

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

**CAROLINA MARIA LUZIA DELGADO**

Estudo da quebra da dormência em sementes de  
*Sophora tomentosa* L. e *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae –  
Papilionoideae)

**Florianópolis, 2011**



**CAROLINA MARIA LUZIA DELGADO**

Estudo da quebra da dormência em sementes de  
*Sophora tomentosa* L. e *Erythrina speciosa* Andr.  
(Fabaceae – Papilionoideae)

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: Dra. Maria Terezinha Silveira Paulilo  
Co-orientadora: Dra. Marisa Santos

**Florianópolis, 2011**

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

D352e Delgado, Carolina Maria Luzia  
Estudo da quebra da dormência em sementes de *Sophora tomentosa* L. e *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae - Papilionoideae) [dissertação] / Carolina Maria Luzia Delgado ; orientadora, Maria Terezinha Silveira Paulilo, co-orientadora, Marisa Santos. - Florianópolis, SC, 2010.  
74 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. *Sophora*. 3. *Erythrina speciosa*. 4. Leguminosa. 5. Sementes - Dormência. 6. Sementes - Efeito da umidade. I. Paulilo, Maria Terezinha Silveira. II. Santos, Marisa. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. IV. Título.





## AGRADECIMENTOS

À minha mãe Maria Aparecida Delgado, o amor incondicional.

Aos meus irmãos Maria Eduarda Delgado e Marcelos Delgado Tuelher Dias.

Ao Francisco José Bittencourt Junior, meu namorado, o amor, dedicação, incentivo e ajuda em todas as etapas desse trabalho e da minha vida.

À minha orientadora Dra. Maria Terezinha Silveira Paulilo, a orientação, dedicação e paciência.

À professora Dra. Marisa Santos, sua orientação e dedicação em parte desta dissertação.

À professora Dra. Áurea Randi, as sugestões dadas para a realização desse trabalho.

À Vera Zapellini, secretária desta pós-graduação, sua sempre solícita ajuda.

Aos Laboratórios de Central de Microscopia da UFSC e Microscopia de Fluorescência da UFSC, a disponibilidade do uso de suas estruturas.

A todos os colegas de mestrado, os momentos que passamos juntos durante esses dois anos.

Aos colegas de laboratório de Fisiologia Vegetal, Alexandre de Paula e Thaysi Ventura de Souza, a colaboração neste trabalho.

Às Biólogas Chirle Ferreira e Eliana de Medeiros Oliveira, que conheci durante o período de mestrado e sempre estiveram dispostas a contribuir para a realização desse trabalho.

Ao Programa REUNI Capes, a bolsa de mestrado.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal a agradável convivência e conhecimento transmitidos durante o curso.



## RESUMO

A maioria das espécies de Fabaceae apresenta dormência física de sementes que se caracteriza pela resistência de entrada de água nas sementes. No presente estudo a dormência física de *Sophora tomentosa* L. e *Erythrina speciosa* Andr. da sub-família Papilionoideae foi avaliada quanto à quebra da dormência por temperatura alternada, quanto à estrutura do tegumento responsável pela impermeabilidade do tegumento e quanto a existência de estruturas especiais no tegumento para a entrada de água após a quebra da dormência. As sementes utilizadas foram coletadas no município de Florianópolis, SC. Os testes de germinação foram feitos em câmaras com temperatura e fotoperíodo controlados. A análise anatômica foi feita tanto em microscopia óptica, como em microscopia de varredura. A verificação do local de entrada de água em sementes escarificadas foi feita colocando-se sementes escarificadas para embeber em solução de anilina 1%. Testes histoquímicos foram feitos com sudan IV para suberina, óleos, ceras epicuticulares e cutina; com floroglucinol acidificado para lignina; com azul de toluidina, com reações policromáticas para lignina e para celulose. A detecção de calose no tegumento das sementes foi verificada utilizando corante azul de anilina a 0,05% e observação em microscópio com epifluorescência acoplado à câmera fotográfica e programa computacional de captura de imagens. Os resultados obtidos mostraram que a dormência de sementes não foi quebrada pelas temperaturas alternadas aplicadas. Cortes anatômicos do tegumento mostraram cutícula, camada paliçádica única na região extra-hilar e dupla na região hilar, tecido esclerenquimático na região hilar, substituído por osteosclereídes em formato de ampulheta na região extra-hilar, tecido esponjoso e células brancas. Na região hilar encontrou-se barra de traqueídes envoltas pelo tecido esponjoso. Em sementes que tiveram sua dormência quebrada através de água fervente foram observadas rachaduras na região do estroffolo, deixando as macroesclereídes dessa região expostas. A camada paliçádica mostrou presença de calose tanto na região hilar como na extra-hilar e lignina na região extra-hilar. Na região hilar, lignina foi encontrada na camada contra paliçádica. Em sementes de *S. tomentosa* ainda foram observadas rachaduras na região hilar e em sementes de *E. speciosa* uma leve abertura na fissura hilar. O

primeiro local de entrada de água em sementes escarificadas por água fervente foi o estrofíolo, verificada após 30 min de embebição em solução de anilina. Estes resultados parecem indicar que o estrofíolo destas espécies estaria relacionado com a entrada de água em sementes das espécies estudadas.

**Palavras-chave:** Alternância de temperatura, dormência física, estrofíolo, Papilionoideae.

## ABSTRACT

Most of the species of Fabaceae presents physical dormancy of seeds that is characterized by the resistance of entrance of water in the seeds. In the present study the physical dormancy of *Sophora tomentosa* L. and *Erythrina speciosa* Andr., sub-family Papilionoideae, was analysed in relation to the break of the dormancy by alternate temperature, in relation to the structure of the responsible tegument for the impermeability of the tegument and in relation to the existence of special structures in the tegument for the entrance of water after the break of the dormancy. The seeds were collected in the district of Florianópolis, SC. The germination tests were under controlled temperature and photoperiod. The anatomical analysis was made in optical microscopy and in scanning electron microscopy. The verification of the place of entrance of water in seeds was made through the imbibition of scarified seeds in solution of 1% anilina blue. Histochemical tests were made with sudan IV for suberina, oils, waxes and cutina; with acidified floroglucinol for lignin; with toluidina blue for lignin and cellulose. To verify the presence of callose in the seeds, sections of the hilar and extrahilar regions were immersed in 0.05% aniline blue with a 0.1 M potassium phosphate buffer. The sections were observed using microscope with a mercury vapor lamp and a blue epifluorescence filter. Images were taken with digital camera and a software for images capture. The obtained results showed that the dormancy of seeds was not broken by the applied temperatures. Anatomical cuts of the tegument showed cuticle, palissade layer, that was couple in the extrahilar region, sclerenchimatic tissue, that was substituted by osteosclereídes in extrahilar region, spongy tissue and white cells. In the hilar region, below the counter palissade layer was the tracheid bar surrounded by the spongy tissue. In scarified seed by boiling water cracks were observed in the lens region, exposing the macrosclereids of that palissade layer. Presence of calose was observed in the palissade layer both of the hilar and extrahilar region. Lignin was present in the palissade layer of the extrahilar region and in the counter palissade of the hilar region. In seeds of *S. tomentosa* cracks were observed in the hilar region and in seeds of *E. speciosa* a light opening in the fissure hilar was observed. The first place of entrance of water in scarified seeds was the lens, verified after 30 min of immersion of the seeds in aniline solution. These results seem to indicate that the lens of

these species would be related with the water entrante in the seeds of the studied species.

Key words: alternating temperatures, physical dormancy, lens, Papilionoideae

## SUMÁRIO

<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>VII</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>XI</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>OBJETIVOS GERAIS .....</b>	<b>19</b>
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
1. MATERIAL VEGETAL .....	20
2. DESINFECÇÃO DAS SEMENTES E DE MATERIAIS UTILIZADOS PARA A GERMINAÇÃO .....	20
3. CONDIÇÕES DE GERMINAÇÃO.....	20
4. VERIFICAÇÃO DA DORMÊNCIA FÍSICA EM SEMENTES .....	21
5. ESCARIFICAÇÃO TÉRMICA .....	21
6. VERIFICAÇÃO DA QUEBRA DE DORMÊNCIA POR TEMPERATURAS ALTERNADAS .....	21
7. VERIFICAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES .....	22
8. ESTUDO DA MORFOLOGIA DA SEMENTE E ANÁLISE DOS TEGUMENTOS .....	22
10. OBSERVAÇÃO DO CAMINHO PERCORRIDO PELA ÁGUA.....	23
11. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	24
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>25</b>
1. VERIFICAÇÃO DA DORMÊNCIA FÍSICA EM SEMENTES .....	25
3. VERIFICAÇÃO DA QUEBRA DE DORMÊNCIA POR TEMPERATURAS ALTERNADAS .....	27
4. VERIFICAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES.....	34
5.1. Anatomia das sementes <i>Sophora tomentosa</i> .....	35
5.2. Entrada de água nas sementes <i>Sophora tomentosa</i> .....	37
5.3. Anatomia das sementes de <i>Erythrina speciosa</i> .....	38
5.3. Entrada de água nas sementes de <i>Erythrina speciosa</i> .....	40
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
1. DORMÊNCIA EM SEMENTES DE <i>SOPHORA TOMENTOSA</i> E <i>ERYTRINA SPECIOSA</i> .....	41
2. QUEBRA DA DORMÊNCIA FÍSICA POR ALTERNÂNCIA DE TEMPERATURA .....	43
3. ANATOMIA DE <i>SOPHORA TOMENTOSA</i> E <i>ERYTHRINA SPECIOSA</i> .....	45
4. ENTRADA DE ÁGUA NAS SEMENTES.....	50
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>52</b>

**ILUSTRAÇÕES ..... 62**

## INTRODUÇÃO

Uma semente intacta e viável é considerada dormente quando é incapaz de germinar sob condições favoráveis à germinação, 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 (Black *et al.* 2006). Fenner & Thompsom (2005) afirmam que a função primordial da dormência é prevenir a germinação quando as condições ambientais são favoráveis à germinação, mas desfavoráveis à sobrevivência e ao crescimento da plântula. O impedimento da germinação estabelecido pela dormência, também se constitui numa estratégia benéfica, para que a germinação se distribua ao longo do tempo, aumentando a probabilidade de sobrevivência daquela espécie (Fenner & Tompsom 2005, Black *et al.* 2006).

Baskin & Baskin (2005) observam que em florestas tropicais pluviais, a ocorrência de espécies com dormência de sementes é alta, atingindo cerca de 40% ou mais de espécies arbóreas. Torres (2008) em um levantamento de dados feito com 60 espécies da Floresta Ombrófila Densa observou que 58% das espécies apresentavam dormência física, 35% apresentaram dormência fisiológica e 7% apresentaram dormência física e fisiológica.

Baskin & Baskin (2001) classificam os tipos de dormência de acordo com os fatores que a acarretam em fisiológica, morfológica, morfofisiológica, física e dormência combinada (física juntamente com fisiológica).

Dormência fisiológica é aquela em que a presença de substâncias inibidoras ou ausência de substâncias promotoras da germinação impedem que a germinação ocorra e é o tipo mais comum de dormência tanto em florestas temperadas, como tropicais, (Sautu *et al.* 2007). A dormência morfofisiológica é aquela em que existe uma combinação do tipo morfológico com o fisiológico, onde as sementes possuem embrião com o desenvolvimento incompleto e algum tipo de bloqueio fisiológico; a dormência morfológica consiste em um embrião não totalmente desenvolvido, quando ocorre a dispersão. A dormência física é caracterizada pela impermeabilidade do tegumento da semente a

água e/ou a gases. A dormência física pode estar associada à dormência fisiológica onde o tegumento da semente é impermeável e o embrião é fisiologicamente dormente (Baskin & Baskin 2001).

A dormência física, objeto deste trabalho, ocorre somente em 17 famílias das angiospermas, sendo uma família pertencente às monocotiledôneas (Cannaceae) e 16 às dicotiledôneas (Baskin & Baskin 2000). A maioria das espécies de Fabaceae apresenta dormência física (Morrison *et al.* 1998; Baskin & Baskin 2001; Smith *et al.* 2003).

A resistência à entrada de água nas sementes está associada a uma camada de células paliçádicas justapostas com paredes secundárias grossas no tegumento (Baskin & Baskin 2001), com também à presença de substâncias com propriedades hidrofóbicas como lignina, polissacarídeos, pectinas e calose (Castillo & Guenni 2001). Estruturas do tegumento como o estrofíolo em Fabaceae, a calaza em Malvaceae, a micrópila carpelar em Anacardiaceae, o hilo *Stylosanthes hamata* (L.) Taub (Papilionoideae) permitem a entrada de água quando nessas estruturas se surge uma abertura para entrada de água (Morrison *et al.* 1998, Baskin & Baskin 2001, Castillo & Guenni 2001, Perez 2004).

De acordo com Baskin & Baskin (2001), embora seja possível superar a dormência física de sementes por abrasão do tegumento em laboratório, ainda não existem evidências de que a abrasão do tegumento pela ação de animais através da passagem das sementes pelo trato digestivo ou pelo pisoteio sejam os principais mecanismos na natureza para superar a dormência física. Também Fenner & Thompson (2005) acreditam que sendo a dormência de sementes uma adaptação para aumentar a chance da germinação em circunstâncias que resultem numa maior probabilidade de sobrevivência e reprodução, ela deve ser quebrada por mudanças específicas no ambiente e não por processos casuais e imprevisíveis, como a atividade de microrganismos ou a abrasão por partículas do solo. Essa idéia é ainda reforçada pela existência de estruturas especializadas para a entrada de água em espécies com dormência física (Baskin & Baskin 2001, Fenner & Thompson 2005). Corroborando estas hipóteses, várias sementes com dormência física requerem alternância de temperatura para germinar (Malavasi 1988, Figliolia *et al.* 1993, Baskin & Baskin (2001 Souza 2010).

A semente é originada do óvulo após a fecundação, sendo os tegumentos do óvulo transformados em coberturas da semente, onde o tegumento externo origina a testa e o tegumento interno forma o tégmen, que em muitos casos é absorvido; a base da semente é o ponto em que ela tem o funículo preso à parede do ovário, o qual está indicado

pelo hilo (Barroso *et al.* 2004). A morfologia do óvulo pode variar dependendo da forma do saco embrionário e do posicionamento da micrópila, funículo e calaza, podendo ser classificados em diversos tipos, tais como ortótropo, anátropo e campilótropo (Beltrati & Paoli 2006). O óvulo anátropo é invertido devido ao crescimento intercalar do funículo que determina a curvatura de 180°, mas o nucelo e o saco embrionário não se curvam e a micrópila fica voltada para a placenta; o óvulo campilótropo curva-se, porém a calaza e micrópila não ficam opostas e o saco embrionário sofre uma leve curvatura (Beltrati & Paoli 2006). Corner (1976) cita que Fabaceae tem óvulos anátropos ou mais ou menos campilótropos.

Na superfície do tegumento de sementes de Fabaceae podem ser observadas a cicatriz da micrópila do óvulo, a rafe, que é parte do hilo que permanece unida ao tegumento, em óvulos anátropos ou campilótropos e o hilo, que é a cicatriz deixada pelo funículo quando a semente se desprende do fruto (Barroso *et al.* 2004, Beltrati & Paoli 2006). Serrato Valenti *et. al* (1995), Baskin & Baskin (2000), Castillo & Guenni (2001), Souza (2010) ainda descrevem que na superfície dessas sementes pode existir uma outra estrutura, o estrofiolo, o qual também pode ser chamado de lente (Souza & Marcos-Filho 2001). O estrofiolo é a área mais fraca do tegumento que circunda a semente, funcionando, quando se rompe, como o ponto de entrada de água em sementes com impermeabilidade de tegumento (Baskin & Baskin 2000, Baskin 2003). Corner (1951) destaca, como características típicas de Papilionoideae, a presença de hilo relativamente grande, com fissura mediana e uma barra de traqueídes no tecido sub-hilar, duplicação da paliçada sobre o hilo, suprimento vascular sem extensões pós-calazais e rafe mais curta que a anti-rafe, sendo a semente derivada de óvulo campilótropo. A barra de traqueídes corresponde a um grupo compacto de traqueídes, na região do hilo das sementes desta família (Hyde 1954; Esau 1976; Castillo & Guenni 2001; Oliveira *et al.* 2007). Segundo Esau (1976), em sementes de Papilionoideae, a camada mais externa do tegumento, a epiderme, permanece unisseriada e é constituída por macrosclereídes que formam a camada paliçádica; na região do hilo, esta camada é biestratificada, sendo o estrato mais externo originado do funículo. Corner (1976) refere que as sementes de Fabaceae são exotestais por apresentarem uma camada paliçádica rígida como epiderme externa que constitui a testa. A camada subepidérmica, conforme Esau (1976), é constituída de células colunares, denominadas ampulhetas ou osteosclereídes.

*Sophora tomentosa* L. (Fabacea-Papilionoideae), conhecida popularmente como feijão de praia, é uma espécie característica de

restinga herbácea ou sub-arbustiva (Bresolin (1979). Este tipo de restinga ocorre em praias e dunas frontais e é constituída predominantemente por plantas herbáceas geralmente providas de estolões ou rizomas, com distribuição geralmente esparsa ou formando touceiras, podendo compreender vegetação lenhosa, com subarbustos em densos agrupamentos, fixando e cobrindo totalmente o solo; recebendo maior influência da salinidade marinha, através de ondas e respingos levados pelo vento (BRASIL 1999). Segundo Bechara (2003), no Brasil a ocorrência de *S. tomentosa* vai do Nordeste até o Sul do Brasil, sendo a dispersão das sementes autocórica e hidrocórica (tanto o fruto inteiro como as sementes podem flutuar na água do mar). Nogueira & Arruda (2006), observaram que na maioria das vezes *S. tomentosa* forma touceiras e seus frutos são formados na primavera e outono, sendo que os formados na primavera possuem um amadurecimento mais rápido, de 6 a 10 semanas, pois seu crescimento e amadurecimento ocorrem durante a primavera e verão, enquanto que os frutos formados no outono levam de 8 a 15 semanas para amadurecerem. As mesmas autoras ainda relatam que a frutificação começa logo após o início do período de floração e se estende até o início da floração seguinte. Duarte (2004) recomenda *S. tormentosa* para o enriquecimento e reabilitação de áreas degradadas em restingas. A ocorrência de dormência nesta espécie é controversa, havendo trabalhos na relatando a presença de dormência (Algren 2009), enquanto outros não a descrevem para a espécie (Santos *et al.* 2001).

*Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae-Papilionoideae), conhecida popularmente como mulungu-do-litoral e eritrina-candelabro, é uma planta decídua, heliófita, pioneira, seletiva higrófila, característica da floresta pluvial de restinga, podendo ocorrer na floresta ombrófila densa, principalmente nas formações abertas secundárias (Lorenzi 2002). Apresenta dispersão uniforme, com moderada freqüência; produzindo anualmente grande quantidade de sementes viáveis; floresce entre os meses de junho e setembro com a planta totalmente destituída de folhagem, seus frutos amadurecem entre outubro e novembro (Lorenzi 2002). Segundo Klein (1969) é uma espécie nativa da Ilha de Florianópolis, tendo afinidade por solos úmidos e parcialmente encharcados, bem como banhados. A semente apresenta dormência (Carvalho *et al.* 1980; Floriano 2004; Koszo *et al.* 2007).

Neste trabalho foram utilizadas as duas espécies acima citadas para o estudo da quebra da dormência física em suas sementes, bem como a verificação da existência de uma estrutura especial de entrada de água após a quebra da dormência em sementes

## OBJETIVOS GERAIS

Esse trabalho tem como objetivo a avaliação da influência da alternância de temperatura passível de ocorrer na natureza na quebra de dormência em sementes de *Sophora tomentosa* e *Erythrina speciosa*, bem como a análise da estrutura anatômica responsável pela entrada de água na semente, após a quebra da dormência por escarificação térmica.

### Objetivos específicos

Verificar mudanças morfológicas na região hilar das sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa* que possam ocorrer durante a quebra de dormência após a escarificação térmica;

Verificar a estrutura anatômica do tegumento;

Verificar o caminho da água percorrido no interior da semente de *S. tomentosa* e *E. speciosa* após a quebra da dormência.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1. Material vegetal**

Em todos os experimentos, à exceção daqueles que compararam a capacidade germinativa de sementes de diferentes populações de *Sophora tomentosa* L., foram utilizadas sementes de *S. tomentosa* coletadas em julho de 2009 na praia da Daniela no município de Florianópolis, SC. As sementes de *Erythrina speciosa* Andr. utilizadas foram coletadas em novembro de 2009 e 2010 no campus da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para comparação entre a capacidade germinativa de sementes de diferentes populações de *S. tomentosa* foram utilizadas sementes da espécie coletadas em julho de 2009 na praia da Daniela e em fevereiro de 2010, nas praias do Campeche e Ingleses, município de Florianópolis, SC.

### **2. Desinfecção das sementes e de materiais utilizados para a germinação**

As sementes utilizadas foram desinfetadas durante cinco minutos em solução de hipoclorito de sódio a 10% e após esse período foram lavadas em água destilada por cinco minutos (Oliveira 2001). As caixas de polietileno tipo gerbox foram esterilizadas colocando-as por vinte minutos em solução aquosa de hipoclorito de sódio a 20% e depois lavadas em água destilada durante cinco minutos (Oliveira 2001).

### **3. Condições de germinação**

Sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa* foram colocadas para germinar em caixa tipo gerbox pretas ou transparentes, com duas folhas de papel filtro ou areia lavada, umedecidas com solução de Benlat® 0,02%. O regime de luz e temperatura variou de acordo com os experimentos feitos. As avaliações de germinação foram realizadas a cada dois dias, sob luz de segurança verde quando germinadas no escuro. Foram consideradas germinadas as sementes que emitiram radícula.

#### 4. Verificação da dormência física em sementes

Para a verificação da dormência, sementes intactas de *E. speciosa* e *S. tomentosa* foram colocadas para germinar a 25°C e 35°C em escuro constante. Para comparação entre a capacidade germinativa de sementes de diferentes populações de *S. tomentosa* a temperatura utilizada foi de 30°C/20°C. Foram feitas quatro repetições para as temperaturas testadas, sendo utilizadas 25 sementes em cada repetição.

Para a verificação se a dormência apresentada era física foram pesados três lotes de 10 sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa* os quais foram colocados individualmente para embeber em béqueres com água e pesados a cada 24h durante dois dias. Os béqueres com as sementes foram deixados em bancada de laboratório em temperatura ambiente.

#### 5. Escarificação térmica

Num experimento preliminar para definir o tempo em que a semente deveria permanecer em água fervente para ocorrer a escarificação térmica, sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa*, foram colocadas em água fervente por 2min, 3min, 5min, 7min, 10min e 15min, sendo a seguir transferidas para béquer com água e observado-se a ocorrência de embebição das sementes. Foi assim 5 minutos em água fervente para escarificação térmica de *S. tomentosa* e 15 minutos para *E. speciosa*.

#### 6. Verificação da quebra de dormência por temperaturas alternadas

Sementes intactas das duas espécies foram colocadas em gerbox, transparentes com 200 ml de areia lavada e autoclavada, umedecida com água destilada e transferidas para câmaras de germinação com temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C, 30°C e 35°C e temperaturas alternadas de 30°C/20°C, 25°C/15°C e 30°C/15°C, submetidas a fotoperíodo de 12h e 25/35°C luz/escuro, submetidas a fotoperíodo 6h para 35°C e 18h para 25°C. O experimento foi mantido por um período de 40 dias.

Paralelamente ao experimento de temperatura 30/15°C luz/escuro e constante de 15°C e 30°C com fotoperíodo de 12h, foi feito um experimento com sementes escarificadas mecanicamente com auxílio de um bisturi para *S. tomentosa* e *E. speciosa*.

## **7. Verificação da viabilidade de sementes**

Após os experimentos de germinação, as sementes que não germinaram foram submetidas ao teste de tetrazólio. Estas sementes tiveram o tegumento escarificado manualmente com auxílio de bisturi. Em seguida, as sementes foram acondicionadas em tubos de ensaio com solução de 2, 3,5 - trifenil cloreto de tetrazólio) 0,5% e mantidas no escuro por 24h à temperatura constante de 25 °C (Brasil 2009). A leitura dos resultados foi realizada após 24h, seccionando-se longitudinalmente as sementes com uma lâmina de barbear e observando-se sob em microscópio estereoscópico Leica modelo EZ4D a coloração do embrião e endosperma. Foi feita uma amostragem de 20 sementes de cada tratamento para cada temperatura testada.

## **8. Estudo da morfologia da semente e análise dos tegumentos**

A morfologia externa da semente foi analisada através de microscópio estereoscópico, de luz e de varredura.

Para análise do tegumento de sementes não escarificadas, em microscopia de luz, as sementes foram seccionadas ao meio transversalmente e as partes com a região hilar foram fixas em blocos de madeira com Super Bonder. Secções transversais de 40µm destas partes foram feitas em micrótomo de deslize Micron HM400. As secções foram montadas entre lâmina e lamínula, com água, e levadas para observação em microscópio Leica MPS 30 DMLS.

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, colocada em frasco contendo uma mistura de peróxido de hidrogênio e ácido acético glacial 1:1 (v/v) e deixada em estufa a 60°C, por 48 horas. As amostras foram, então, centrifugadas e a seguir o material foi lavado com água destilada, por três vezes; e o sobrenadante retirado com pipeta Pasteur após a decantação das partículas sólidas (células). O material foi coletado com pipeta Pasteur, e colocado sobre lâminas, com água, sendo coberto com lamínula e observado no mesmo microscópio referido acima.

Para detecção de calose no tegumento das sementes foi utilizado procedimento conforme Ruzin (1951). As secções da região hilar e extra-hilar obtidas em microtomia, foram coradas com azul de anilina a 0,05 %, com tampão de fosfato de potássio 0,1 M e pH 8,3, por

2 horas ou mais. Essas amostras foram observadas em microscópio Olympus modelo BX41 com epifluorescência em filtro de cor azul (UMWU2) com excitação de 330 – 385nm e emissão de 420nm, que conforme fabricante é indicado para corante azul de anilina, com sistema de iluminação de vapor de mercúrio (HBO 100); e em filtro vermelho com excitação de 510 à 550nm e emissão de 590nm indicada para lignina. As imagens foram obtidas através de câmera de captura acoplada ao microscópio com imagem digital colorida, 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.

Para estudos em microscópio eletrônico de varredura, cinco sementes de cada espécie tiveram sua dormência quebrada por escarificação térmica, e cinco sementes intactas foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2, por 2 horas. Em seguida, as amostras foram lavadas por três vezes no mesmo tampão e desidratadas em série etílica gradual até etanol 100°GL. As amostras foram secas, conforme procedimento de Horridge (1969), em ponto crítico de CO<sub>2</sub> Leica EM CDP 300. As amostras secas foram colocadas sobre suportes de alumínio, com auxílio de fita carbono dupla face, e cobertas com 20nm de ouro, em metalizador Leica modelo EM SCD 500. A análise e documentação foram efetivadas em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6390 LV.

## **9. Detecção da natureza química dos componentes estruturais**

Para detecção da natureza química dos componentes estruturais e possíveis conteúdos foram utilizados: sudan IV para suberina, óleos, ceras epicuticulares e cutina (Costa, 1982); floroglucinol acidificado para lignina (Costa, 1982); azul de toluidina, com reações policromáticas para lignina (azul esverdeado) e para celulose (avermelhado púrpuro) (O'Brien *et al.*, 1965). A análise e captura de imagens com câmara digital Sony foi realizada em microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS.

## **10. Observação do caminho percorrido pela água**

Para se verificar por onde entra a água nas sementes foi realizado experimento conforme Jayasuriya *et al.* (2007). Vinte sementes de cada espécie foram submetidas à escarificação térmica, e vinte sementes não escarificadas (controle) foram imersas em uma solução (aquosa) de

anilina azul a 1%, retirando-se duas sementes após 15min, 30min e 1h. A partir de 1h foram sendo retiradas sementes de 1h em 1h, até que fosse possível visualizar o caminho percorrido pela água. Na sequência foram feitas secções transversais e longitudinais, à mão livre e em micrótomo de deslize Micron HM400 (40 µm), na região hilar, para identificar o caminho percorrido pela solução. As secções foram montadas entre lâmina e lamínula, com água e analisadas em microscópio estereoscópico Leica, modelo EZ4D e microscópio óptico Leica MPS 30 DMLS, com imagens capturadas com câmara digital Sony.

## **11. Análise estatística**

Para a análise estatística dos dados de germinação foi usado o programa BioEstat 5.0, utilizando ANOVA seguida do teste de Tukey para separação de médias. Foram utilizadas 4 repetições de 25 sementes para *E. speciosa*, e de 15 sementes para *S. tomentosa*, devido a menor quantidade de sementes desta espécie.

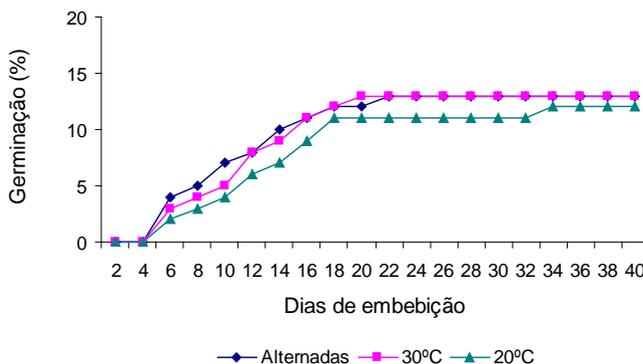
## RESULTADOS

### 1. Verificação da dormência física em sementes

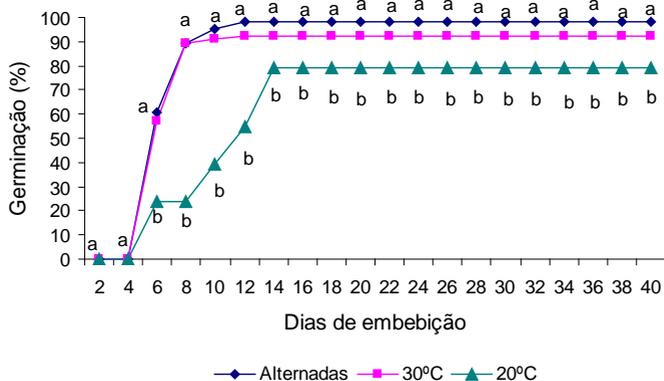
Sementes intactas de *Sophora tomentosa* submetidas ao escuro constante apresentaram 5% de germinação e as de *Erythrina speciosa* não germinaram. Foi observado também que as sementes colocadas para embeber por 48 h apresentaram o mesmo peso inicial, antes da colocação em água, mostrando que a água não penetrou na semente, indicando dormência física de semente para ambas as espécies.

### 2. Comparação da germinação de sementes de diferentes populações

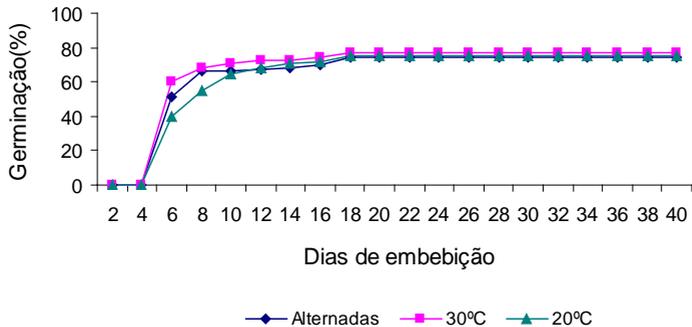
Quando comparada a germinação de sementes intactas de *S. tomentosa* coletadas em três áreas do município de Florianópolis (praia da Daniela, praia do Campeche e praia do Ingleses), observou-se que as sementes provenientes da Daniela apresentaram germinação ao redor de 15%, nas temperaturas testadas (Fig 1), enquanto as sementes provenientes de Ingleses (Fig.2) e Campeche (Fig.3) apresentaram alta porcentagem de germinação nas temperaturas testadas, acima de 70%.



**Fig. 1** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae), provenientes da população da praia da Daniela coletadas em 2009, incubadas em fotoperíodo de 12h, a 20°C, 30°C e 20°C/30°C. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as temperaturas testadas.



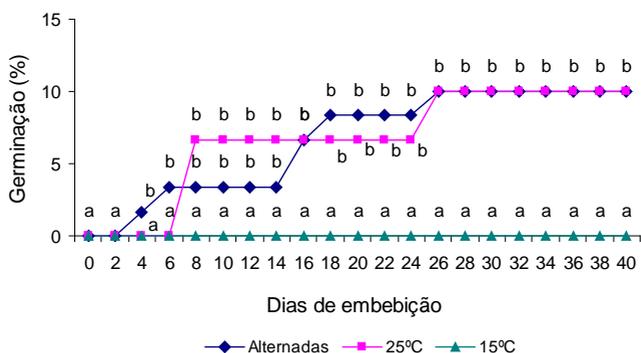
**Fig. 2** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae), provenientes da população da praia dos Ingleses, incubadas em fotoperíodo de 12h, a 20°C, 30°C e 20°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.



**Fig. 3** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae), proveniente da população da praia do Campeche, incubadas a 20°C, 30°C e 20°C/30°C. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as temperaturas testadas.

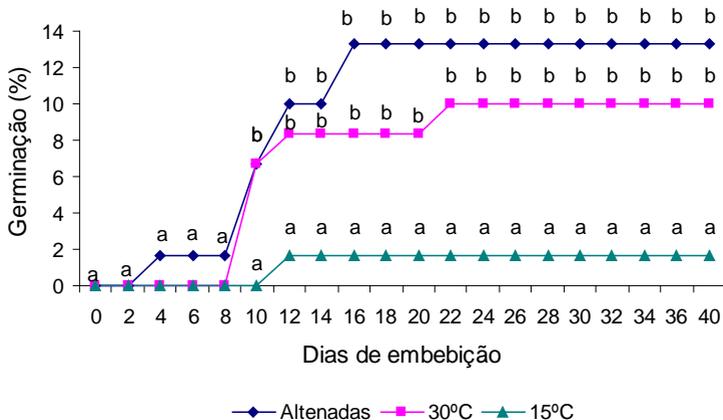
### 3. Verificação da quebra de dormência por temperaturas alternadas

As figuras 1 e as de 4 a 7 mostram os resultados de germinação em temperaturas alternadas, onde foram variadas tanto as temperaturas mínima e máxima como a amplitude de variação da temperatura. Observa-se pela figura 1 que em temperatura mínima de 20° e máxima de 30°C, bem como na alternância destas temperaturas, a germinação foi baixa, ao redor dos 10%. Em temperatura mínima de 15°, máxima de 25° e alternada de 15°C/25°C (fig. 4), observou-se também germinação ao redor de 10%.



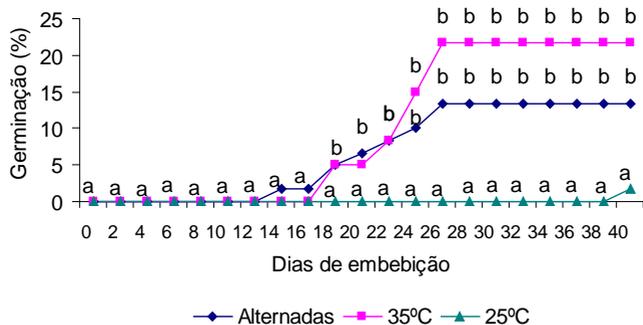
**Fig. 4** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae), provenientes da população da praia da Daniela coletadas em 2009, incubadas em fotoperíodo de 12h, a 15°C, 25°C e 15°C /25°C. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Para as sementes submetidas às temperaturas constantes de 15° e 30°C e alternada 15/30°C, amplitude de variação de 15°C, também observou-se baixa germinação, sendo de 13,33% em temperatura alternada e de 10% em temperatura constante de 30°C, apresentando diferença estatisticamente significativas apenas em relação à germinação em temperatura constante de 15°C, a qual foi de 1,66% (Fig. 5).



