



SOBR2018

**II Conferência Brasileira
de Restauração Ecológica**

**X Simpósio Brasileiro sobre
Tecnologia de Sementes Florestais**



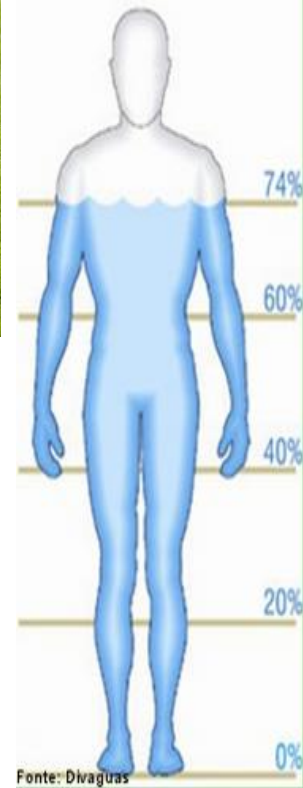
Submersão das sementes recalcitrantes
de *Eugenia stipitata*:
a ecologia dando suporte a tecnologia de sementes

Dr. Geângelo Petene Calvi

Belo Horizonte, MG

Novembro/2018

- Água é vida!



mas seu excesso pode ser problemático...



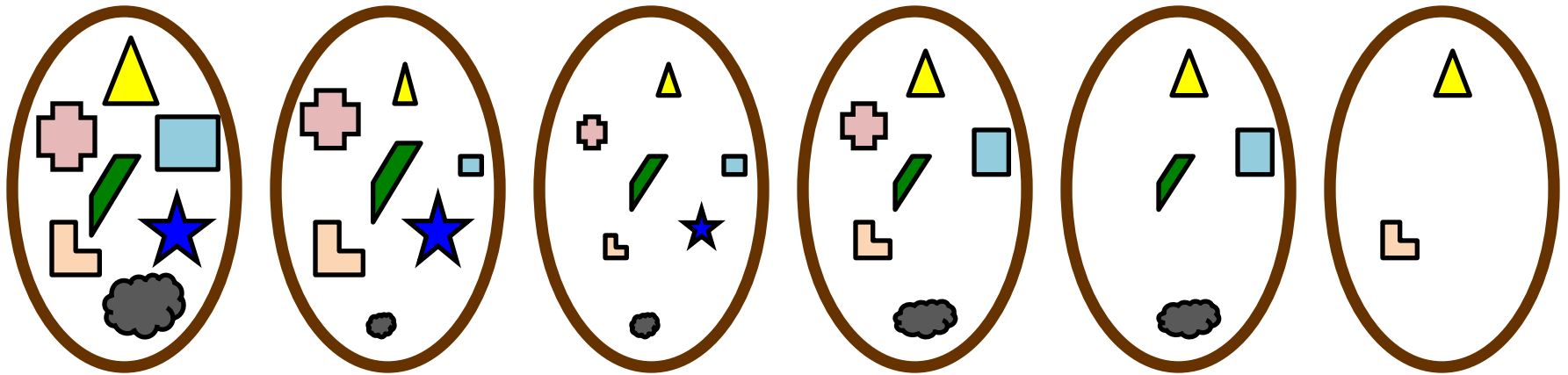
... e deletério para muitas plantas!



- Para as sementes, a inundação pode:
 - restringir oxigênio para o embrião
 - prevenir/retardar a germinação
 - induzir a dormência
 - causar a morte

Porém, muitas espécies se adaptaram para sobreviver onde ocorrem inundações sazonalmente

- Mecanismos de adaptação à submersão



Tolerante

Altamente sensível



Gradiente de tolerância à submersão

- Composição química das sementes poderia determinar a tolerância à submersão?

- *Eugenia inundata* DC.
- *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk.
- *Laetia corymbulosa* Spruce ex Benth.

