae: Papilionoideae). **Annals of Botany** 59: 705–713.
- Matzinger, S. 2006. **Pathways to a low-carbon economy for Brazil**. New York, McKinsey & Company. 46 p.
- Melo-Pinna, G.F.A., Neiva, M.S.M. & Barbosa, D.C.A. 1999. Estrutura do tegumento seminal de quatro espécies de Leguminosae (Caesalpinioideae), ocorrentes numa área de caatinga (PE – Brasil). **Revista Brasileira de Botânica** 22: 375-379.
- Moreno-Casasola P., Grime J.P., Martinez L. 1994. A comparative study of the effects of fluctuations in temperature and moisture supply on hard coat dormancy in seeds of coastal tropical legumes in Mexico. **Journal of Tropical Ecology** 10: 67-86.
- Morrison, D.A., McClay, K., Porter, C. & Rish, S. 1998. The role of the lens in controlling heat-induced breakdown of testa-imposed

- dormancy in native Australian legumes. **Annals of Botany** 82: 5-40.
- Nakamura, A.T. & Oliveira, D.M.T. 2005. Morfoanatomia e ontogênese da sâmara de *Pterocarpus violaceus* Vogel (Fabaceae: Faboideae). **Revista brasileira de Botânica** 28: 375-387.
- O'Brien, T.P., Feder, N. & McCully, M.E. 1965. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma** 59: 368-373.
- Oliveira, D.M.T. 2001. Morfologia comparada de plântulas e plantas jovens de leguminosas arbóreas nativas: espécies de Phaseoleae, Sophoreae, Swartzieae e Tephrosieae. **Revista brasileira de Botânica** 24: 85-97.
- Oliveira, D.M.T., Siqueira, A.C.N. & Nakamura, A.T. 2007. Anatomia e ontogênese da sâmara de *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth. (Leguminosae: Papilionoideae). **Rodriguésia** 58: 231-247.
- Paula, A.S. & Dunaiski, A. 2010. Levantamento florístico arbóreo do Bosque Alemão. **Acta Biológica Paranaense** 39: 61-69.
- Paula O.C., & Oliveira, D.M.T. 2007. Anatomia da região sub-hilar de sementes de três espécies de *Chamaecrista* Moench (Fabaceae: Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Biociências** 5: 345-347.
- Quinlivan, B.J. 1966. The relationship between temperature fluctuations and the softening of hard seeds of some legumes species. **Australian Journal of Agricultural Research** 17: 625-631.
- Rangaswamy, N.S. & Nandakumar, L. 1985. Correlative studies on seed coat structure, chemical composition, and impermeability in the legume *Rhynchosia minima*. **The Botanical Gazette** 146: 501-509.
- Roderjan, C.V., Galvão, F., Kuniyoshi, Y.S. & Hatscbach, G.G. 2002. As unidades fitogeográficas do Estado do Paraná. **Ciência e Ambiente** 1: 75-92.
- Ruzin, S.E. 1951. **Plant microtechnique & microscopy**. New York, Oxford University Press. 322 p.