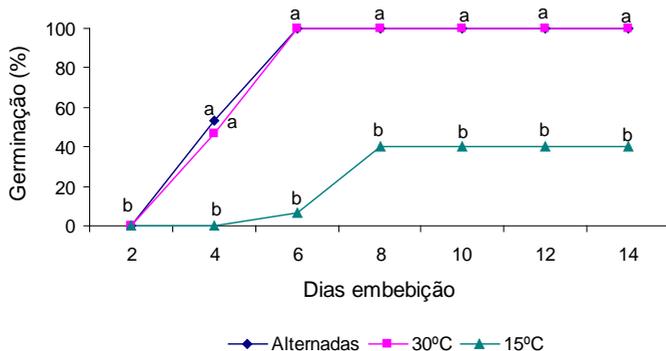
**Fig. 5** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae) provenientes da população da praia da Daniela coletadas em 2009 incubadas a 30°C, 15°C e sob temperatura alternada de 15°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Quando foram aumentados os limites inferior e superior de temperatura para 25° e 35°C, mantendo a amplitude de variação de 10°C, observou-se também uma baixa germinação, sendo a a germinação a 35°C e a 25°C/35°C de 23,33% e 13,33%, respectivamente, diferindo apenas da germinação a 25°C que foi de 1,66 % (Fig 6).



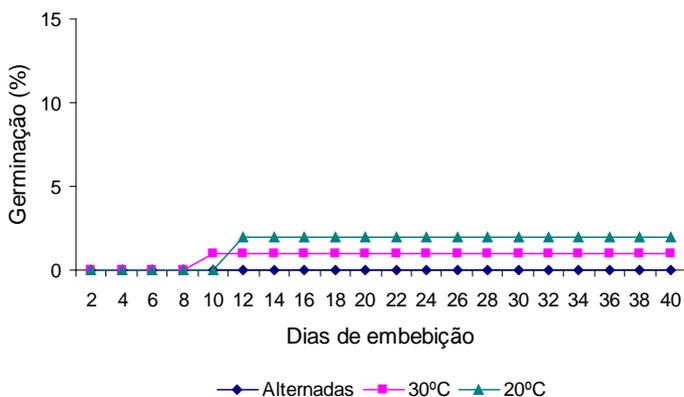
**Fig. 6** Curvas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae–Papilionoideae), provenientes da população da praia da Daniela, coletadas em 2009 incubadas em fotoperíodo de 12h para 25°C e 35°C; e fotoperíodo 6h para 35°C e 18h em temperatura alternada 25°C/35°C. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Sementes de *S. tomentosa* escarificadas durante 15 minutos em água fervente apresentaram 100% de germinação na temperatura de 30°C e no par de alternância 15°C/30°C (Fig. 6). Apresentaram máxima germinação após seis dias de embebição, porém houve inibição e retardo da germinação na temperatura de 15°C, uma vez que a germinação atingiu o máximo após 8 dias (Fig. 7).



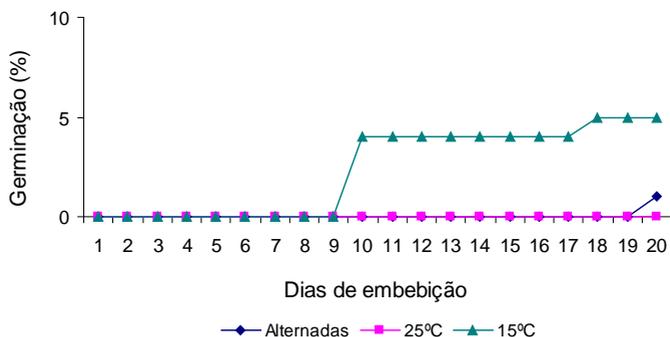
**Fig. 7.** Curvas de germinação de sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae–Papilionoideae) escarificadas mecanicamente, provenientes da população da Daniela coletadas em 2009, incubadas em fotoperíodo de 12h, a 15°C, 30°C e 15°C /30°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Para as sementes de *Erythrina speciosa*, após 40 dias de embebição, com fotoperíodo de 12h, submetidas às temperaturas constantes de 20°, 30°C e alternadas de 20/30°C, observou-se uma baixa germinação. As temperaturas alternadas de 20°C/30°C não proporcionaram aumento estatisticamente significativo de germinação em relação as temperaturas constantes, onde 2% das sementes germinaram à temperatura de 20°C e 1% à temperatura de 30°C (Fig. 8).



**Fig. 8** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Erytrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae) incubadas a 20°C, 30°C e 20°C/30°C. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as temperaturas testadas.

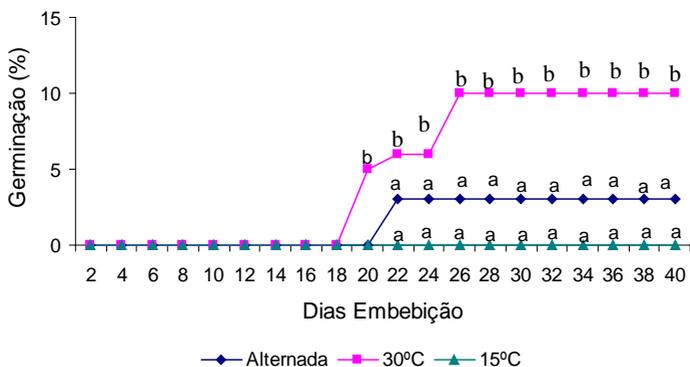
Para as sementes submetidas às temperaturas constantes de 15° e 25°C e alternadas de 15/25°C com fotoperíodo de 12h, observou-se baixa germinação, sendo de 1% e 5% para a temperatura alternadas de 15°C/25°C e constante de 25°C, respectivamente, não ocorrendo germinação a 15°C (Fig.9).



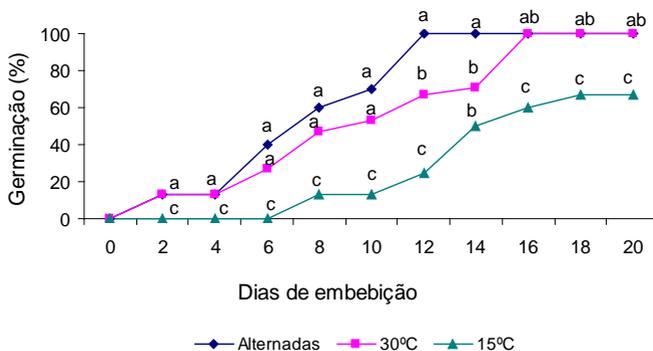
**Fig. 9** – Curvas de germinação de sementes intactas de *Erytrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae), incubadas a 15°C, 25°C e 15°C/25°C. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as temperaturas testadas.

Para as sementes submetidas às temperaturas constantes de 15° e 30°C e alternadas de 15°C/30°C com fotoperíodo de 12h, também observou-se uma baixa germinação, sendo a maior germinação (10%) a 30°C, diferindo significativamente da germinação em temperatura alternada de 15°C/30°C (3%) e constante de 15°C, na qual não houve germinação (Fig.10).

Em sementes escarificadas de *E. speciosa* houve 100% de germinação nas temperaturas alternadas de 15°C/30°C e constante de 30°C, alcançando esta porcentagem após 12 e 16 dias de embebição, respectivamente. Na temperatura de 15°C constante, o máximo de germinação alcançado foi de 60% aos 18 dias de embebição (Fig. 11).

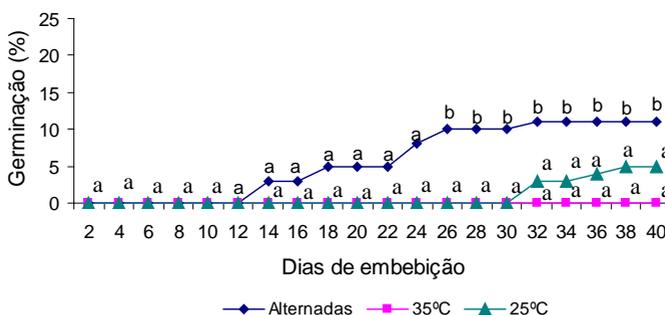


**Fig.10** – Curvas de germinação de sementes de intactas *Erythrina speciosa* Andr (Fabaceae – Papilionoideae), incubadas a 15°C, 30°C e 15°C/30°C. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.



**Fig.11** – Curvas de germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae) escarificadas mecanicamente, incubadas em fotoperíodo de 12h, a 15°C, 30°C e 15°C/30°C. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

Para as sementes submetidas às temperaturas constantes de 25° e 35°C e alternada de 35/25°C, com fotoperíodo de 6/18h, também observou-se uma baixa germinação. As sementes submetidas a 35°C constante morreram, não havendo nenhuma germinação para essa temperatura. Para a temperatura alternada de 25/35°C e constante de 25°C a germinação foi de 11% e 5 % respectivamente (Fig 12).



**Fig. 12** – Curvas de germinação de sementes de intactas *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae), incubadas a 25°C, 35°C e 25°C/35°C. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos pelo teste Tukey ao nível de 5%.

A tabela 1 mostra a germinação máxima de sementes intactas de *S. tomentosa* e *E. speciosa* nos vários regimes de temperatura aplicados. Observa-se que no limite inferior de temperatura testado, de 15°C, não houve nenhuma semente germinada para ambas as espécies, à exceção de 1,66% em um dos experimentos para *S. tomentosa*. No limite superior de temperatura, 35°C, houve germinação de sementes de *S. tomentosa*, mas não de *E. speciosa*. As alternâncias de temperaturas estudadas não favoreceram a germinação das espécies estudadas.

**Tabela 1-** Efeito de diferentes temperaturas nas porcentagens máximas de germinação de sementes intactas de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae) e *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae)

Temperaturas (°C)	<i>Sophora tomentosa</i>	<i>Erythrina speciosa</i>
	% Germinação	
20/30	18 ns	3 ns
30	13 ns	2 ns
20	9 ns	1 ns
25/15	10 b	1 ns
25	8,33 b	5 ns
15	0 a	0 ns
15/30	13,33 b	3 a
30	10 b	10 b
15	1,66 a	0 a
25/35	13,33 b	11b
35	23,33 b	0 a
25	1,66 a	5 a

ns- não houve diferença estatisticamente significativa

#### 4.Verificação da viabilidade de sementes

Sementes de *S. tomentosa* e *E.speciosa*, que não germinaram nas temperaturas testadas, foram submetidas ao teste do 2, 3,5 - trifenil cloreto de tetrazólio, observou-se que as sementes estavam vivas, pois apresentaram coloração característica, indicando respiração celular.

## 5. Anatomia da semente e local de entrada de água

### 5.1. Anatomia das sementes *Sophora tomentosa*

Na base das sementes de *Sophora tomentosa* (Fig. 13-14) distinguem-se a região hilar constituída por hilo, micrópila e o estrofiolo. O hilo mostra uma fissura mediana (Fig. 15); remanescentes do funículo mantêm-se aderidos ao hilo em algumas sementes. Nas sementes maduras desta espécie, o endosperma está ausente e o embrião (Fig. 16) apresenta cotilédones bem desenvolvidos. O estrofiolo caracteriza-se, externamente, por ser uma área em depressão (Fig. 13, 15) e mais internamente pela presença de um feixe vascular (Fig. 16-18), o qual penetra na semente através do hilo e segue em sentido oposto à micrópila.

A testa é constituída, de fora para dentro, por camada paliçádica, tecido esclerenquimático (região hilar) ou osteosclereídes (região extra-hilar), barra de traqueídes (somente na região hilar) e tecido esponjoso.

A camada paliçádica constitui o tecido mais externo da testa, apresentado apenas um estrato na região extra-hilar (Fig. 19-23), porém mostra dois estratos na região hilar, pois nesta região ocorre uma contrapaliçada externa a camada paliçádica propriamente dita (Fig. 24-26). Sob a camada paliçádica, na região hilar, através de secção longitudinal, observou-se a presença de tecido esclerenquimático o qual apresenta-se com três a quatro camadas celulares entre a região da micrópila e estrofiolo, porém mostra-se mais volumoso nas regiões laterais de transição entre região hilar e extra-hilar (Fig. 24), determinando as saliências formadas na parte externa da semente, próximas à micrópila e estrofiolo (Fig. 13, 16-18). Este tecido apresenta-se compacto, constituído por células com paredes espessadas (Fig. 26). As células alteram o formato, sendo mais isodiamétricas sob a dupla paliçada (Fig. 26) e alongando-se um pouco no sentido tangencial, na região do estrofiolo. Conforme vai se afastando da região do estrofiolo e da micrópila, esse tecido tende a desaparecer, sendo substituído por um único estrato celular, constituído por osteosclereídes (Fig. 19-21), que irão circundar toda a região extra-hilar da semente, sob a camada paliçádica. As osteosclereídes (*hourglass*, formato de ampulheta ou osso) são células alongadas perpendicularmente à superfície da semente, com extremidades dilatadas e uma constrição mediana, a qual determina conspícuos espaços intercelulares. Na região de transição entre tecido

esclerenquimático e osteoesclereídes, estas células não mostram o formato típico (Fig. 23). Reações histoquímicas com azul de toluidina e floroglucinol acidificado, não revelaram presença de lignina nas osteoesclereídes.

As macroesclereídes da camada paliçádica e da contrapaliçada, são células alongadas (Fig. 27), com paredes espessadas e dispostas compactamente tanto na camada paliçádica única da região extra-hilar (Fig. 23), quanto na dupla paliçada da região hilar (Fig. 25-28). Na porção superior das macroesclereídes, observou-se através de secção longitudinal (Fig. 25), a presença de uma linha refrativa que percorre longitudinalmente o tecido, a qual é denominada linha lúcida, a qual não mostrou reação positiva ao azul de toluidina (Fig. 26). Em análise de microscopia óptica utilizando fluorescência, no comprimento de onda azul, em amostras submetidas à ação de azul de anilina (Fig. 29), observou-se que a camada paliçádica (mais acentuadamente a linha lúcida) mostrou-se fluorescente indicando a presença de calose e a contrapaliçada não fluoresceu (Fig. 30, comparada com Fig. 31 controle). A camada paliçádica mostrou maior fluorescência na porção superior das células, tanto na região hilar (Fig. 30), quanto na região extra-hilar (Fig. 32), indicando a presença de calose. Com azul de toluidina, na região extrahilar esta porção das macroesclereídes apresentaram tênue reação à presença de lignina, diferentemente da porção basal que mostrou intensa coloração verde (Fig. 19). Entretanto, na região hilar, com o uso deste reagente, as macroesclereídes da camada paliçádica não indicaram presença de lignina, mas a contrapaliçada reagiu intensamente (Fig. 26). Em amostras controles, ou seja, amostras que foram colocadas somente em solução tampão de fosfato de potássio e analisadas em microscopia óptica, observou-se os tegumentos da semente na região hilar (Fig. 33) e extra-hilar (Fig. 34). Posteriormente, estas mesmas amostras foram analisadas com distintos comprimentos de onda, luz vermelha e azul. Quando a amostra é irradiada com comprimento de onda vermelho, mostrou-se autofluorescente, indicando a presença de lignina nessa região (Fig. 35). Na camada paliçádica da região extra-hilar a intensidade de fluorescência foi menos intensa que na contrapaliçada, porém observou-se que a maior fluorescência dessa região foi da metade das macroesclereídes em direção à porção basal (Fig. 36), justamente onde foi observada maior concentração de lignina, conforme teste com azul de toluidina. Com comprimento de onda azul, quando a amostra foi imersa apenas no tampão fosfato de potássio, nenhuma estrutura

mostrou fluorescência (Fig. 37-38), confirmando a necessidade de uso de azul de anilina.

As macroesclereídes na região hilar e extra-hilar mostraram características distintas. A porção superior das macroesclereídes da contrapaliçada (Fig. 28) mostra linhas tangenciais, quando observada ultraestruturalmente (Fig. 28) e, em microscopia óptica, com o uso de sudan IV, esta espessa camada de revestimento, que corresponde aos remanescentes funiculares, reagiu positivamente, indicando presença de substâncias lipofílicas. Acima das macroesclereídes na região extra-hilar observou-se uma cutícula que reagiu positivamente ao sudan IV, indicando a presença de substâncias lipofílicas (Fig. 20).

Na região hilar destaca-se a presença da barra de traqueídes (Fig. 24, 39), que se localiza entre o tecido esclerenquimático e o tecido esponjoso. Estas células têm forma alongada, no sentido perpendicular a superfície da semente, com extremidades fechadas e com espessamentos helicoidais nas paredes (Fig. 40); testes histoquímicos com floroglucinol acidificado e azul de toluidina revelaram presença de lignina nestes espessamentos. Em sementes sementes escarificadas observou-se a barra de traqueídes através da fissura hilar (Fig. 41).

Internamente à barra de traqueídes, na região hilar (Fig. 39), e às osteoesclereídes, na região extra-hilar (Fig. 34), ocorre o tecido esponjoso, o qual está constituído por células de paredes espessas, com conspícuos espaços intercelulares.

Internamente aos tecidos que constituem a testa das sementes ocorre uma fina camada de células brancas que foram colapsadas, as quais constituem o tégmen, separando o tecido esponjoso do endosperma.

## **5.2 Entrada de água nas sementes *Sophora tomentosa***

A análise revelou, em microscopia eletrônica de varredura, a estrutura intacta da região hilar em sementes dormentes sem escarificação térmica; o estrofiolo distingue-se por ser uma região em depressão ao lado do hilo e em posição oposta à micrópila (Fig. 42). Após o tratamento com água fervente, a micrópila manteve-se inalterada, porém ocorreram fissuras no hilo e no estrofiolo (Fig. 43-44); as rachaduras do estrofiolo foram de encontro ao hilo (Fig.44-45), deixando as macroesclereídes expostas (Fig. 46-47). Essas rachaduras podem favorecer a entrada de água na semente.