Carboidratos

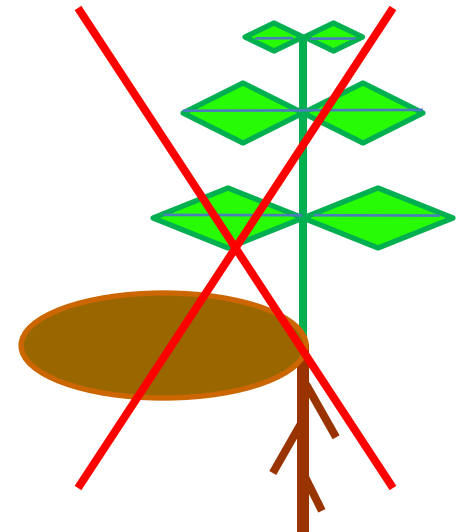
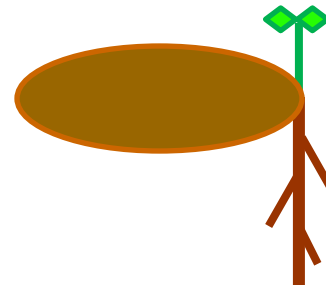
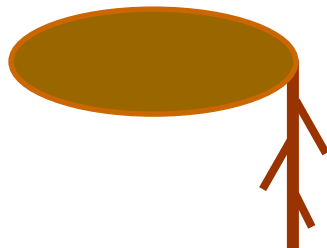
- *Crataeva tapia* L.
- *Pseudobombax munguba* (Mart.) Dugand
- *Simaba guianensis* Aubl.

Lipídios

Altura da coluna
d'água ~3 cm

• Germinação e desenvolvimento de plântula normal

- *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson ¹
- *Crateva benthami* Eichler ²
- *Mora paraensis* (Ducke) Ducke ²
- *Nectandra amazonum* Nees ²
- *Vatairea guianensis* Aubl ²



- As sementes que sobraram do experimento... ¹

Se *mantidas no ambiente* = ou secaram e *morreram*, ou *deterioraram*

Se fossem *submersas* em copos de plástico (300 mL) = permaneceram *viáveis* por, pelo menos, três meses, se a água fosse trocada frequentemente

Possibilidade de
armazenamento das sementes
por meio da submersão

Investigar os aspectos **fisiológicos**,
morfológicos e **bioquímicos** de sementes
de *Eugenia stipitata* spp. *sororia*
submersas em condições de laboratório
simulando
condições naturais



- *Eugenia stipitata* McVaugh (Myrtaceae) – araçá-boi
 - Porte arbustivo
 - Nativa da Amazônia Ocidental ¹
 - Ocorre próximos a grandes rios e áreas alagadas ²



1. Clement (1989). *BioScience*, 39:624-631.

2. Pinedo *et al.* (1981). Notas preliminares sobre el araza (*Eugenia stipitata*), frutal nativo de la Amazonia peruana. MAA-INIA/IICA, Lima, 58p.

- Fruto carnososo com até 22 sementes/fruto ^{1,2,3}
- Espécie com potencial bio-econômico ⁴
- Polpa rica em vitamina C, sabor agradável e consumida na forma de suco, geléias, sorvete, doces...



<http://licoresdaamazonia.com.br/>



www.bombonsfinos.com.br/



<http://www.bombonsfinos.com.br/>

1. McVaugh (1958). *Botanical Series Field Museum of Natural History*, 13:569-818.
2. Ferreira (1992). *Acta Amazonica*, 22:295-302.