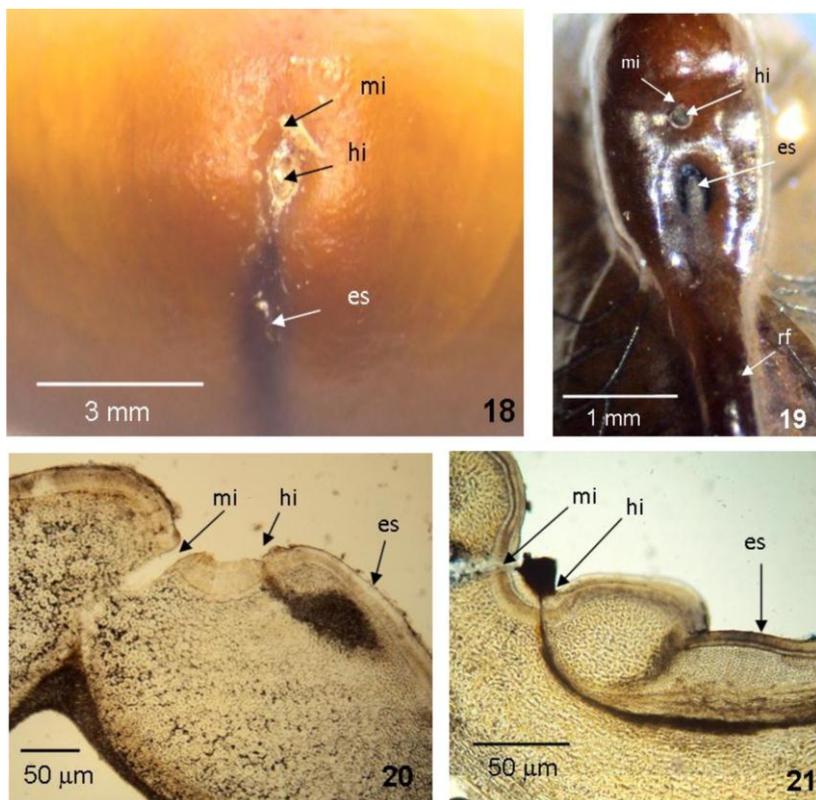
- Santarém, E.R. & Áquila, M.E.A. 1995. Influência de métodos de superação de dormência e do armazenamento na germinação de sementes de *Senna macranthera* (Colladon) Irwin & Barneby (Leguminosae). **Revista Brasileira de Sementes** 17: 205-209.
- Santos, S.R.G. & Aguiar, I.B. 2005. Efeito da temperatura na germinação de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Baillon) Smith & Downs separadas pela coloração do tegumento. **Scientia Florestalis** 69: 77-83.
- Schroeder, P. 2004. A carbon budget for Brazil: Influence of future land-use change. **Climatic Change** 33: 369-383.
- Serrato-Valenti, G., Cornara, L., Ferrando, M. & Modenesi, P. 1993. Structural and histochemical features of *Stylosanthes scabra* (Leguminosae; Papilionoideae) seed coat as related to water entry. **Canadian Journal of Botany** 71: 834-840.
- Serrato-Valenti, G., De Vries, M. & Cornara, L. 1995. The hilar region in *Leucaena leucocephala* Lam. (De Wit) Seed: Structure, histochemistry and the role of the lens in germination. **Annals of Botany** 75: 569-574.
- Silva, M.C. 2001. Efeito da temperatura na germinação de sementes de manduirana (*Senna macranthera* (DC. ex Collad.) Irwin & Barn. – Caesalpinioideae) **Revista Brasileira de Sementes** 23: 92-99.
- Silva, A., Figliolia, M.B. & Aguiar, I.B. 2007. Germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. (Monjoleiro) e de *Aspidosperma ramiflorum* Müll. Arg. (Guatambu). **Floresta** 37: 353-361.
- Smith, M., Wang, T., Ben, S.P. & Msanga, H.P. 2003. Dormancy and Germination. In: Vozzo, J.A. (Ed.) **Tropical Tree Seed Manual**. Washington, USDA Forest Service's/Reforestation, Nurseries and Genetics Resources. p. 149-176.
- Souza, L.A. 1982. Estrutura do tegumento das sementes de *Cassia cathartica* Mart. (Leguminosae) **Ciência e Cultura** 34: 71-74.

- Souza, T.V. 2010. **Dormência em sementes de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 71 p.
- Torres, I. C. 2008. **Presença e tipos de dormência em sementes de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 58 p.
- Torres, J.A.P., Santos, V.R., Schiavinato, M.A. & Maldonado, S. 2009. Biochemical, histochemical and ultrastructural characterization of *Centrolobium robustum* (Fabaceae) seeds. **Hoehe** 36: 149-160.
- Van Assche, J.A., Debucquoy, K.L.A. & Rommens, W.A.F. 2003. Seasonal cycles in the germination capacity of buried seeds of some Leguminosae (*Fabaceae*). **New Phytologist** 158: 315–323.
- Van Staden, J., Manning, J.C. & Kelly, K.M. 1989. Legumes seeds the structure: function equation. *In*: Stirton, C.H. & Zarucchi, J.L., (Ed.) **Advances in Legume Biology**. St. Louis, Missouri Botanical Garden. p. 417–450.
- Vásquez-Yanes, C. 1974. Studies on the germination of seeds of *Ochroma lagopus* Swartz. **Turrialba** 24: 176-179.
- Vásquez-Yanes, C. & Orozco-Segovia, A. 1982. Seed germination of a tropical rain forest pioneer tree (*Heliocarpus donnell-smithii*) in response to diurnal fluctuation of temperature. **Physiologia Plantarum** 56: 295-298.
- Vásquez-Yanes, C. & Janzen, D. 1988. Tropical forest ecology. **Montmorency Biology International** 18: 28-33.
- Villers, T.A. 1972. Seed Dormancy. *In*: Kozlowsky, T. T. (Ed.) **Seed Biology**. New York, Academic Press. p. 220-282.
- Zaidan, L.B.P. & Barbedo, C.J. 2004. Quebra da dormência em sementes. *In*: Ferreira, A.G. & Borghetti, F. (Ed.). **Germinação – do básico ao aplicado**. Porto Alegre, ed. Artmed. p. 135-146.