As sementes escarificadas em água fervente e sementes não escarificadas, colocadas em solução de anilina 1%, apresentaram toda a região hilar corada de azul (Fig. 48), mas não foi observada a penetração do corante em nenhum tecido imediatamente abaixo da região hilar ou da região extra-hilar (Fig. 49). Quando essas sementes foram cortadas em micrótomo rotativo e observadas em microscopia óptica (Fig. 50-51), observou-se que o corante não penetrou na região sub-hilar, nem através da micrópila.

### 5.3. Anatomia das sementes de *Erytrina speciosa*

Na base das sementes de *Erytrina speciosa* distinguim-se a região hilar constituída por hilo, micrópila e o estrofiolo (Fig. 52-53). O hilo mostra uma fissura mediana (Fig. 54); geralmente remanescentes do funículo mantêm-se aderidos ao hilo em algumas sementes (Fig. 53) contornando o hilo. Nas sementes maduras desta espécie, o endosperma está ausente e o embrião apresenta cotilédones de reserva (Fig. 55). O estrofiolo caracteriza-se externamente por ser uma área em suave depressão, posicionado ao lado do hilo, em posição oposta à micrópila (Fig. 52-55).

A testa (Fig. 56-57) mostrou características distintas na região hilar e extra-hilar; sendo formada por camada paliçádica, tecido esclerenquimático (região hilar) ou osteosclereídes (região extra-hilar), barra de traqueídes (somente na região hilar), tecido esponjoso e camada branca. Na região hilar, a testa é formada pela dupla paliçada (contrapaliçada e camada paliçádica); sob as quais se observou a presença de tecido esclerenquimático com três a quatro camadas celulares entre a região da micrópila e estrofiolo (Fig. 58 e 60), mostrando-se mais volumoso nas regiões laterais de transição entre região hilar e extra-hilar, determinando as saliências formadas na parte externa da semente, próximas à micrópila e estrofiolo (Fig. 58 e 60). Na região extra-hilar, a camada paliçádica é simples, sendo que do lado da micrópila, essa camada mostrou-se mais estreita (Fig. 58). Conforme vai se afastando da região da micrópila (Fig. 58) e do estrofiolo (Fig. 60), o tecido esclerenquimático tende a desaparecer, sendo substituído por osteosclereídes que irão constituir um estrato, sob a camada paliçádica, que circunda a região extra-hilar da semente (Fig. 58). As osteosclereídes (*hourglass*), com formato de ampulheta ou osso, são células alongadas cujas extremidades são dilatadas e há uma constrição mediana, com conspícuos espaços intercelulares. Sob o tecido

esclerificado, na região hilar, e sob as osteoesclereídes, na região extra-hilar, ocorre um tecido esponjoso esclerenificado com células brachiformes (Fig. 58 e 69).

A contrapaliçada e a camada paliçada são formadas por macrosclereídes que são células alongadas (Fig. 59), dispostas compactamente com paredes espessadas. Na porção superior da camada paliçada, observou-se a presença de uma linha refrativa que percorre longitudinalmente o tecido, a qual é denominada linha lúcida (Fig. 60-62).

Os testes histoquímicos do tegumento utilizando de floroglucinol acidificado mostraram resultado negativo para presença de lignina nas macrosclereídes da camada paliçada e contrapaliçada. Entretanto, utilizando azul de toluidina, a camada paliçada da região hilar (Fig. 61) mostrou reação negativa para presença de lignina, porém a contrapaliçada reagiu positivamente na parte superior das macrosclereídes. Na região extra-hilar (Fig. 62), a camada paliçada reagiu positivamente ao azul de toluidina na parte inferior das macrosclereídes e internamente à linha lúcida (Fig. 62), indicando a presença de lignina nessas regiões. Porém não foi observada a presença de lignina na linha lúcida, pois não houve reação nesta região ao azul de toluidina (Fig. 61-62) e ao floroglucinol acidificado. O tecido esclerificado não reagiu ao azul de toluidina e ao floroglucinol acidificado, indicando a possível ausência de lignina.

As amostras que ficaram durante a noite em azul de anilina (Fig. 63-66), ao serem analisadas em microscopia de fluorescência, revelaram que as estruturas da região hilar (Fig. 63-64) e extra-hilar (Fig. 65-66) só fluorescem quando utilizada a luz azul e apenas na região correspondente as macrosclereídes da camada paliçada, mais intensamente na linha lúcida (Fig. 64 e 66), indicando a ocorrência de calose nessas regiões. Isto correspondeu justamente à região em que as macrosclereídes que não reagiram ao azul de toluidina. Em amostras controle, sem uso de azul de anilina e apenas tampão de fosfato de potássio (Fig. 67-68), confirmou-se que em microscopia óptica (Fig. 67) ou luz azul (Fig. 68) não ocorre autofluorescência.

A barra de traqueídes, situa-se imediatamente abaixo do tecido esclerenquimático na região hilar, sendo delimitada lateral e internamente pelo tecido esponjoso (Fig. 56-57). Estas células são curtas, com extremidades fechadas e paredes espessadas e reticuladas (Fig. 70-72). Testes histoquímicos com floroglucinol acidificado e azul de toluidina (Fig. 72) revelaram presença de lignina nos espessamentos da barra de traqueídes. Pelos testes aplicados não foi revelada a presença

de lignina nas osteoesclereídes. Abaixo dos tecidos que constituem a testa das sementes ocorre uma fina camada de células brancas que foram colapsadas, as quais constituem o tégmen, separando o tecido esponjoso do endosperma.

### 5.3. Entrada de água nas sementes de *Erythrina speciosa*

A análise ultraestrutural comparativa da superfície da região hilar de sementes não tratadas (Fig. 73) e de semente que passaram pelo tratamento de fervura (Fig. 74), para quebra de dormência, revelou que a micrópila mantém-se inalterada, porém no estrofiolo ocorrem rachaduras (Fig. 74). Estas rachaduras (Fig. 74-75) vão de encontro ao hilo, deixando as macroesclereídes expostas (Fig. 76). Observou-se ainda que a fissura hilar mostrou-se mais aberta nas sementes tratadas (Fig. 74) quando comparada com a fissura hilar de sementes não tratadas (Fig. 73).

Sementes de *E. speciosa* escarificadas em água fervente e não escarificadas colocadas em solução de azul de anilina, por 30 min, apresentaram toda a região hilar externa corada de azul (Fig. 77). A análise microscópica de secções transversais das sementes revelou que o corante penetrou nos tecidos internos ao hilo apenas das sementes escarificadas (Fig. 78-84). Com 30 min de imersão, o azul de anilina, além de áreas periféricas do hilo (Fig. 78), corou também a região imediatamente abaixo do estrofiolo, indo em direção ao feixe vascular (Fig. 79), indicando que essa região é o primeiro local de entrada da água, uma vez que não foi observada a penetração do corante em nenhum outro ponto da semente. Depois de 16h de embebição em solução de azul de anilina, o corante difundiu-se do estrofiolo em direção a barra de traqueídes (Fig. 80); na micrópila e região subjacente a esta, observou-se que o corante não penetrou (Fig. 81). Neste tempo de embebição (16h), observou-se que o azul de anilina, embora se destaque corando a região mais externa do hilo, corou apenas tenuamente a contrapaliçada e não ultrapassou a linha lúcida da camada paliçádica (Fig. 83). Isso sugere que a linha lúcida conferiu impermeabilidade, em função da presença de calose. Após 40h de embebição, o azul de anilina corou completamente toda região do estrofiolo e tecidos internos a este, inclusive avançou pela totalidade da barra de traqueídes (Fig. 82).

## DISCUSSÃO

### 1. Dormência em sementes de *Sophora tomentosa* e *Eritrina speciosa*

Em sementes intactas de *Sophora tomentosa* a germinação à temperatura constante em claro ou escuro foi bastante baixa para a população da Daniela, mas alta nas populações do Campeche e Ingleses, mostrando que para esta espécie, as sementes não são necessariamente dormentes. As sementes que apresentaram dormência provieram de uma determinada população, que foram coletadas em julho, período de inverno, e permaneceram armazenadas por seis meses antes do início dos experimentos. Sementes de outras duas populações que não apresentaram dormência foram coletadas em janeiro, período de verão, e utilizadas nos experimentos logo que coletadas. Nos trabalhos encontrados sobre germinação de *S. tomentosa*, Santos *et al.* (2001) não relatam tratamento pré-germinativo, o que parece indicar que as sementes utilizadas naquele trabalho não apresentavam dormência, enquanto Oliveira (2001) e Zamith & Scarano (2004), que analisaram a germinação de várias espécies incluindo *S. tomentosa*, infelizmente não especificam se as sementes da espécie foram escarificadas ou não, dizendo apenas que a escarificação foi utilizada para sementes duras ou sementes com dormência tegumentar. Em trabalhos de germinação com *S. tomentosa* coletadas fora do Brasil, Ahlgren (2009) encontrou em *S. tomentosa* da Polinésia Francesa apenas 5,6% de germinação de sementes recém coletadas. Para outras espécies do gênero *Sophora*, *S. secundiflora* (Ortega) Lag. ex DC. e *S. chrysophylla* (Ortega) Lag. ex DC. foi relatada a presença de dormência (Ruter & Ingram 1990; Wang 1991) e para *S. secundiflora*, constatou-se que sementes recém-colhidas apresentaram germinação muito maior que a de sementes armazenadas por um ano (Wang 1991), comportamento similar ao de *S. tomentosa*. A literatura relata que em muitas espécies, sementes coletadas de diferentes populações ou em tempos diferentes podem variar no grau de dormência, dependendo das condições ambientais de umidade e nutrição do solo, da densidade de folhas recobrendo as plantas ou do grau de distúrbio do ambiente (Biere 1991; Baskin & Baskin 2001; Hoyle *et al.* 2008). Além disto, em sementes de Fabaceae com dormência física, embora esta característica seja hereditária, ela é fortemente influenciada pelas condições climáticas durante o desenvolvimento da planta e da maturação da semente, como também do grau de desidratação da

semente, sendo o grau de umidade da semente o principal fator que governa a dormência das sementes (Argel & Paton 1999). Ainda em Fabaceae, a umidade da semente geralmente declina para se equilibrar com a menor umidade relativa do ambiente durante o armazenamento das sementes e esta redução na umidade é facilitada pelo hilo que funciona como uma válvula higroscópica (Hyde 1954), o que pode tornar uma semente não dormente quando coletada, em dormente, se seu teor em água atingir um determinado limite. Desta forma, uma das explicações para a aparente controvérsia sobre presença ou não de dormência em sementes de *S. tomentosa* poderia residir na perda de água das sementes não dormentes após coleta, tornando-as dormentes, uma vez que sementes das populações de Ingleses e Campeche colocadas para embeber seis meses após a coleta não mais embeberam (resultados não mostrados). Por outro lado, a presença de dormência em espécies de restinga não é surpreendente, uma vez que a dormência das sementes provavelmente evoluiu em resposta à variabilidade e à imprevisibilidade ambiental (Evans & Cabin 1995). Segundo Scarano (2000) adversidades como seca, salinidade e escassez de nutrientes conferem às Restingas circunstâncias de grande imprevisibilidade ambiental, o que pode estar relacionado com a dormência encontrada nas sementes de muitas das espécies. Além disto, o fato de *S. tomentosa* também ter sua semente dispersa por correntes marítimas (Nakanishi 1988; Heenan *et al.* 2004), a presença de dormência seria de considerável valor, pois alargaria o potencial de colonização das espécies (Thompson 1992; Moreno-Casasola *et al.* 1994).

A germinação de algumas sementes da população da Daniela pode ser explicada pelo fato de que as sementes de uma mesma amostra podem variar nas exigências para germinação devido a diferenças de maturidade entre elas, entre as matrizes coletadas ou, ainda, na posição das sementes em uma mesma matriz (Austin 1972).

Para *Eritrina speciosa*, as sementes analisadas não germinaram nas temperaturas aplicadas, indicando dormência, uma vez que nestas temperaturas as sementes não dormentes de espécies tropicais costumam germinar (Borges & Rena 1993). A dormência para a espécie *E. speciosa* já era conhecida (Kosko *et al.* 2007; Fowler & Bianchetti, 2000), não havendo relatos na literatura pesquisada sobre a ausência de dormência em sementes da espécie. A dormência nesta espécie é esperada uma vez que esse fenômeno é comum em ambientes sujeitos à variação ambiental e seu local de ocorrência, pioneira com influência marinha (Schmidlin *et al.* 2005), são comunidades associadas a condições ambientais variáveis, sob permanente ação dos ventos, das

marés, da salinidade e das condições pedológicas desfavoráveis (IBGE 1992; Roderjan *et al.* 2002).

Em sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa* cujo tegumento foi rompido para a entrada de água, a germinação foi alta tanto em temperatura mais alta (30°C), como em temperatura mais baixa (15°C), havendo variação, entretanto, na velocidade de germinação, sendo mais alta em temperatura mais alta. Em temperatura alternada (15°C/30°C) prevaleceu o efeito da temperatura mais alta. Com efeito, os requerimentos de temperatura para sementes cuja dormência foi quebrada são os mesmos para sementes que não apresentam dormência (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, testando os dois regimes de temperatura, mostraram que dentro daquela faixa (20 a 30°C) e mesmo um pouco abaixo (15°C), as sementes que germinam bem em temperatura constante apresentam também bom desempenho germinativo em temperatura alternada (Santos & Aguiar 2005).

## **2. Quebra da dormência física por alternância de temperatura**

A literatura relata que dois dos maiores fatores envolvidos na quebra da dormência física em sementes são a alta temperatura constante e a temperatura alternada (Bewley & Black 1994; Argel & Paton 1999; Baskin & Baskin 2001). Entretanto, 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). 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; entretanto, o efeito da alta temperatura ou temperatura alternada pode variar de acordo com o grau de umidade da semente ou seu teor em lignina (Argel & Paton 1999). Vazques-Yanes & Orosco-Segovia (1982) relacionaram a diferença de flutuação de temperatura que ocorre na borda (5°C) e no centro de uma clareira (15°C) com alta germinação de sementes com dormência física no centro da clareira, indicando a flutuação de temperatura como um mecanismo de detecção de clareira por espécies de plantas. Souza (2010) conseguiu quebrar a

dormência física em sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Caesalpinaceae) utilizando temperaturas alternadas de 20/30°C e constante de 30°C, embora a germinação fosse mais rápida nas temperaturas alternadas. Em sementes embebidas de *Ipomoea lacunosa* L (Convolvulaceae) a dormência foi quebrada em alternância de temperatura de 35/20 °C ou constante de 35 °C (Jayasuriya *et al.* 2007). Na espécie de Fabaceae *Thermopsis lupinoides* Link encontrada em dunas no Japão, alternância de temperatura de 25°C/35°C promoveu a quebra da dormência (Kondo & Takahashi, 2004).

No caso de quebra da dormência, para que esta ocorra normalmente as sementes devem estar embebidas, à exceção de alguns casos de dormência física em Fabaceae em que alta temperatura em sementes não embebidas podem surtir efeito (Black *et al.* 2006). Com efeito, Hu *et al.* (2009), trabalhando com duas populações de *Sophora alopecuroides* L., encontraram que embora alta temperatura em sementes embebidas quebrasse a dormência das sementes de ambas as populações, alta temperatura em sementes não embebidas foi efetiva para uma das populações. Para os autores estas duas maneiras de quebra de dormência estariam relacionadas em campo com resposta à profundidade em que as sementes estariam enterradas no solo, sendo que uma população não germinaria se exposta à superfície do solo, enquanto para a outra, esta germinaria tanto enterrada quanto exposta à superfície do solo.

Sementes de *Sophora tomentosa* e *Erythrina speciosa* não tiveram sua germinação grandemente favorecida por tratamento de alternância de temperatura, ou aplicação de temperatura constante mais alta. Observou-se, entretanto, em sementes de *S. tomentosa* um aumento significativo, da germinação a 35°C, embora a germinação ainda seja abaixo de 20%. A pequena influência da temperatura alternada no caso destas duas espécies, ocorrente em área de restinga pode dever-se à faixa e amplitude da flutuação da temperatura aplicada ou até mesmo à duração do experimento, já 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 de temperatura entre 30°C e 60°C durante várias semanas ou meses. No caso destas duas espécies 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.

### 3. Anatomia de *Sophora tomentosa* e *Erythrina speciosa*

Segundo Corner (1951), a região hilar é destacada como uma importante porção para o entendimento da anatomia das sementes de Papilionoideae. Em sementes de *Sophora tomentosa* e *Erythrina speciosa* o hilo possui uma evidente fissura, situando-se entre a micrópila e o estrofiolo. Este posicionamento alinhado da micrópila, hilo e estrofiolo podem variar dentro de Fabaceae, porém esta mesma disposição alinhada das estruturas da região hilar também foi observada em *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf (Caesalpinoideae) por Corner (1951); *Stylosanthes hamata* (L.) Taub (Papilionoideae) por Castillo & Guenni (2001); *Sophora alopecuroides* L. (Papilionoideae) por Hu *et al.* (2008); *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (Caesalpinoideae) por Souza (2010). Corner (1951) destaca como características típicas de Papilionoideae, a presença de hilo relativamente grande, com fissura mediana, a presença de uma barra de traqueídes no tecido sub-hilar e duplicação da paliçada sob o hilo. A semente está presa ao pericarpo pelo do funículo (Oliveira *et al.* 2005) e quando o funículo se destaca da parede interna do fruto, forma-se uma camada abscíssica em continuação com a paliçada do tegumento externo, sendo intermediada por feixes vasculares, que constitui o hilo (Corner 1951). De acordo com Bessa *et al.* (2001), a camada paliçada da região hilar e camada de células adjacentes do topo do funículo transformam-se em uma contrapaliçada do hilo, sendo a parede entre as duas praticamente confluentes. Os mesmos autores observaram remanescentes funiculares em toda a região hilar em sementes de *Dipterix odorata* (Aubl.) Will. Estes remanescentes do funículo adjacentes à camada paliçada foram observados nas duas espécies aqui estudadas, determinando uma das distinções entre a região hilar e extra-hilar. Segundo Corner (1951,1976) esses remanescentes funiculares são denominados de arilo de borda.

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 paliçada 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 *S.tomentosa* e *E.speciosa* confirmou que estas espécies de Fabaceae são exotestais.