3. Gentil e Ferreira (1999). *Acta Amazonica*, 29: 21-31.
4. Calvi e Ferraz (2014). *Inf. ABRATES*. V.24: 24-75

- **Biometria/Morfologia da semente**

- Comprimento: 0,6 - 1,9 cm ¹
- Massa fresca: 0,1 – 1,6 g ¹
- Exalbuminosa: sem endosperma ¹
- Sem eixo embrionário distinto ^{1,2}
- Pseudomonocotiledonar – fusão parcial dos cotilédones ³



Uma única semente pode ser usada para diversos testes ⁴

1. Anjos e Ferraz (1999). *Acta Amazonica*, 29:337-348

2. Mendes (2011). Desenvolvimento e germinação de sementes de *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* Mc Vaugh (araçá-boi): aspectos morfoanatômicos e fisiológicos. Tese UFAM.

3. McVaugh (1956). *Fieldiana: Botanica*. 29(1)

4. Calvi et al. (2017). *Plant Biology* 19: 6-13

- Composição química das reservas
- Sementes amiláceas ¹
 - **76,7% amido**
 - **5,9% proteínas**
 - 3,5% compostos fenólicos
 - 2,0% fibras
 - **1,9% lipídios**
 - 1,4% cinzas



- Sementes sensíveis ao dessecação ^{1,2}
 - Teor de água crítico: 47,1 – 58,8% ¹
 - Teor de água letal: \approx 25,8% ¹
- Outras seis espécies de *Eugenia* ³
 - Teor de água crítico: \pm 45%
 - Teor de água letal: 15 - 20%



Difícil armazenamento!!!

1. Gentil e Ferreira (1999). *Acta Amazonica*, 29:21-31

2. Pinedo *et al* (1981). Notas preliminares sobre el araza (*Eugenia stipitata*), frutal nativo de la Amazonia peruana. Lima, 58p.

3. Delgado e Barbedo (2007). *Pesq. agropec. bras.*, 42:265-272

- **Dormência**

- **Mecânica** ^{1,2,3,4}

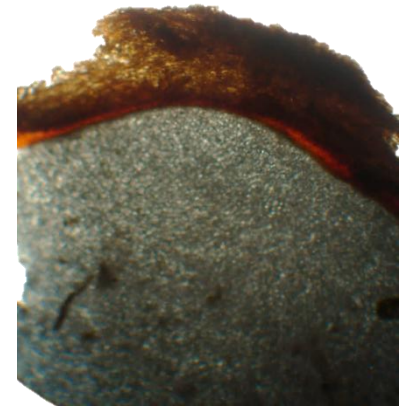
- Retirada total ou parcial do tegumento fibroso aumenta a velocidade de germinação