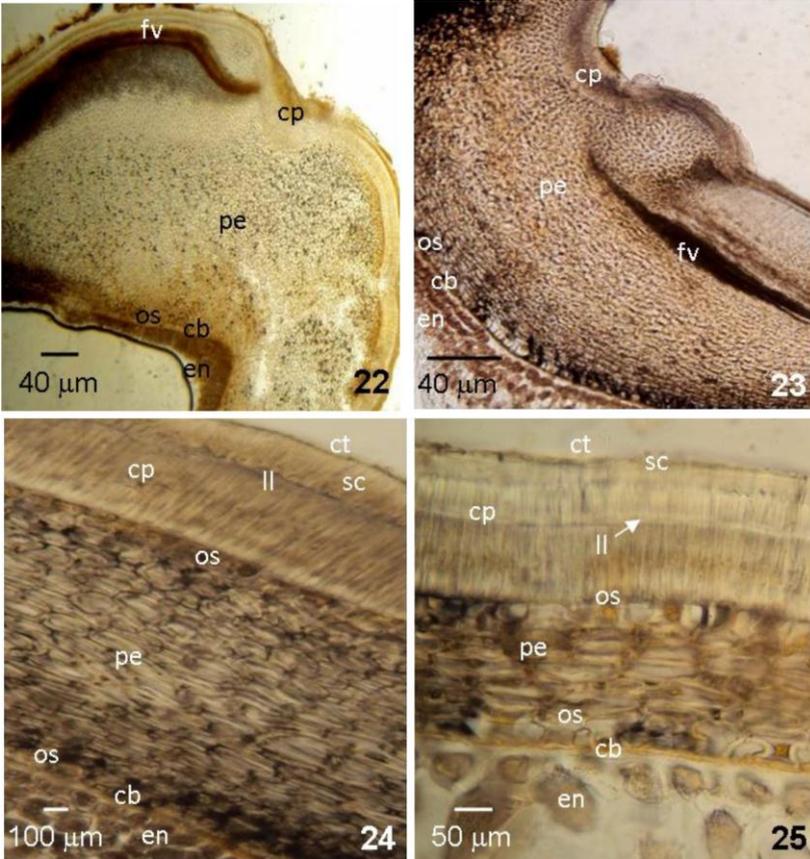
ILUSTRAÇÕES



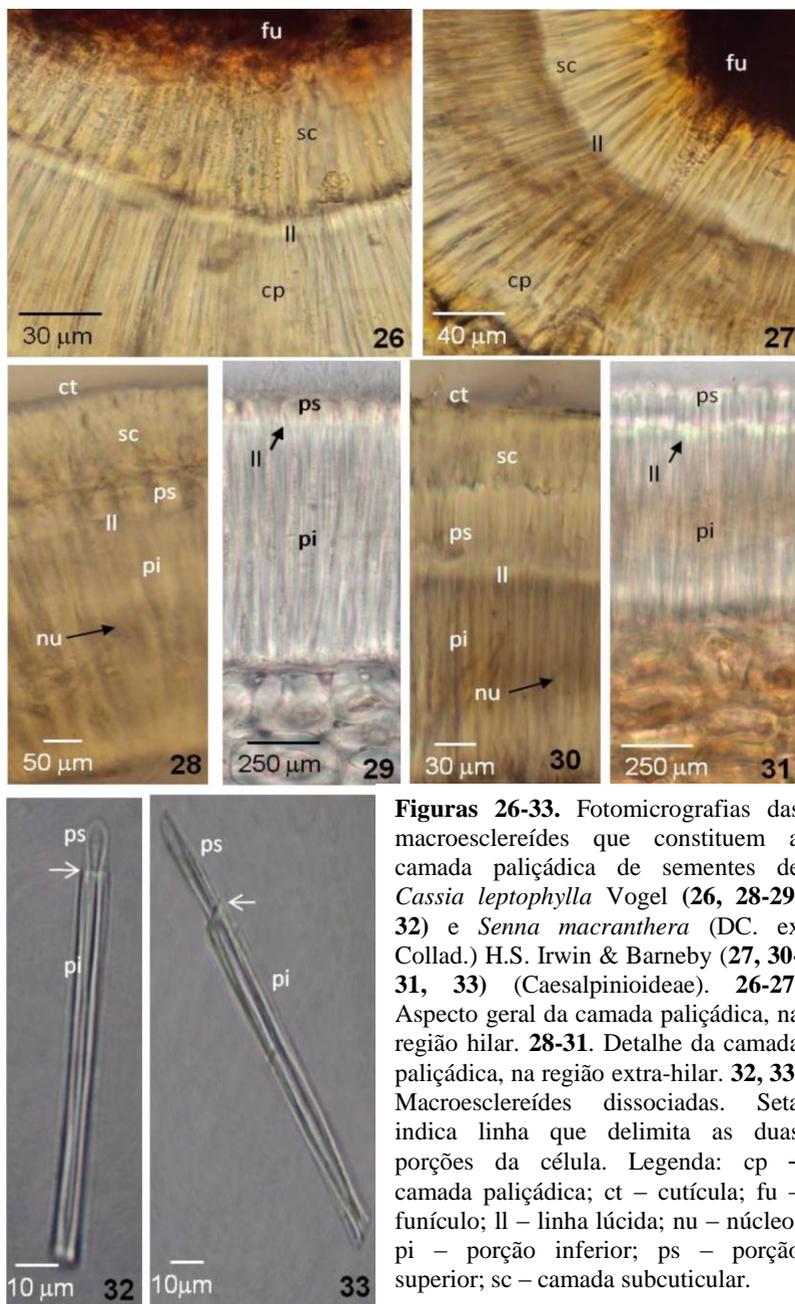
Figuras 12-17. Estruturas de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (12, 14, 16) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (13, 15, 17) (Caesalpinioideae) observadas em microscópio estereoscópico. 12-13. Embrões submetidos ao teste de tetrazólio. Coloração vermelha indica a viabilidade das sementes. 14-15. Vista externa da semente. 16-17. Vista interna da semente. Legenda: co – cotilédone; eh – eixo hipocótilo-radicular; en – endosperma; es – estrofiolo; hi – hilo; mi – micrópila; rf – rafe; tg - tegumento.