O mecanismo de impermeabilidade à água envolve substâncias impermeáveis à água como ceras, lignina, suberina e calose (Roslton 1978). A impermeabilidade total ocorre ao final da maturação das sementes quando, através do hilo, que atua como uma válvula higroscópica que previne a absorção de água, mas permite que a água saia da semente para diminuir a umidade relativa dentro das sementes até um ponto limite (Roslton 1978). Segundo Baskin & Baskin (2000), o estrofiolo é a área mais fraca do tegumento que circunda a semente. Isto confere com as observações feitas em *S. tomentosa* e *E. speciosa*, que mostraram uma camada paliçádica de menor espessura na região do estrofiolo. A partir do momento em que o estrofiolo se rompe, é criada uma abertura de entrada de água (Baskin 2003).

Em *S. tomentosa* e *E. speciosa*, o feixe vascular está localizado lateralmente a barra de traqueídes, estendendo-se desde o hilo e seguindo, internamente, no sentido do posicionamento do estrofiolo. Pontes (2008) relata a mesma situação em sementes de *Adesmia bicolor* (Poir.) DC e *Adesmia latifolia* Spreng. Vog (Papilionoideae). Segundo Oliveira *et al.* (2007) a vascularização seminal de *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth (Papilionoideae) está representada apenas por um feixe vascular de pequeno calibre, que parte da região hilar, percorre a rafe em direção a calaza. Souza (1982) relata que em sementes de *Cassia cathartica* Mart o feixe vascular penetra na semente ao nível de seu hilo, percorrendo o bordo (rafe, anti-rafe) atingindo as proximidades da micrópila.

A testa das sementes de Fabaceae é usualmente composta de epiderme (denominada camada de Malpighi ou camada paliçádica) com cutícula e linha lúcida, hipoderme (camada de osteosclereídes em forma de ampulheta), parênquima (Corner 1951; Gunn 1981) e células brancas (Serrato-Valenti *et al.* 1995; Castillo & Guenni 2001). Oliveira *et al.* (2007) observaram que a região extra-hilar de semente de *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth é constituída por camada paliçádica (revestimento), células parenquimáticas e, mais internamente resquícios celulares do tégmen que se encontra em compressão. Segundo Teixeira *et al.* (2007) as células do tegumento interno da semente são colapsadas no decorrer do desenvolvimento do embrião. Alguns autores denominam essas células em compressão como células brancas sendo observadas em *Leucena leucocephala* Lam. (De Wit) (Serrato-Valenti *et*

al.1995) e *Stylosanthes hamata* (L.) Taub. Castillo & Guenni 2001). Em *S. tomentosa* e *E. speciosa* foram observadas a presença de células brancas colapsadas. Porém devido as características apresentadas, paredes delgadas e achatadas tangencialmente, e que conforme o embrião desenvolve, essas podem entrar em colapso, tornando inviável o registro de imagens deste tecido. Assim, de acordo com dados de literatura, esta camada deve corresponder ao tegumento interno (tégmen), enquanto todos os demais tecidos descritos correspondem ao tegumento externo (testa). Entretanto, os tegumentos têm grande variação estrutural em Fabaceae dependendo da espécie (Werker 1997). A espessura da cutícula pode variar, a hipoderme em formato de ampulheta pode não estar presente (Smith *et al.* 2003), bem como a linha lúcida, cuja posição pode encontrar-se próxima à cutícula ou cortando as células epidérmicas (Mello-Pina *et al.* 1999; Souza e Marcos-Filho 2001; Leython & Jáuregui, 2008).

Corner (1951) refere que a cutícula é uma camada sempre fina e lisa, uma película espessa e resistente. 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. Na região extra-hilar das sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa* ocorre cutícula espessa que reage positivamente ao sudan IV indicando a presença de cutina.

A análise histológica dos tegumentos das sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa* revelou algumas diferenças entre a região hilar e extra-hilar. Na região hilar foi observada barra de traqueídes e a duplicação da camada paliçádica; já na região extra-hilar essa camada paliçádica é simples, sendo a barra de traqueídes ausente, características específicas de Papilionoideae. Segundo Corner (1951) entre as Fabaceae, alguns estudos mostram a presença da dupla camada paliçádica e barra de traqueídes em *Stylosanthes hamata* (L.) Taub (Castillo & Guenni 2001), *Dipterix odorata* (Aubl.) Will. (Bessa *et al.* 2001), *Pterocarpus violaceus* Vogel (Nakamura & Oliveira 2005), *Centrolobium tomentosum* Guill. ex Benth. (Oliveira *et al.* 2007), *Indigofera* L. (Teixeira & Corrêa 2007). Em um gênero de *Erythrina*, Corner (1976), observou uma única camada paliçádica revestindo toda a semente, inclusive na região hilar, ao contrário do que foi observado para *E. speciosa* que na região hilar apresenta duplicação da camada paliçádica.

Na maioria das espécies que possui dormência física, credita-se à camada paliçádica do tegumento a função de impermeabilidade à entrada de água devido ao seu arranjo físico e estarem aí localizados os

compostos químicos com propriedades hidrofóbicas como lignina, cutina, suberina e ceras (Baskin *et al.* 2000). Corner (1951) afirma que a camada paliçada confere impermeabilidade ao tegumento por meio da contração das paredes das macroesclereídes. Em sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa*, no presente estudo, foi verificado que essa situação não é diferente. A reação positiva das macroesclereídes da contrapaliçada de *S. tomentosa*, com o azul de toluidina, demonstrou a presença de lignina. Porém, a contrapaliçada das sementes de *E. speciosa* reagiu ao azul de toluidina apenas na porção superior das macroesclereídes. Na região extra-hilar de *S. tomentosa* e *E. speciosa*, ao longo das macroesclereídes, essa coloração variou, indicando maior concentração de lignina na porção inferior das macroesclereídes. A camada paliçada da região hilar de *S. tomentosa* e *E. speciosa* não reagiram para o teste azul de toluidina como o floroglucinol acidificado, demonstrando a ausência de lignina nessa região. Sementes de *S. tomentosa* mostraram se auto-fluorescentes no comprimento de onda vermelho na contrapaliçada e barra de traqueídes, justamente a região que foi observado presença de lignina através do teste azul de toluidina. Vavrcik *et al* (2007), em amostras de madeira de abeto da Noruega *Picea abies* (L.) Karst. através de análises microquímicas de fluorescência observaram a auto-florescência de lignina tanto nos comprimentos de excitação verde como no vermelho. O interessante para *S. tomentosa* e *E. speciosa* é que nas regiões onde não foi observada a presença de lignina, verificou-se a presença de calose. Castillo & Guenni (2001) observaram que as macroesclereídes diferem na composição da contrapaliçada, denominada por este autor como células invertidas. O mesmo autor relata uma variação de cor nas macroesclereídes, indicando distintos tipos de polissacarídeos, além da presença de lignina na contrapaliçada. Bevilacqua *et al.* (1987) também observaram calose na camada paliçada das sementes de *Sesbania punica* (Cav.) Benth (Fabaceae), sendo que não constatou a presença de lignina utilizando o floroglucinol acidificado. Esse fato foi verificado no presente estudo para sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa*.

A camada paliçada está constituída por células de Malpighi e pode apresentar uma linha refringente denominada linha lúcida (Corner 1951). A origem da linha lúcida é discutida por vários autores. Kelly *et al.* (1992), baseado em vários autores, refere que a linha lúcida é um fenômeno óptico gerado pela justaposição de células mais internas em paliçada de natureza celulósica com células mais externas suberizadas. Esau (1976) ainda afirma que a linha lúcida resulta do alto grau de reforço de uma região restrita das paredes da epiderme, tendo orientação

tangencial um pouco acima do meio de cada célula; essas regiões de refração das células adjacentes situam-se na mesma posição formando uma linha contínua na epiderme. Harris (1983) descreve que em *Pisum sativum* L. a linha lúcida se torna discernível ao microscópio óptico na junção dos ápices celulósicos das macroesclereídes com a camada subcuticular que pode ser suberizada. Ma *et al.* (2004) verificaram que a linha lúcida não é apenas um fenômeno óptico provocado por modificações químicas, mas uma estrutura real, cujas paredes secundárias estão apressas umas às outras. A linha lúcida também é considerada particularmente impermeável à água (Hyde 1954; Esau 1976). Castillo & Guenni (2001), afirmam que a linha lúcida observada em *Stylosanthes hamata* (L.) Taub (Papilionoideae) ocorre devido à deposição da calose na região superior das macroesclereídes. Serrato-Valenti *et al.* (1995) relatam que em sementes de *Leucaena leucocephala* (De Wit) Lam a linha lúcida é rica em calose. Serrato-Valenti *et al.* (1993) observaram calose na linha lúcida em sementes de *Stylosanthes scabra* Vog (Papilionoideae). De acordo com Bevilacqua *et al.* (1987), calose é um grupo de hemicelulose, com ligações ricas em glucanos, onde o grau de polimerização pode afetar sua característica de solubilidade. Segundo Bhall & Slaterry (1984), a calose atua como uma barreira ao movimento da água para dentro das sementes. Ma *et al.* (2004) afirmam que a presença de calose na linha lúcida de uma cultivar de soja *Glycine max* (L.) Fabaceae, confere a impermeabilidade ao tegumento da semente. Em sementes de *Sophora tomentosa* e *Erythrina speciosa* foi observada a presença de calose na linha lúcida, sendo que em sementes de *Erythrina speciosa* que foram escarificadas termicamente e imersas em solução de anilina, observou-se que o corante atravessou a contrapaliçada porém não ultrapassou a linha lúcida, sugerindo dessa maneira a impermeabilidade a linha lúcida. A presença de calose na linha lúcida de sementes de Fabaceae também foi constatada em *Trifolium subterraneum* L. (Slaterry 1984) e *Sesbania punica* Cav. (Benth.) (Bevilacqua *et al.* 1987).

Nas sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa*, imediatamente abaixo da camada paliçádica, antes da barra de traqueídes, na região hilar, foram observados duas a três camadas de um tecido rígido, compacto, de paredes espessadas, denominado aqui por tecido esclerenquimático, embora não tenha sido confirmada a presença de lignina neste tecido para as duas espécies estudadas. Próximo a região da micrópila e do estrofolo o número de camadas desse tecido aumenta, justamente onde termina a duplicação da camada paliçádica. Souza (1982), para sementes de *Cassia cathartica* Mart. observou o mesmo

tipo de tecido, denominando-o de parênquima esclerificado, sendo formado por células alongadas de paredes espessas e não lignificadas. Corner (1951) relata que esse tecido duro, compacto de 2-6 ou mais camadas de células, com paredes muito espessas, serve como um suporte à contração da testa sobre a radícula, denominando esta região de mesofilo. Bessa *et al* (2001) relata a presença de células arredondadas de paredes espessadas na região sub-hilar em sementes de *Dipterix odorata* (Aubl.)Will. que serve como estrutura de resistência a contração da testa sobre a radícula.

As osteosclereídes frequentemente são denominadas de células em ampulheta (*hourglass*) devido a sua forma. Segundo Teixeira & Corrêa (2007) tanto as macroesclereídes como as osteosclereídes originaram-se do tegumento externo do óvulo. Bessa *et al.* (2001) observaram uma camada de osteosclereídes na região hilar de sementes de *Dipterix odorata* (Aubl.)Will. Teixeira & Corrêa (2007) observaram em um estudo de sete espécies de sementes de *Indigofera* L. (Fabaceae-Papilionoideae) que o envoltório da semente é constituído por uma camada de macroesclereídes e duas a três de osteosclereídes. Melo-Pinna *et al.* (1999) estudando quatro espécie de semente de Caesalpinioideae, observaram duas camadas de osteosclereídes intercaladas pelo parênquima. No presente estudo, em sementes *S. tomentosa* e *E. speciosa* foi constatada a presença das osteosclereídes somente na região extra-hilar, sob a camada paliçádica, não sendo observada em nenhuma outra região da semente .

Corner (1976) descreveu o tegumento dos gêneros *Shoptora* e *Erythrina* mostrando apenas imagens esquemáticas, não detalhando o formato das células e nem a constituição química das mesmas. Desta forma, foi necessário realizar um estudo mais detalhado nesse trabalho, sobre a anatomia das sementes de *Sophora tomentosa* e *Erythrina speciosa* para uma melhor compreensão da parte fisiológica da semente relacionada com a entrada de água na mesma e seu processo de embebição.

#### **4. Entrada de água nas sementes**

O estrofiolo tem sido relatado como local inicial de entrada de água em sementes com dormência física, sendo considerada uma região mais frágil do tegumento da semente, (Serrato Valenti *et al.* 1995; Morrison *et al.* 1998; Baskin *et al.* 2000). Segundo Barroso *et al.* (1999) essa estrutura corresponde a um pequeno intumescimento sobre a rafe. Estruturas como o hilo, a micrópila, o estrofiolo e a calaza constituem

áreas permeáveis ou impermeáveis, onde a embebição inicia, quando a impermeabilidade dessas regiões desaparece (Perez 2004). Castillo & Guenni (2001) observaram em sementes de *Stylosanthes hamata* (L.) Taub (Papilionoideae), que a estrutura que permite a entrada de água é o hilo.

No presente estudo foi observado que, sementes de *S. tomentosa* e *E. speciosa*, ao passarem por escarificação térmica, tiveram o estrofiolo rompido, deixando suas macroesclereídes expostas e parcialmente separadas, o que não ocorreu em nenhuma outra região dos tegumentos. Nas sementes de *S. tomentosa* também foram observadas rachaduras ao redor da fissura hilar. O mesmo já foi observado para as espécies *Sesbania sesban* (L.) Merr (Papilionoideae) (Hu *et al.* 2009). O autor ainda relata que as rachaduras ao redor da fissura hilar não favoreceram a entrada de água nessa espécie e que o principal local de entrada de água foi através do estrofiolo. Em um estudo com *V. oblongifolia* A. Rich. (Papilionoideae) (Hu *et al.* 2009), observaram que o primeiro local de entrada de água na semente foi através do hilo e não do estrofiolo. Em sementes de *Sophora alopecuroides* L (Papilionoideae) Hu *et al.* (2008) observaram em sementes pré-tratadas com ácido sulfúrico por 20 minutos e tiveram o hilo bloqueados, a entrada de água foi inibida completamente, indicando que o hilo seria o primeiro local de entrada de água nas sementes.

Observou-se ainda no presente estudo que o primeiro local de entrada de água para sementes de *E. speciosa* após escarificação térmica, foi o estrofiolo, pois após 30min de embebição esta foi a primeira região a ficar corada, depois de 16h essa coloração começou a difundir-se, concentrando-se imediatamente abaixo do estrofiolo, no feixe vascular, conforme descrito por Dell (1980) para semente de *Albizia lophantha* (Willd) Benth (Fabaceae), porém não ultrapassando a linha lúcida. Depois de 40h foi verificado que toda a barra de traqueídes estava corada de azul. As sementes de *E. speciosa* também apresentaram uma sutil abertura da fissura hilar, embora não haja evidências de que a água possa passar por tais aberturas.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AHLGREN, C.L. 2009. Survivorship of *Sophora tomentosa* on the reef islands of MO'OREA, French Polynesia. In: Student Research papers Series UCB Moorea Class: Biology and Geomorphology of Tropical Islands, Berkeley Natural History Museum, UC Berkeley. p.1-8.
- ALQUINI, Y. & BRITO, C.J.F.A. 1996. A New Method for Staining Botanical Material Embedded in Glycol Methacrylate (Gma). Arquivos de Biologia e Tecnologia 39: 949-951.
- ARGEL, P.J. & PATON, C.J. 1999. Overcoming legume hardseededness. In: Forage seed production: Tropical and subtropical species (D.S. Loch & J.E. Ferguson, eds.). v. 2, chapter 14, CAB International, Wallingford, p. 247-265.
- AUSTIN, R.B. 1972. Effects of environmental before harvesting on viability. In ROBERTS, E.H. (Ed.). Viability of seeds. Syracuse: Syracuse University Press, p. 114-149.
- BASKIN, C.C. 2003. Breaking physical dormancy in seed – focusing on the lens. New Phytologist 158: 227-238.
- BASKIN, C.C. & BASKIN, J.M. 2001. Seeds: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. Academic Press, London. 666p.
- BASKIN, C.C. & BASKIN, J.M. 2005. Seed dormancy in trees of climax tropical vegetation types. Tropical Ecology 46: 17-28.
- BASKIN, J.M. & BASKIN, C.C. 2000. Taxonomy, ecology, and evolution of physical dormancy in seeds. Plant Species Biology 15: 139–152.
- BASKIN, J.M. & BASKIN, C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research 14: 1-16.

- 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. 443p.
- BECHARA, F.C. 2003. Restauração ecológica de restingas contaminadas por Pinus no Parque Florestal do Rio Vermelho. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 116p.
- BELTRATI, C.M. & PAOLI, A.A.S. 2006. Semente. Capítulo 15. In: Anatomia vegetal. (APPEZZATO, G.B. & GUERREIRO, S.M.C., orgs.); Viçosa: Ed. UFV.
- BESSA, D.T.O.; MENDONÇA, M.S. & ARAÚJO, M.G.P. 2001. Morfo-anatomia de sementes de *Dypteryx odorata* (AUBL.) WILL. (Fabaceae) como contribuição ao estudo farmacognóstico de plantas da região Amazônica. Acta Amazonica 31: 357-364.
- BEVILACQUA, L.R.; FOSSATI, F. & DONDERO, G. 1987. 'Callose' in the impermeable seed coat of *Sesbania punicea*. Annals of Botany 59: 335-341.
- BEWLEY, J.D. & BLACK, J.M. 1994. Seeds: Physiology of Development and Germination. 2.ed. New York, Plenum Press. 445p.
- BHALLA, P.L. & SLATTERY, H.D. 1984. Callose deposits make clover seeds impermeable to water. Annals of Botany 53: 125-128.
- BIERE, A. 1991. Parental effects in *Lychnis flos-cuculi*. In: seed size, germination and seedling performance in controlled environment. Journal of Evolutionary Biology 3: 447-465.
- BLACK, M.; BEWLEY, J.D. & HALMER, P. 2006. The encyclopedia of seeds: science, technology and uses. CAB International, Wallingford.
- BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. 1993. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.