- **Morfológica ?**

- Ausência do eixo embrionário distinto no momento da dispersão ⁴

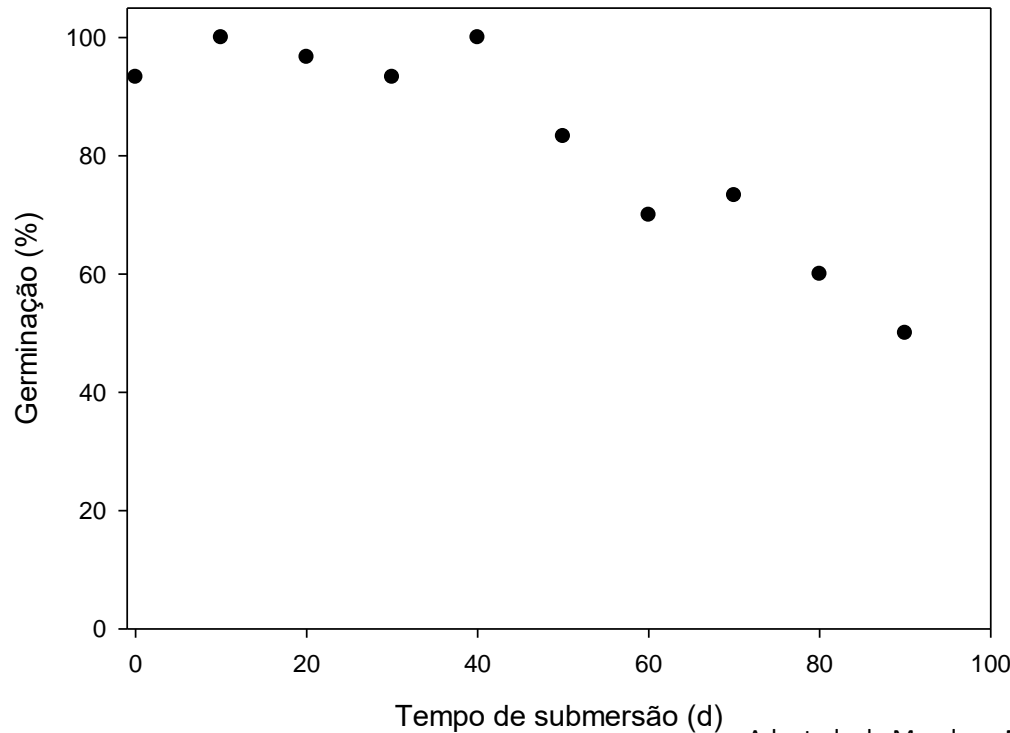
- **Química ?**

- Substâncias inibidoras presentes no envoltório e/ou no embrião ⁵



1. Pinedo *et al.* (1981). Notas preliminares sobre el araza (*Eugenia stipitata*), frutal nativo de la Amazonia peruana. Lima
2. Anjos (1998). Morfologia e fisiologia da germinação de sementes de araçá-boi *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* McVaugh Myrtaceae), uma frutífera nativa da Amazônia Ocidental. Dissertação INPA/UFAM.
3. Gentil e Ferreira (1999). *Acta Amazonica*, 29:21-31 .
4. Anjos e Ferraz (1999). *Acta Amazonica*, 29:337-348
5. Mendes (2011). Desenvolvimento e germinação de sementes de *Eugenia stipitata* ssp. *sororia* Mc Vaugh (araçá-boi): aspectos morfoanatômicos e fisiológicos. Tese UFAM.

- Submersão como pré-tratamento germinativo
 - Lixiviação de compostos inibidores da germinação por até 90 dias
 - Baldes de 18 L com água corrente (mangueira)



Adaptado de Mendes e Mendonça (2012)

Possibilidade de armazenamento das sementes

Deterioração acentuada após 60 dias

Seed Science Research (2017) 27, 121–130
© Cambridge University Press 2017

doi:10.1017/S0960258517000125

Exceptional flooding tolerance in the totipotent recalcitrant seeds of *Eugenia stipitata*

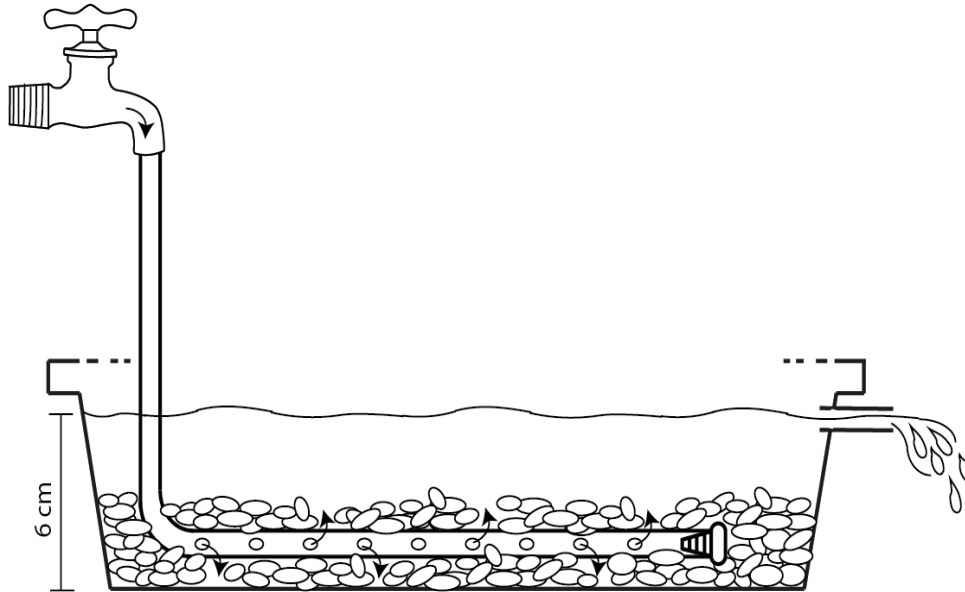
Geângelo P. Calvi^{1*}, Antônio M. G. Anjos^{1,2}, Ilse Kranner^{3,4}, Hugh W. Pritchard³ and Isolde D. K. Ferraz¹