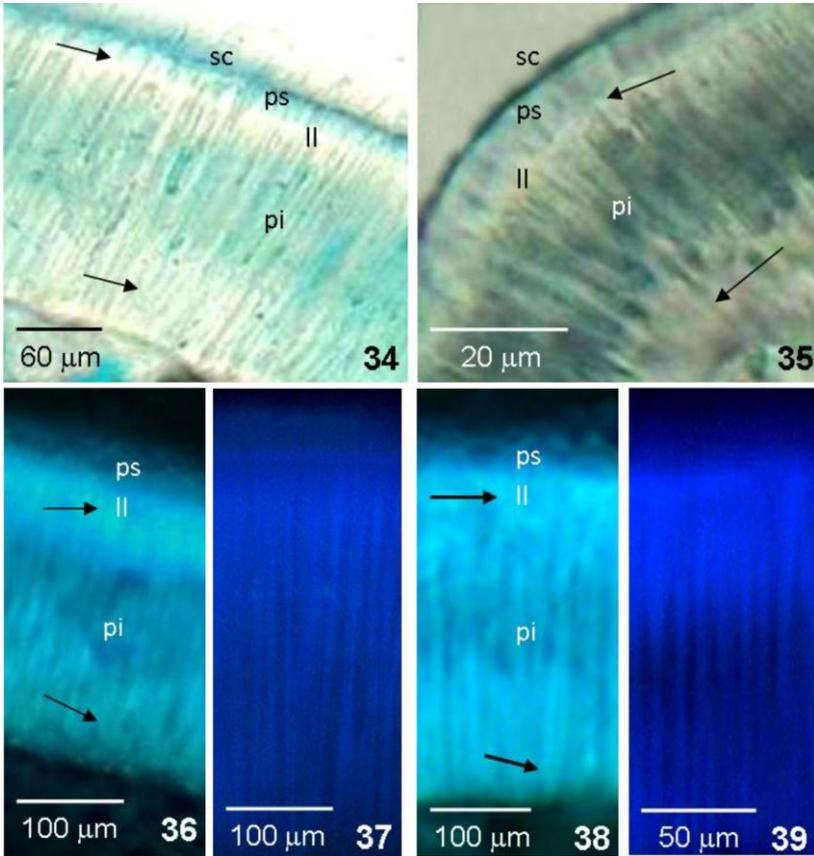


Figuras 18-21. Região hilar de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (18, 20) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (19, 21) (Caesalpinioideae). 18-19. Vista externa, em microscópio estereoscópico. 20-21. Secções longitudinais, em microscópio óptico. Legenda: es – estrofiolo; hi – hilo; mi – micrópila; rf – rafe.