- (Coord.) Sementes florestais tropicais. Brasília: ABRATES. p. 83-136.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 395 p.
- BRASIL. Resolução Resolução Conama. 261/1999. Aprova parâmetro básico para análise dos estágios sucessivos de vegetação de restinga para o Estado de Santa Catarina <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res99/res26199.html>  
Acesso em: 20 dez. 2010.
- BRESOLIN, A. 1979. Flora da restinga da Ilha de Santa Catarina. Insula, Florianópolis. 10: 1-54.
- CARVALHO, N.M.; DEMATTÊ, M.E.S.P. & GRAZIANO, T.T. 1980. Germinação de sementes de essências florestais nativas. I. suinã ou mulungu (*Erythryna speciosa* Andr.). Revista Brasileira de Sementes 2: 81-7.
- CASTILLO, R. & GUENNI, O. 2001 Latencia em semillas de *Stylosanthes hamata* (Leguminosae) y su relación com la morfología de la cubierta seminal. Revista de Biología Tropical 49: 287-299.
- CORNER, E.J.H. 1951. The leguminous seeds. Phytomorphology 1: 117-150.
- CORNER, E.J.H. 1976. The Seeds of Dicotyledons. Cambridge University Press, v.1, 311p.
- CORNER, E.J.H. 1976. The seeds of dicotyledons. Cambridge University Press, v. 2, 552p.
- COSTA, A.F. 1982. Farmacognosia. Vol.III. Farmacognosia Experimental. 2ª ed. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian. 1032p.
- DELL, B. 1980. Structure and function of the strophliolar plug in seeds of *Albizia lophanta*. American Journal of Botany 67: 556-563.
- DUARTE, R.M.R. 2004. Estrutura da floresta de restinga do parque estadual da ilha Anchieta (SP): bases para a elaboração de uma

- proposta visando promover o enriquecimento com espécies nativas em solos alterados, São Paulo. Tese doutorado. UNESP.
- EVANS, A.S. & CABIN, R.J. 1995. Can dormancy affect the evolution of post-germination traits? The case of *Lesquerella fendleri*. *Ecology*. 76: 344-356.
- ESAU, K. 1976. Anatomia das plantas com sementes. São Paulo, ed. Edgard Blücher. 293p.
- FENNER, M. & THOMPSON, K. 2005. The ecology of seeds. Cambridge, Cambridge University Press. 263p.
- FINCH - SAVAGE, W.E. & LEUBNER - METZGER, G. 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* 171: 501-523.
- FLORIANO, E.P. 2004. Germinação e dormência de sementes florestais, Caderno Didático nº 2. Santa Rosa. 19p.
- FOWLER, J.A.P. & BIANCHETTI, A. 2000. Dormência em sementes florestais. Colombo: EMBRAPA-Florestas, 27p.
- GUNN, C.R. 1981. Seeds of leguminosae. In: *Advances in legume systematic* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Crow Copyright, Kew, 913-925.
- HARRIS, W.M. 1983. On the development of macrosclereids in seed coats of *Pisum sativum* L. *American Journal of Botany* 70: 528-535.
- HEENAN, P.B.; DAWSON, M.I. & WAGSTAFF, S.J. 2004. The Relationship *Sophora* sect. *Edwardsia* (Fabaceae) to *Sophora tomentosa*, the type species of the genus *Sophora*, observed from DNA sequence data and morphological characters. *Botanical Journal of Linnean Society* 146: 439-446.
- HYDE, E.O.C. 1954. The function of the hilum in some Papilionaceae in relation to the ripening of the seed and the permeability of the testa. *Annals of Botany* 18: 241-256.
- HOYLE, G.L.; STEADMAN, K.J.; DAWS, M.I. & ADKINS, S.W. 2008. Pre- and post-harvest influences on seed dormancy status of

an Australian Goodeniaceae species, *Goodenia fascicularis*. *Annals of Botany* 102: 93-101.

HORRIDGE, G.A. & TAMM, S.L. 1969. Critical point drying for scanning electron microscopy study of ciliary motion. *Science* 163: 817-818.

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.

IBGE. Manual técnico da vegetação brasileira. n.1. Rio de Janeiro, 1992. 91p. (Série Manuais Técnicos em Geociências).

JAYASURIYA, K.M.G.G.; BASKIN, C.C. & BASKIN, J.M. 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.

KELLY, K.M.; VAN STADEN, J. & BELL, W.E. 1992. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regulation* 11: 201-209.

KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica, ed. Universidade Rural do Rio de Janeiro. 194 p.

KLEIN, R.M. 1969. Árvores nativas da Ilha de Santa Catarina. *Ínsula* 3: 3-93.

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.

- KOSZO, C.R.R.; RINALDI, M.C.S. & BARBEDO, C.J. 2007. Germinação de sementes de *Erythrina speciosa* Andr. e *Eugenia brasiliensis* Lam. em meio ácido. *Hoehnea* 34: 271-282.
- LEYTHON, S. & JÁUREGUI, D. 2008. Morfología de la semilla y anatomía de la cubierta seminal de cinco especies de *Calliandra* (Mimosoideae) presentes en Venezuela. *Revista Biología Tropical* 56: 1075-1086.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 1992. Nova Odessa: Plantarum. v.1. 352p.
- MA, F.; CHOLEWA, E.; MOHAMED, T.; PETERSON, C.A. & JZEN, M.G. 2004. Cracks in the palisade cuticle of soybean seed coats correlate with their permeability to water. *Annals of Botany* 94: 213-228.
- MALAVASI, M.M. 1988. Germinação de sementes. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. (Coord.). Manual de análise de sementes florestais. Campinas: Fundação Cargill. p. 25-40.
- 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.
- MORRISON, D.A.; MCCLAY, K.; POTEW, 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.
- MORENO-CASASOLA, P.; GRIME J.P. & MARTÍNEZ, 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.

- NASSIF, S.M.L.; VIEIRA, I.G. & FERNANDES, G.D. 1998. Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes. Informativo Sementes. IPEF.
- NAKANISHI, H. 1998. Dispersal ecology of the maritime plants in the Ryukyu Islands. *Japan Ecological Research* 3: 163-173.
- NAKAMURA, A.T. & OLIVEIRA, D.M.T. 2005. Morfoanatomia e ontogênese da sâmara de *Pterocarpus violaceus* Vogel (Fabaceae: Faboideae). *Revista Brasileira Botânica* 28: 375-387.
- NOGUEIRA, E.M.L. & ARRUDA, V.L.V. 2006. Frutificação e danos em frutos e sementes de *Sophora tomentosa* L. (Leguminosae, Papilionoideae) em restinga da praia da Joaquina, Florianópolis, SC. *Biotemas* 19: 41-48.
- NOGUEIRA, E.M.L. & ARRUDA, V.L.V. 2006. Fenologia reprodutiva, polinização e sistema reprodutivo de *Sophora tomentosa* L. (Leguminosae, Papilionoideae) em restinga da praia da Joaquina, Florianópolis, SC. *Biotemas* 19: 29-36.
- 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 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.
- O'BRIEN, T.P.; FEDER, N. & McCULLY, M.E. 1964. Polyehromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59: 368-373.
- PENA, R.C.; ITURRIAGA, L.; MONTENEGRO, G. & CASSELS, B.K. 2000. Phylogenetic and Biogeographic *Edwardsia* (Papilionatae). *Pacific Science* 54: 159-167.

- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. & AGUIAR, I.B. 1993. Maturação e dispersão de sementes. In: Sementes florestais tropicais. (Aguiar, I.B.; Pina-Rodrigues, F.C.M.; Figliolia, M.B.,orgs.). ABRATES, Brasília 215-274.
- PEREZ, S.C.G.A. 2004. Envoltórios. Capítulo 7. In: Germinação do básico ao aplicado. (A.G. Ferreira & F. Borguetti, orgs.) Artmed, Porto Alegre. p. 125-134.
- PONTES, M.R. 2008. Seed formation in two species of *Adesmia* (Fabaceae):co-occurrence of micropylar and lateral endosperm haustoria in legumes and its taxonomic value. Botanical Journal of the Linnean Society 158: 602–612.
- QUINLIVAN, B.J. 1966. The relationship between temperature fluctuations and the softening of hard seeds of some legumes species. Austalian Journal of Agricultural Research 17: 625-631.
- RODERJAN, C.V.; GALVÃO, F.; KUNIYOSHI, Y.S. & HATCSHBACH, G.G. 2002. As unidades fitogeográficas do estado do Paraná. Ciência e Ambiente 1: 75-92.
- ROLSTON, M.P. 1978. Water impermeable seed dormancy. The Botanical Review 44: 365-96.
- RUTER, J.M. & INGRAM, D.L. 1990. Effect of scarification on germination of *Sophora secundiflora* seeds. Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society 40: 423-426.
- RUZIN, S.E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. New York, Oxford University Press. 322p.
- SANTOS, E.C.; GOI, S.R. & NETO, J.J. 2001. Proposta de utilização de *Sophora tomentosa* L. Sub-espécie *littoralis* (Schrad) Yakove para a recuperação de áreas degradadas com resíduo industrial salino. Floresta e Ambiente 8: 216-218.
- 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 Forestalis* 69: 77-83.

SAUTU, A.; BASKIN, J.M.; BASKIN, C.C.; DEAGO, J. & CONDIT, R. 2007. Classification and ecological relationships of seed dormancy in a seasonal moist tropical forest, Panama, Central America. *Seed Science Research* 17: 127-140.

SCHMIDLIN, L.A.J.; ACCIOLY, A.; ACCIOLY, P. & KIRCHNER, F.F. (2005) Mapeamento e caracterização da vegetação da Ilha de Supergui utilizando técnicas de geoprocessamento. *Floresta* 35: 303-315.

SCARANO, F.R. 2000. Marginal plants: functional ecology at the Atlantic forest periphery. Pp. 176-182. In: T. B. Cavalcanti e B. M. T. Walter (eds.). *Tópicos Atuais em Botânica*. Embrapa/Sociedade Botânica do Brasil.

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 Modenesi *Canadian Journal of Botany* 71: 834-840.

SERRATO-VALENTI, C.; DE VRIES, M. & CORNARA, L. 1995. The hilar region of *Leucaena leucocephala* Lam. (De Wit) seeds: structure, histochemistry and the role of the lens in germination. *Annals of Botany* 75: 569-574.

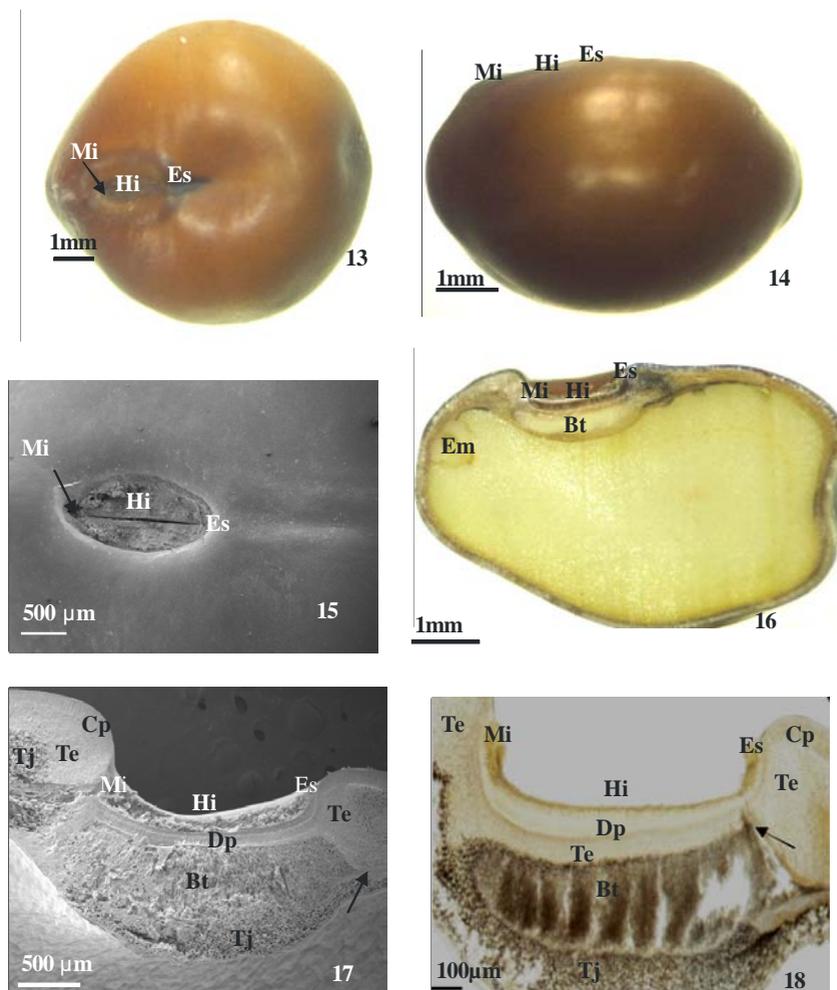
SOUZA, T.V. 2010. Dormência em sementes de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa. Florianópolis, SC. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 71p.

SOUZA, F.H.D. & MARCOS-FILHO, J. 2001. The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 365-375.

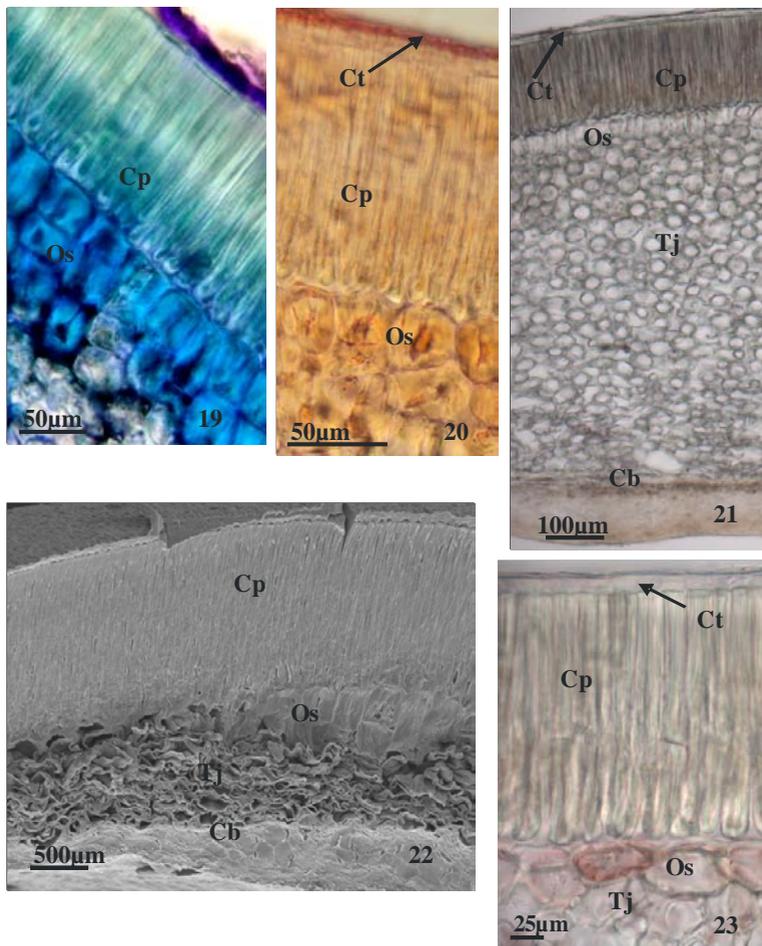
SOUZA, L.A. 1982. Estrutura do tegumento das sementes de *Cassia cathartica* Mart. (Leguminosae). *Ciência e Cultura* 34: 71-74.

- SMITH, M.; WANG, T.; BEN, S.P. & MSANGA, H.P. 2003. Dormancy and Germination, 149-176 In: Vozzo, J.A. (Ed.) Tropical Tree Seed Manual. Washington, USDA Forest Service's/Reforestation, Nurseries and Genetics Resources.
- TEIXEIRA, S.P. & CORRÊA, V.M.A. 2007. Morfoanatomia do envoltório seminal de espécies brasileiras de *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae) *Rodriguésia* 58: 265-273.
- TORRES, I.C. 2008. Presença e tipos de dormência em sementes de espécies arbóreas da Floresta Ombrófila Densa. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- THOMPSON, K. 1992. The functional ecology of seed banks. In: *Seeds: The ecology of regeneration in plant communities*, (ed. M. Fenner), 231-259. CAB International, Wallingford.
- 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.
- 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.
- VAVRČIK, H.; GRÝC, V. & RYBNÍČR, M. 2007. Fluorescence microscopy utilization for lignin detection in wooden cell walls in spruce. *Climatology and Ecology. A technical note* 149-153.
- WANG, Y.T. 1991. Enhanced germination of *Sophora secundiflora* seeds. *Subtropical Plant Science* 44: 37-39.
- WERKER, E. 1997. Seed anatomy. Gebrüder Borntraeger, Berlin 430p.
- ZAMITH, L.R.; SACARANO, F. R. 2004. Produção de mudas de espécies das restingas do município do Rio de Janeiro. *Acta Botanica Brasílica* 18: 161-176.