¹National Institute for Amazonian Research (INPA), Biodiversity Coordination, CP 2223, Manaus, 69065-970, AM, Brazil; ²Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation, Flona de Açú, CP 40, Assú, 59650-000, RN, Brazil; ³Royal Botanic Gardens, Kew, Wellcome Trust Millennium Building, Wakehurst Place, Ardingly, West Sussex RH17 6TN, UK; ⁴Department of Botany and Centre of Molecular Biosciences (CMBI), University of Innsbruck, Sternwartestraße 15, A-6020 Innsbruck, Austria

(Received 25 November 2016; accepted after revision 4 April 2017)

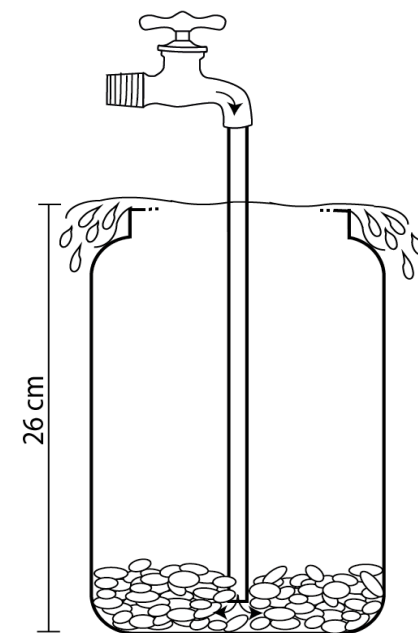
- Submersão das sementes como método para armazenamento