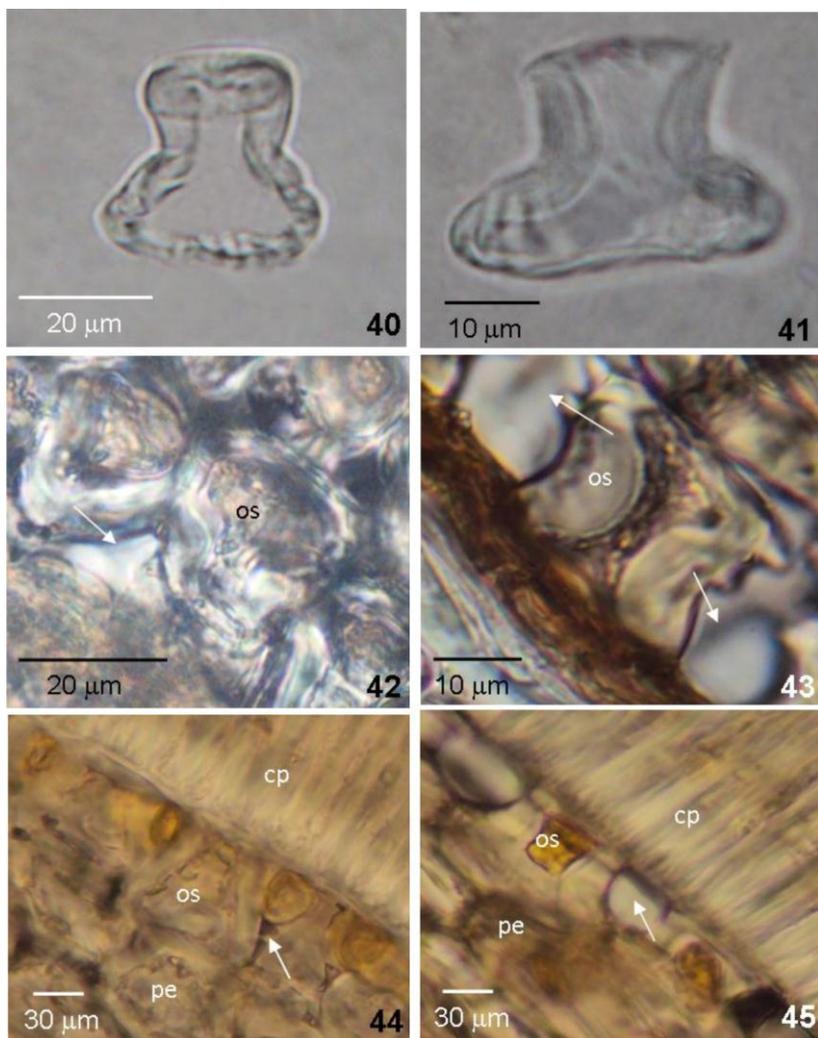


Figuras 22-25. Fotomicrografias de seções longitudinais dos tegumentos de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (**22, 24**) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (**23, 25**) (Caesalpinioideae). **22-23.** Região hilar. **24-25.** Região extra-hilar. Legenda: cb – células brancas; cp – camada paliádica; ct – cutícula; en – endosperma; fv – feixe vascular; ll – linha lúcida; os – osteoesclereídes; pe – parênquima esclerificado; sc – camada subcuticular.