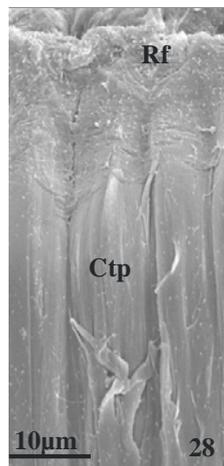
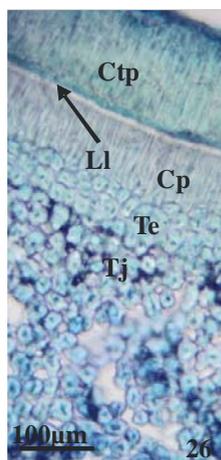
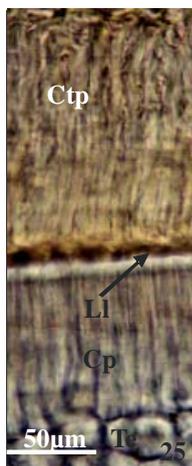
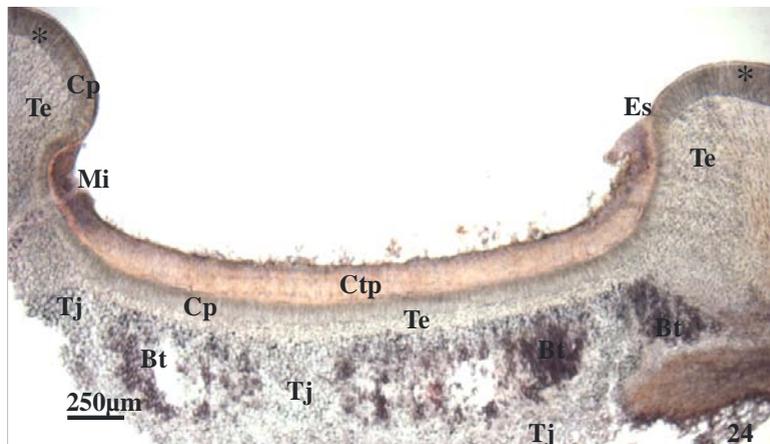
## ILUSTRAÇÕES



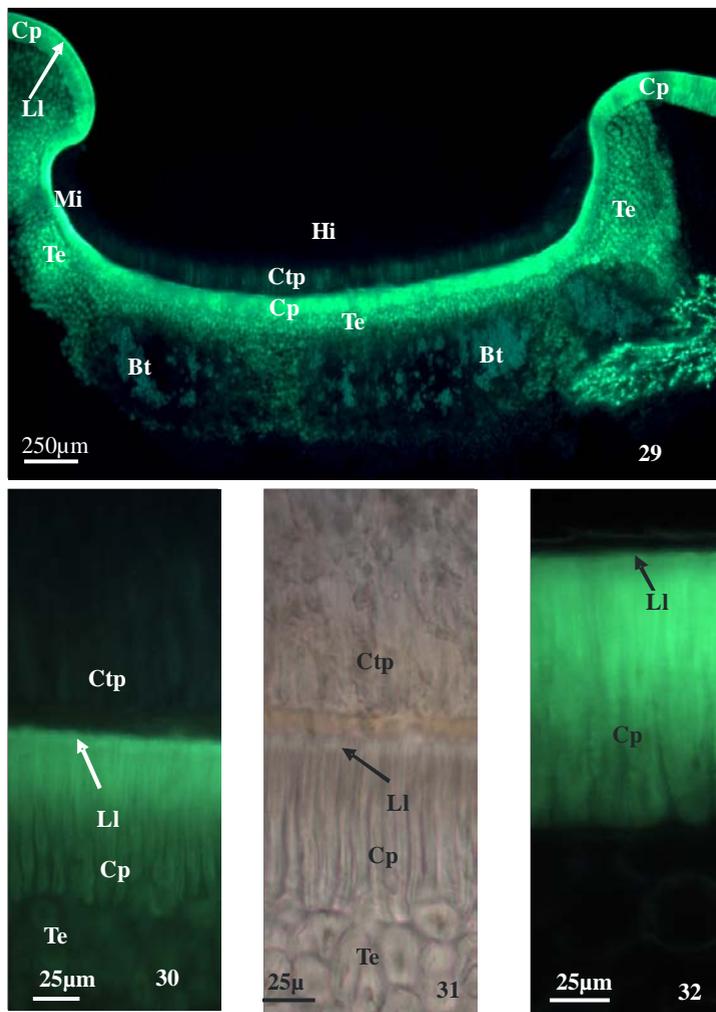
**Fig. 13-18.** Sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae-Papilionoideae). **13.** Aspecto geral externo da região basal. **14.** Aspecto geral externo, em vista lateral. **15.** Detalhe de vista externa da região hilar. **16-18.** Seções longitudinais destacando a região hilar (Mi, Hi, Es) e tecidos subjacentes; setas indicam feixe vascular. **13-14, 16.** Microscopia Estereoscópica. **15, 17.** Microscopia Eletrônica de Varredura. **18.** Microscopia Óptica. Legenda: Bt- Barra traqueídes; Cp- Camada paliçádica; Dp- dupla paliçada; Em- embrião; Es- estrofiolo; Hi- hilo; Mi- micrópila; Te- tecido esclerenquimático; Tj- tecidosponjosos.



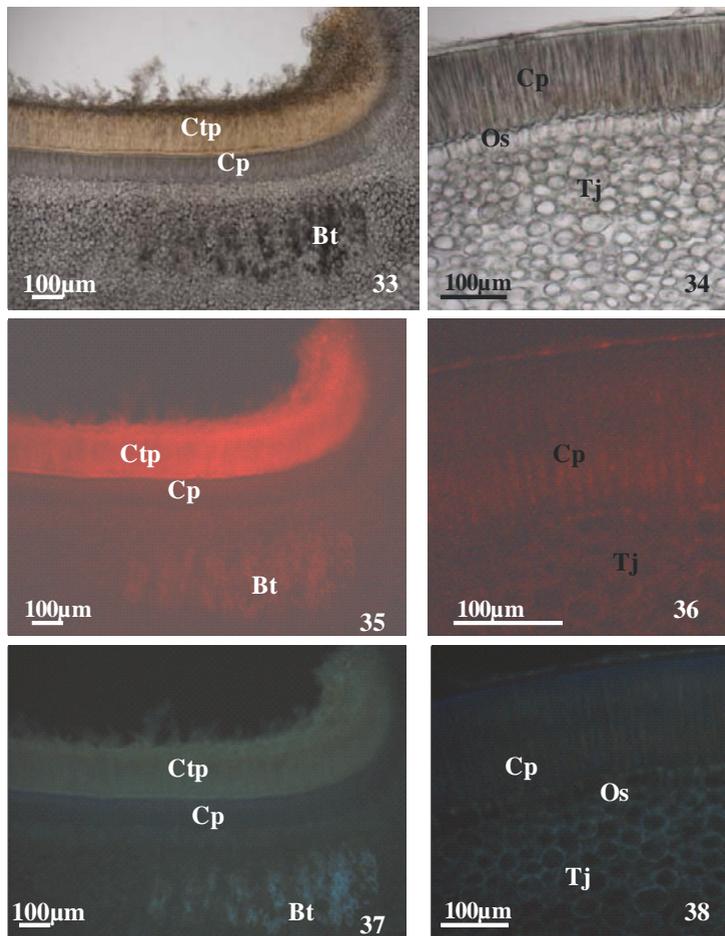
**Fig. 19-23.** Secções longitudinais na região extra-hilar de sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae–Papilionoideae), evidenciando os tecidos periféricos. **19.** Reação com azul de toluidina; reação positiva à presença de lignina nas macroesclerídeos. **20.** Reação positiva ao sudan, indicando cutícula espessa. **21-22.** Região próxima ao estrofiolo. **23.** Região próxima à micrópila; células com características de transição entre o tecido esclerenquimático (presente na região hilar) e os osteoesclerídeos. **19-21, 23.** Fotomicrografias **22.** Eletromicrografia. Legenda: Cp- Camada paliádica; Cb- células brancas; Ct- cutícula; Os- Osteoesclerídeos; Tj- tecido esponjoso.



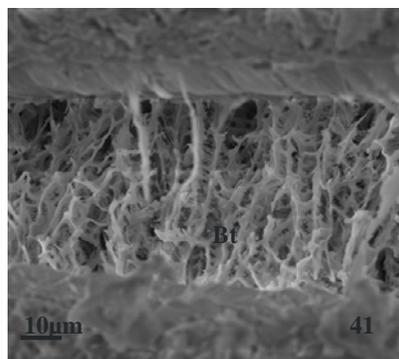
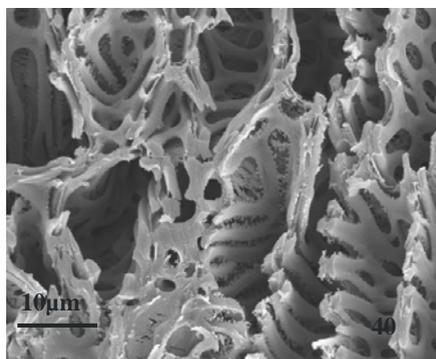
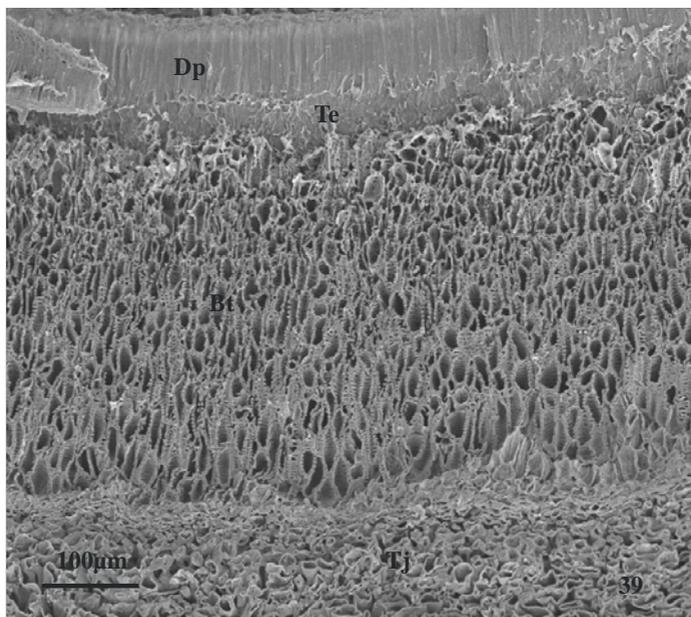
**Figuras 24-28.** Sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae– Papilionoideae). **24-27.** Microscopia óptica. **28.** Microscopia eletrônica de varredura. **24.** Seção longitudinal da semente, abrangendo a região hilar (porção central) e região extra-hilar (lateralmente, indicadas por \*). **25-26.** Detalhe dos tecidos periféricos da região hilar em seccção longitudinal. **25.** Amostra sem reagente. **26.** Reação das paredes das macrosclereídes da contrapaliçada com azul de toluidina, exceto linha lúcida. **27.** Macrosclereíde dissociada. **28.** Detalhe da parte superior das macrosclereídes da camada paliçada revestida por células colapsadas, remanescentes do funículo. Legenda: Bt- Barra traqueídes; Ctp- Contrapaliçada; Cp- Câmara paliçada; Dp- dupla paliçada; Em- embrião; Es- estrofíolo; Hi- hilo; Mi- micrópila; Rf- remanescentes do funículo, Te- tecido esclerenquimático; Tj- tecido esponjoso.



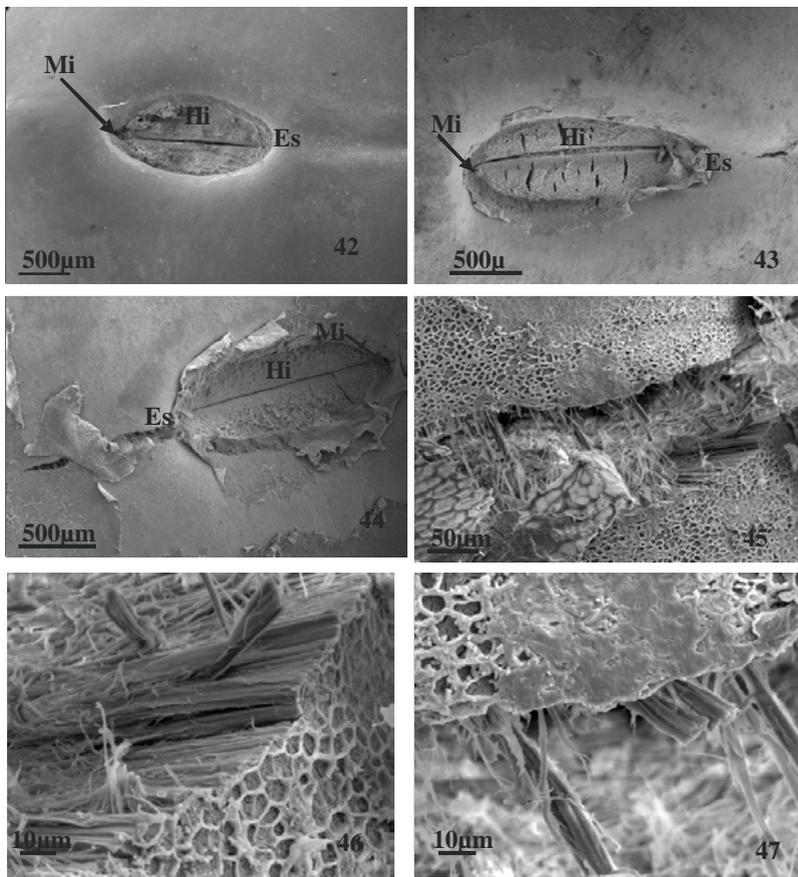
**Fig. 29-32.** Seções longitudinais de sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae–Papilionoideae), em reação com azul de anilina, observadas em microscopia de fluorescência. **29.** Aspecto geral da região hilar. **30.** Detalhe da dupla paliçada, evidenciando fluorescência somente na camada paliçádica, mais acentuada na linha lúcida. **31.** Fotomicrografia da mesma região, obtida no mesmo microscópio, porém sem uso de fluorescência. **32.** Detalhe da camada paliçádica da região extra-hilar mostrando fluorescência mais acentuada na região da linha lúcida. Setas indicam linha lúcida. Legenda: Bt- Barra traqueídes; Cp- Camada paliçádica; Ctp- Contra paliçada; Hi- hilo; Mi- micrópila; Te- tecido esclerenquimático.



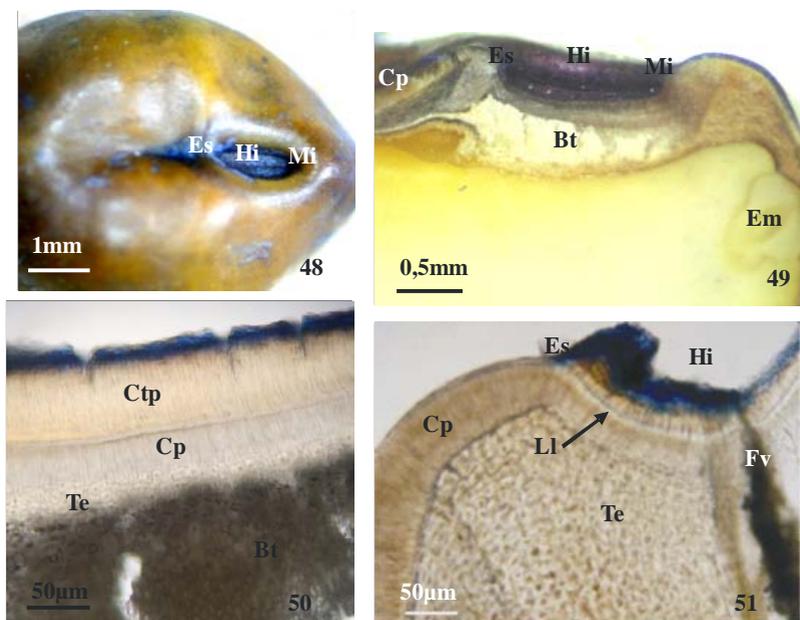
**Fig. 33-38.** Secções longitudinais de sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae – Papilionoideae), em tampão de fosfato de potássio e analisadas em microscopia de fluorescência. **33, 35 e 37.** Tecidos da região hilar, observados em diferentes comprimentos de onda. **34, 36 e 38.** Tecidos da região extra-hilar observados em diferentes comprimentos de onda. **33-34.** Luz comum. **38-39.** Comprimento de onda vermelho indicado para lignina (Excitação = 510 a 550nm e Emissão = 590nm). **37-38.** Comprimento de onda azul indicado para calose (Excitação = 330 à 385nm e Emissão = 420nm). Legenda: Bt- Barra traqueídes; Ctp- Contrapaliçada; Cp- Camada paliçada; Dp- dupla paliçada; Hi- hilo; Os- osteoesclereídes; Te- tecido esclerenquimático; Tj- tecido esponjoso.



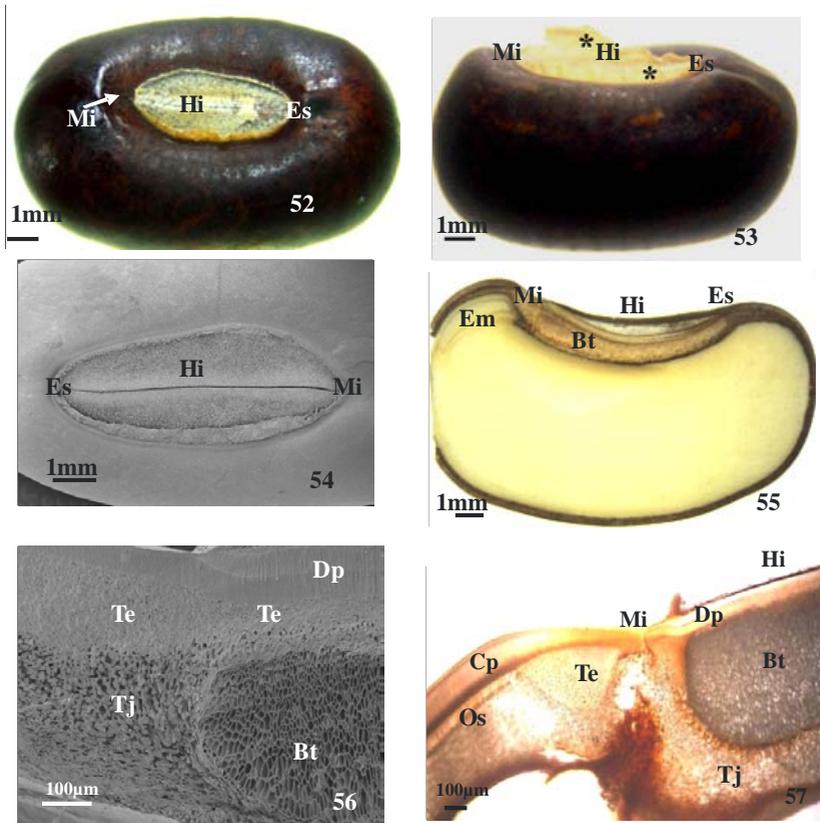
**Fig. 39-41.** Sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae–Papilionoideae), destacando a barra de traqueídes, observadas em microscopia eletrônica de varredura. **39.** Aspecto geral de secção longitudinal na região hilar. **40.** Detalhe das traqueídes em secção longitudinal. **41.** Vista frontal externa da fissura hilar mostrando as traqueídes, quando sementes são escarificadas termicamente, rompendo os tecidos mais externos. Legenda: Bt- Barra de traqueídes; Dp- Dupla paliçada; Te- Tecido esclerenquimático; Tj- tecido esponjoso.