Lote 1



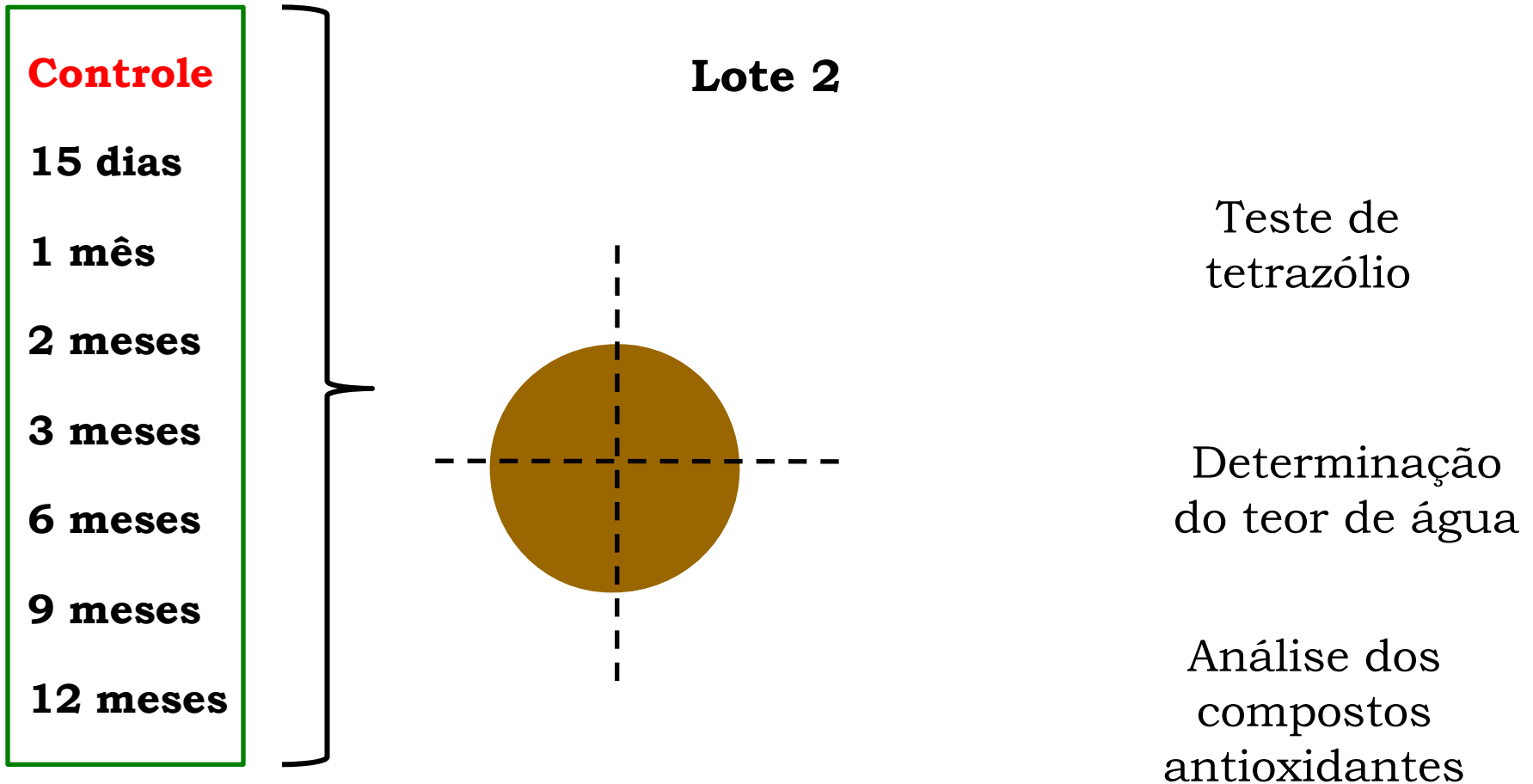
- **Vazão:** $0,01 \text{ L seg}^{-1}$
- **pH:** 5,7
- **Oxigênio dissolvido:** $6,3 \text{ mg L}^{-1}$

Lote 2



- **Temperatura:**
 - Mínima $21,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$
 - Máxima $26,0 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Uso de uma única semente para diversos testes ¹





Available online at www.sciencedirect.com



Free Radical Biology & Medicine 40 (2006) 2155–2165



www.elsevier.com/locate/freeradbimed

Original Contribution

Glutathione half-cell reduction potential: A universal stress marker and modulator of programmed cell death?