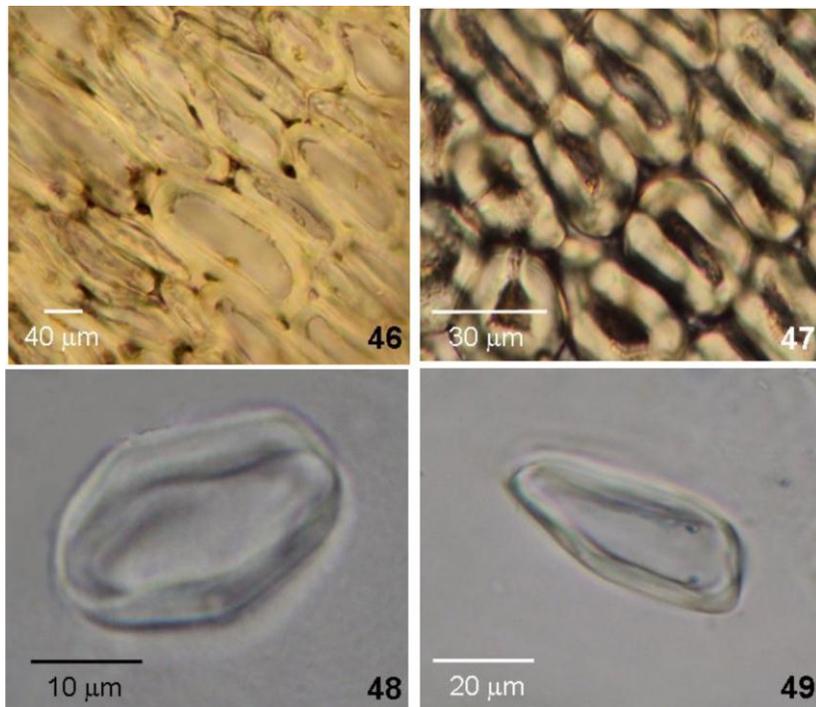




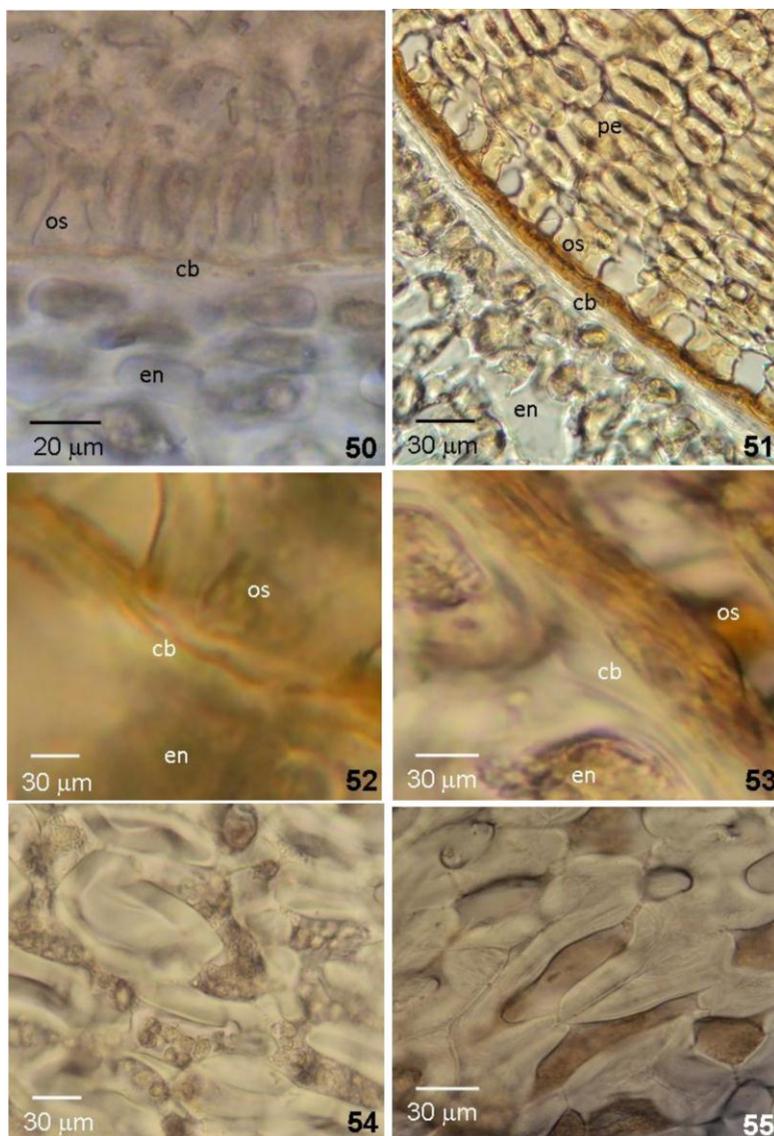
Figuras 34-39. Fotomicrografias de seções transversais com testes histoquímicos na camada paliçádica de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (34, 36-37) e *Senna macranthera* (DC ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (35, 38-39) (Caesalpinioideae). 34-35. Com uso de azul de toluidina, em microscopia óptica, a linha lúcida e a região basal da porção inferior das macroesclereídes, não mostraram reação (setas), enquanto o restante das macroesclereídes reagiram positivamente à presença de lignina (cor esverdeada). 36-39. Microscopia de epifluorescência. 36, 38. Com uso de azul de anilina, a linha lúcida e a região basal da porção inferior das macroesclereídes mostraram fluorescência, indicando a presença de calose. 37, 39. Controle, sem uso de reagente não ocorreu autofluorescência nas macroesclereídes. Legenda: cp – camada paliçádica; ll – linha lúcida; pi – porção inferior; ps – porção superior; sc – camada subcuticular.



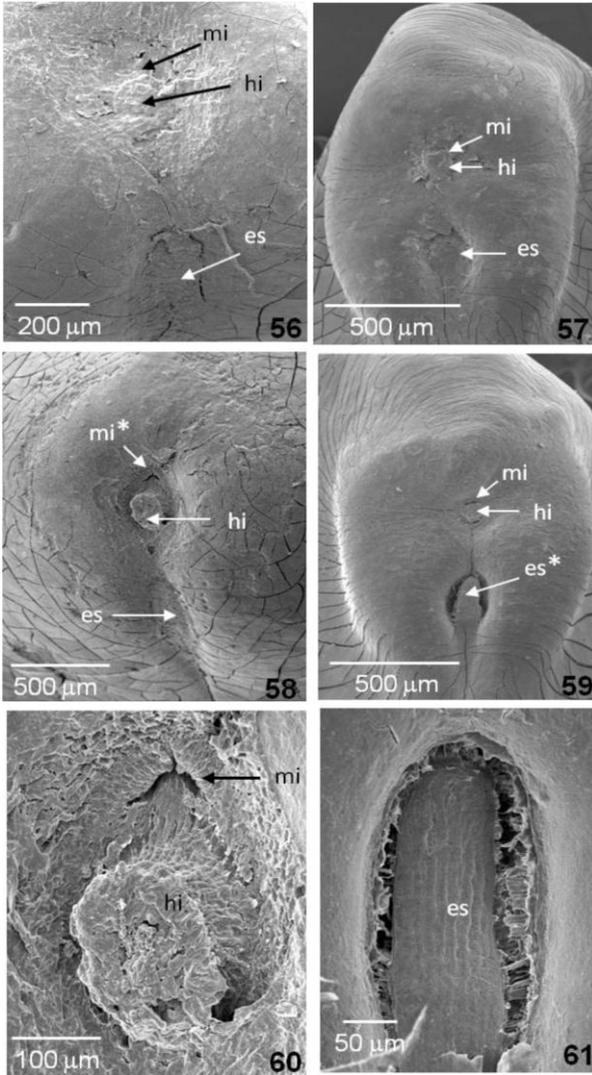
Figuras 40-45. Fotomicrografias evidenciando as osteoesclereídes (*hourglass*) de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (**40, 42, 44**) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (**41, 43, 45**) (Caesalpinioideae). **40-41.** Osteosclereídes dissociadas. **42-43.** Osteoesclereídes, na região hilar, localizadas internamente ao parênquima esclerificado. **44-45.** Secções longitudinais, na região extra-hilar, evidenciando as osteoesclereídes adjacentes à camada paliçádica. Legenda: cp - camada paliçádica; os - osteoesclereídes; pe - parênquima esclerificado; setas indicam espaços intercelulares.