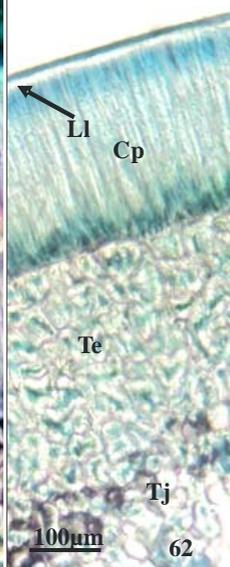
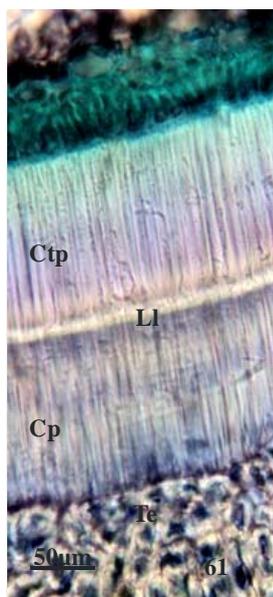
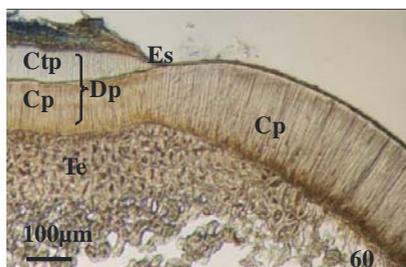
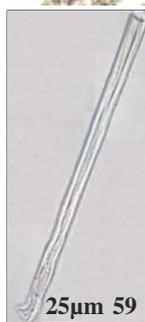
**Fig. 42-47.** Vistas frontais da região hilar de sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae–Papilionoideae) em microscopia eletrônica de varredura. **42.** Controle. **43-47.** Tratadas por escarificação térmica, evidenciando rompimento estrutural. **43-44.** Estrofiolo rompido e fissuras no hilo. **45.** Detalhe da região em que o rompimento liga o estrofiolo ao hilo. **46-47.** Detalhe das macroscleereídes expostas após escarificação térmica. Setas indicam micrópila. Legenda: Es- estrofiolo; Hi- hilo; Mi- micrópila.



**Fig. 48-51.** Sementes de *Sophora tomentosa* L. (Fabaceae-Papilionoideae) escarificadas termicamente por 5min, a 96°C e imersas em solução 1% anilina durante 12h. **48-49.** Microscopia estereoscópica. **50-51.** Microscopia óptica. **48.** Vista geral externa, destacando a região hilar. **49-51.** Seções longitudinais na região hilar. O corante não ultrapassou a contrapaliçada. Seta indica linha lúcida. Legenda: Bt- Barra traqueídes; Cp- Camada paliçada, Ctp- contrapaliçada; Es- estroffolo; Fv- Feixe vascular; Hi- Hilo; Ll- linha lúcida; Mi- Micrópila; Te- tecido esclerenquimático.

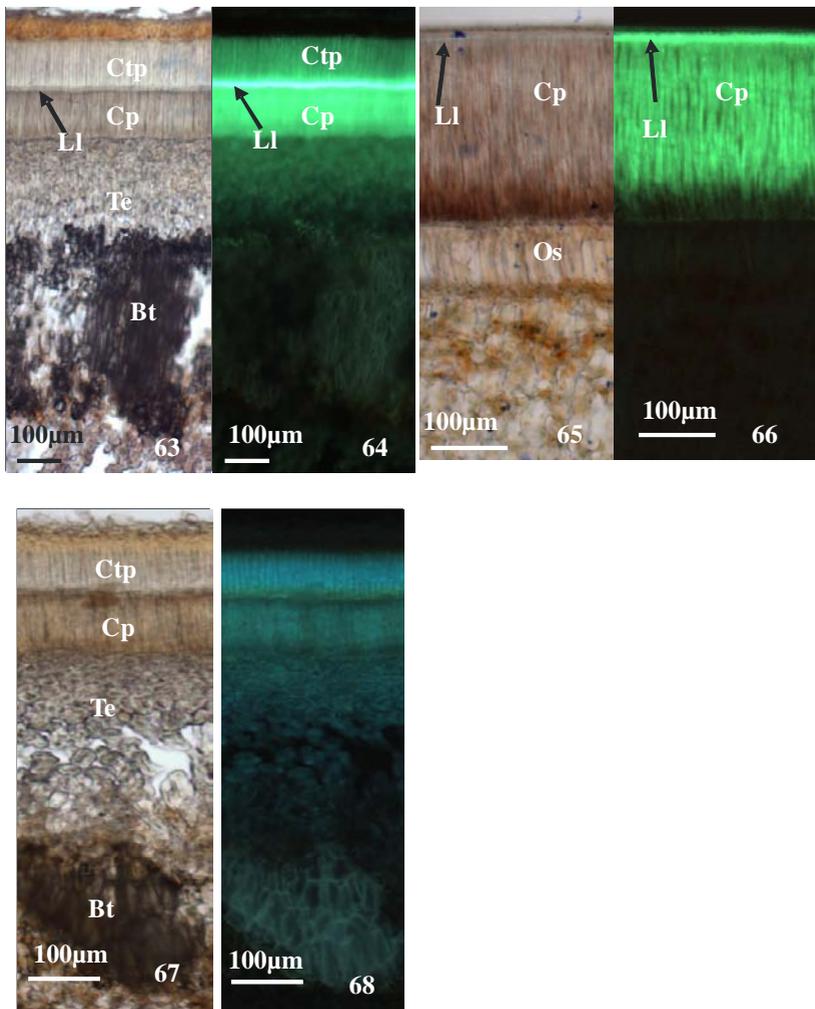


**Fig. 52-57.** Sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae). **52-53.** Aspecto geral externo em microscópio es.cieoscópico. **52.** Vista frontal da região basal. **53.** Vista lateral evidenciando vestígios funiculares(\*) contornando o hilo. **54.** Região hilar em vista frontal, em microscopia eletrônica de varredura. **55-57.** Secções longitudinais. **55.** Microscopia Estereoscópica. **56.** Microscopia Eletrônica de Varredura. **57.** Microscopia Óptica. Setas indicam micrópila. Legenda: Bt- Barra traqueídes; Cp- Camada paliçádica; Dp- dupla paliçada; Em- embrião; Es- estrofiolo; Hi- hilo; Mi- micrópila; Te- tecido esclerenquimático; Tj- tecido esponjoso.

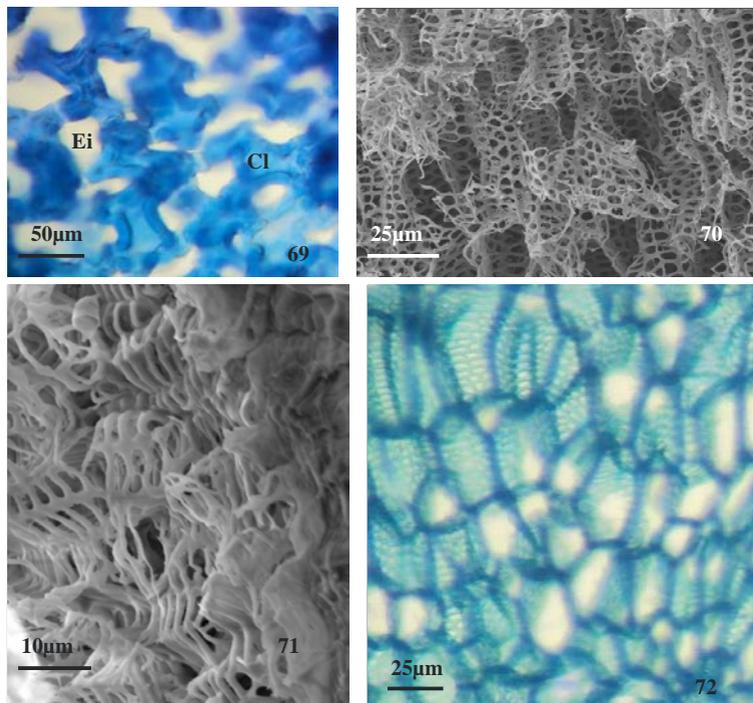


**Fig. 58-62.** Fotomicrografias de sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae–Papilionoideae). 58-60-62. Secções longitudinais. 58. Aspecto geral evidenciando os tecidos de parte da região hilar (esquerda) e extra-hilar (direita). 59. Macroscleireídes dissociadas. 60. Detalhe destacando transição da camada paliçádica de dupla para simples. 61. Detalhe da dupla paliçáda na região hilar. 62. Detalhe da camada paliçádica simples na região extra-hilar. Seta indica linha lúcida.

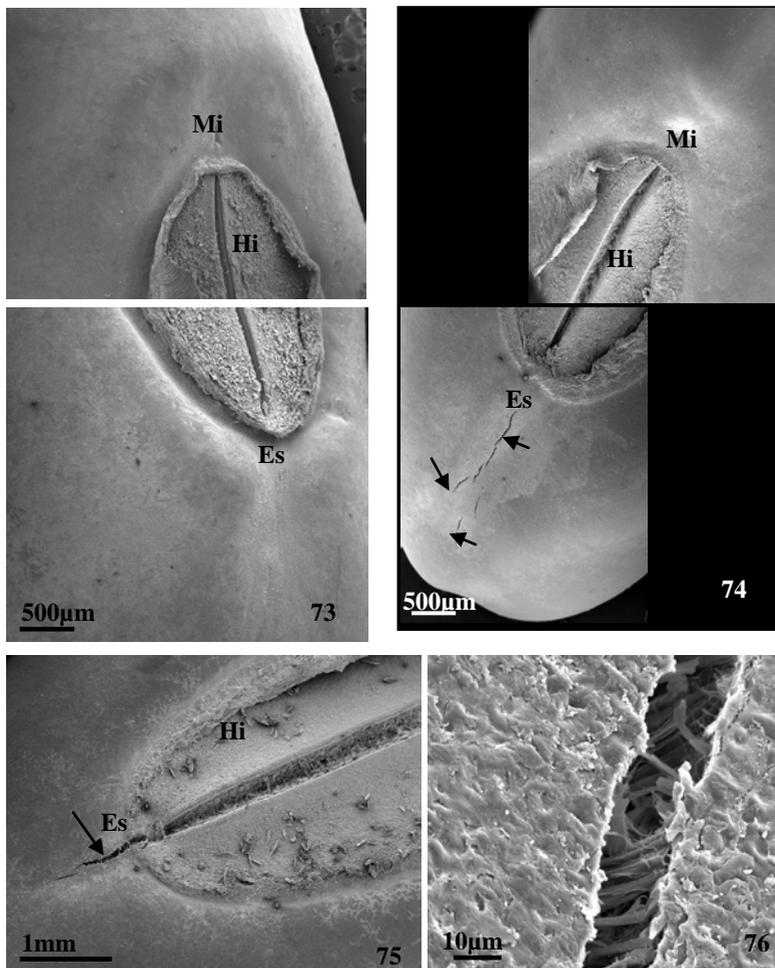
Legenda: Cp- Camada paliçádica; Ctp- Contrapaliçáda; Dp- dupla paliçáda; Es- estrofiolo; LI- Linha lúcida; Mi- micrópila; Os- Osteosclereídes; Te- tecido esclerenquimático; Tj- tecido esponjoso.



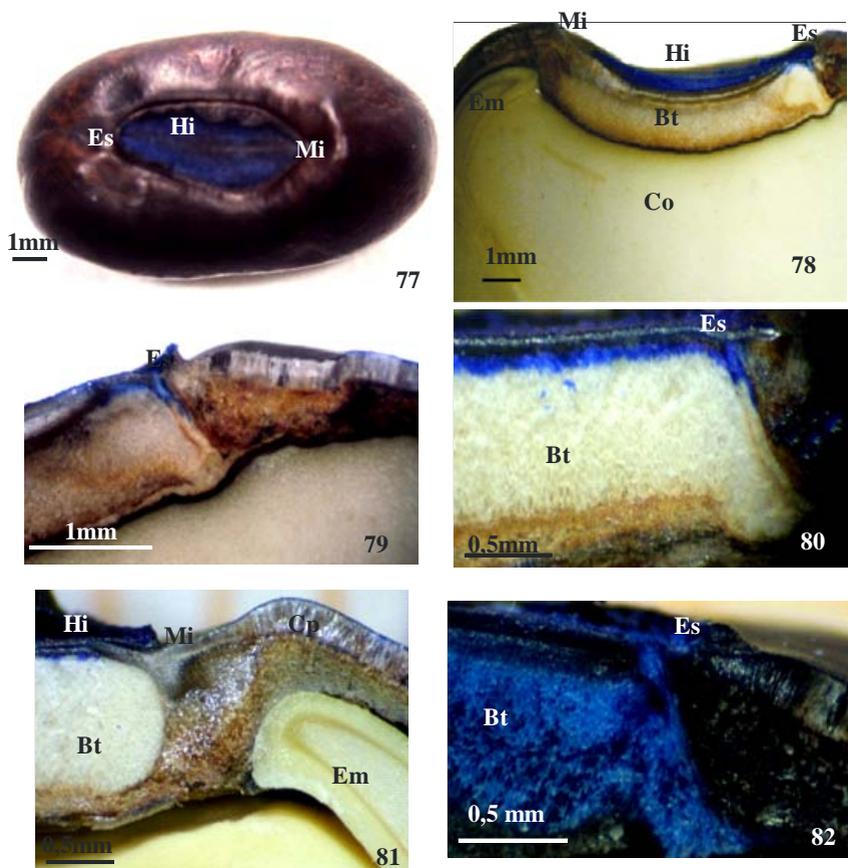
**Fig. 63-68.** Seções longitudinais de sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae–Papilionoideae), microscopia de fluorescência. **63-64 e 67-68.** Região hilar. **69-70.** Região extra-hilar. **67-70.** Amostras utilizando azul de anilina. **67-68.** Amostras somente em tampão de fosfato de potássio. **63, 65 e 67.** Sem uso de fluorescência. **64, 66 e 68.** Com uso de fluorescência (comprimento de onda azul). Legenda: Cp- Camada paliádica; Ctp- Contrapaliádica; Li- Linha lúcida; Os- Osteosclereídes; Te- tecido esclerenquimático; Tj- tecido esponjoso.



**Fig. 69-72.** Secções longitudinais de sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae). **69.** Detalhe das células do tecido esponjoso, em microscopia óptica. **70-72.** Detalhes das células da barra traqueídes, com espessamentos escalariforme. **70-71.** Microscopia eletrônica de varredura. **72.** Com uso de azul de toluidina, em microscopia óptica. Legenda: Cl- célula lobada; Es- espaço intercelular.



**Fig. 73-76.** Sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae – Papilionoideae) analisadas em microscopia eletrônica de varredura. **73.** Detalhe da semente sem escarificação térmica. **74-76.** Sementes que passaram por escarificação térmica a 96°C durante 15min. **74-75.** Detalhe do estrofiolo rompido. **76-** Detalhe da macrosclereídes do estrofiolo **Legenda:** Es- estrofiolo; Hi- Hilo; Mi- micrópila



**Fig. 77-82.** Sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae–Papilionoideae) escarificadas termicamente por 15 min em temperatura 96°C, imersas em solução de anilina 1% e analisadas em microscópio estereoscópico, mostrando o caminho de entrada de água. **77-79.** Sementes imersas na solução por 30 min. **79-80.** Secções longitudinais evidenciando, através da coloração azulada, o caminho de entrada da água, iniciando pelo estroffolo. **80-81.** Secções longitudinais, após 16 h das sementes imersas em solução. O corante começa a avançar do estroffolo para a barra traqueídes, mas não entra pela micrópila. **82.** Detalhe da região do estroffolo, depois de 40h, com a barra de traqueídes totalmente corada com a solução de azul de anilina.

Legenda: Bt- barra de traqueídes; Co- cotilédone; Cp- Camada paliádica; Es- estroffolo; hi- hilo; Mi- micrópila.

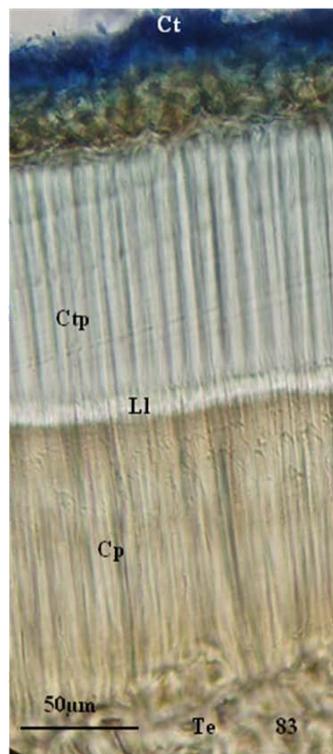


Fig. 85-86. Sementes de *Erythrina speciosa* Andr. (Fabaceae-Papilionoideae) escarificadas termicamente por 15min em temperatura 96 C, imersas em solução de anilina 1% por 16h e analisadas em microscopia óptica. O corante não ultrapassou a linha lúcida, ficando apenas na contra paliçada. Legenda: Bt- Barra de traqueídes; Cp- Camada paliçada; Ctp- contra paliçada; Ct- cutícula; Es- estrofiolo; Fv- Feixe vascular; Te- Tecido esclerenquimático