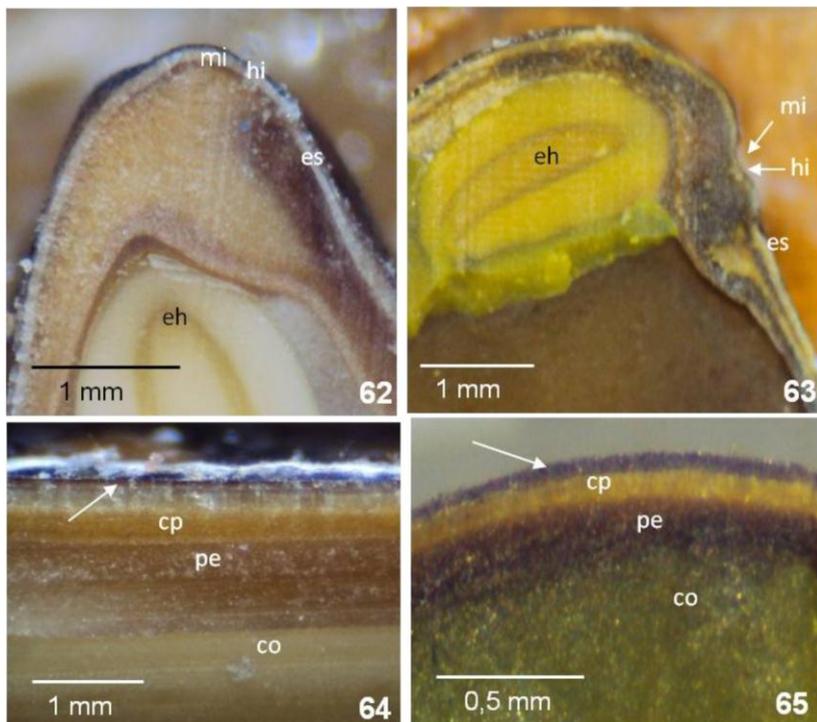
Figuras 46-49. Fotomicrografias de células do parênquima esclerificado de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (**46, 48**) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad) H.S. Irwin & Barneby (**47, 49**) (Caesalpinioideae). **46-47.** Aspecto geral do tecido. **48-49.** Detalhe das células dissociadas.



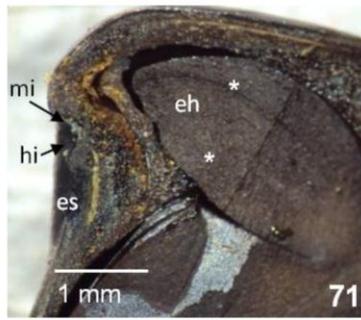
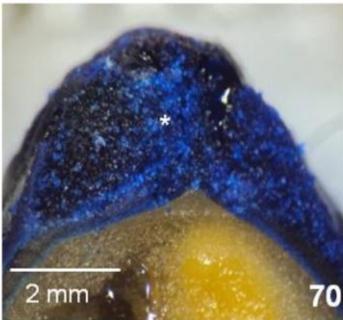
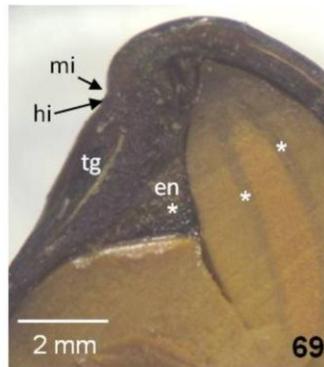
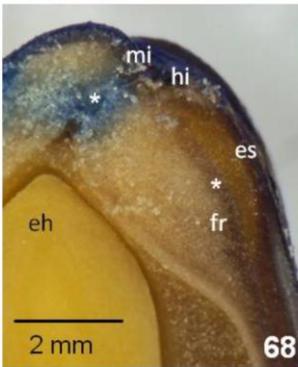
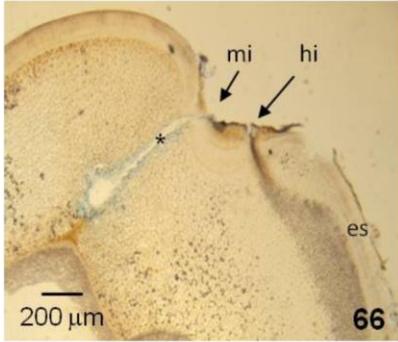
Figuras 50-55. Fotomicrografias de secções transversais de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (**50**, **52**, **54**) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (**51**, **53**, **55**) (Caesalpinioideae). **50-51.** Aspecto geral da região interna dos tegumentos e endosperma. **52-53.** Detalhe das células brancas. **54-55.** Detalhe das células do endosperma. Legenda: cb – células brancas; en – endosperma; pe – parênquima esclerificado; os – osteosclereídes.



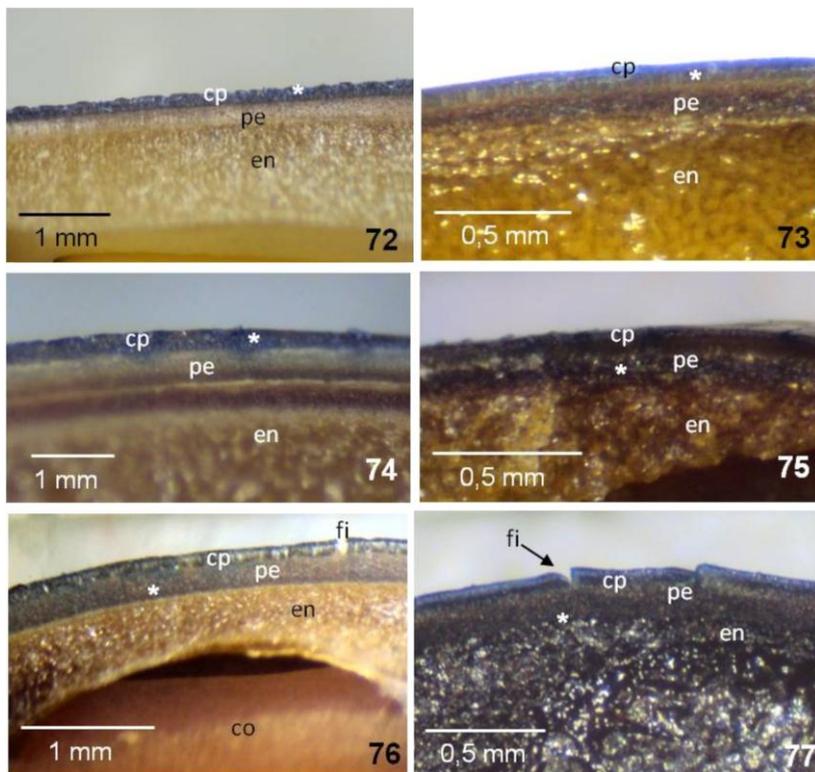
Figuras 56-61. Eletromicrografias de sementes de *Cassia leptophylla* Vogel (56, 58, 60) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (57, 59, 61) (Caesalpinioideae) evidenciando a região hilar. 56-57. Sem tratamento 58-59. Com tratamento de escarificação térmica observam-se alterações estruturais que possibilitam a entrada de água (*). 60. Detalhe evidenciando alterações na micrópila, possibilitando a entrada de água. 61. Detalhe do estrofiolo com contorno, mostrando rompimentos, possibilitando a entrada de água. Legenda: es- estrofiolo; hi- hilo; mi – micrópila.



Figuras 62-65. Secções longitudinais de sementes dormentes (sem tratamento) de *Cassia leptophylla* Vogel (**62, 64**) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H.S. Irwin & Barneby (**63, 65**) (Caesalpinoideae), observadas em microscópio estereoscópico após submetidas a embebição com azul de anilina. **62-63.** Região hilar e estruturas adjacentes aos tegumentos. **64-65.** Região extra-hilar e estruturas adjacentes aos tegumentos; azul de anilina corou a camada subcuticular (setas). Legenda: co – cotilédone; cp – camada paliçádica; eh – eixo hipocótilo-radicular; es – estrofiolo; hi – hilo; mi - micrópila; pe – parênquima esclerificado.



Figuras 66-71. Secções longitudinais de sementes não dormentes (com tratamento de escarificação térmica) de *Cassia leptophylla* Vogel (**66, 68, 70**) e *Senna macranthera* (DC. ex. Collad.) H.S. Irwin & Barneby (**67, 69, 71**) (Caesalpinioideae), observadas em microscopia óptica (**66**) e microscopia estereoscópica (**67-71**) mostrando a absorção de azul de anilina (*) na região hilar. **66-67.** Após 15 minutos de embebição no corante. **68-69.** Após 30 minutos de embebição. **70-71.** Após 1 hora de embebição. Legenda: eh – eixo hipocótilo-radicular; es – estrofiolo; fr – feixe vascular da rafe; hi – hilo; mi – micrópila; tg - tegumento.



Figuras 72-77. Seções longitudinais de sementes não dormentes (com tratamento de escarificação térmica) de *Cassia leptophylla* Vogel (**72, 74, 76**) e *Senna macranthera* (DC. ex Collad.) H. S. Irwin & Barneby (**73, 75, 77**) (Caesalpinioideae), em microscopia estereoscópica, mostrando absorção de azul de anilina (*) na região extra-hilar e estruturas adjacentes. **72-73.** Após 15 minutos de embebição no corante. **74-75.** Após 30 minutos de embebição. **76-77.** Após 1 hora de embebição. Legenda: co – cotilédone; cp – camada paliçádica; en – endosperma; fi – fissura; pe – parênquima esclerificado.