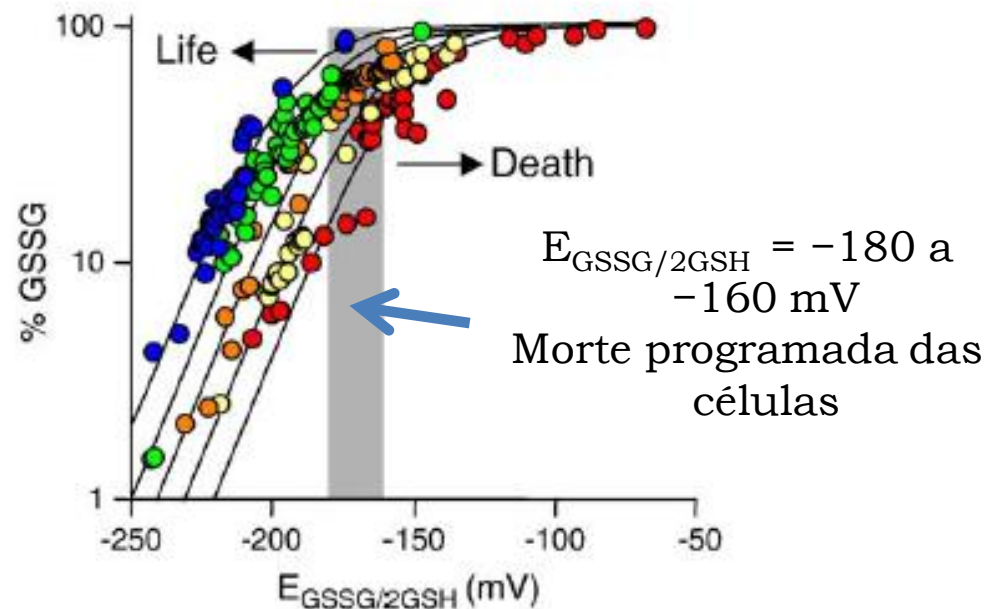
Ilse Kranner *, Simona Birtić, Kim M. Anderson, Hugh W. Pritchard

Seed Conservation Department, Royal Botanic Gardens, Kew, Wakehurst Place, West Sussex RH17 6TN, UK

$$E_{\text{GSSG}/2\text{GSH}} = E^{0\text{pH}} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{GSH}]^2}{[\text{GSSG}]}$$

$$E^{0\text{pH}} = \left(E^{0'} + (\text{pH} - 7) \times \frac{\Delta E}{\Delta \text{pH}} \right)$$

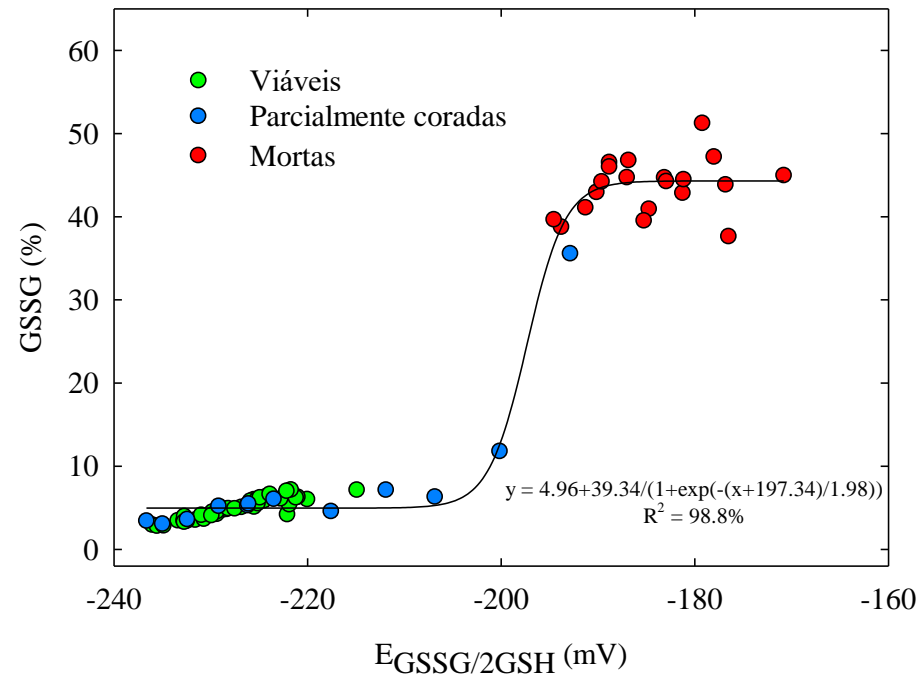
Dados de >250 observações com diferentes espécies, tecidos e tratamentos



Glutationa = bom marcador de viabilidade em sementes de *E. stipitata* ¹

Viáveis e mortas separadas pelos $E_{GSSG/2GSH}$

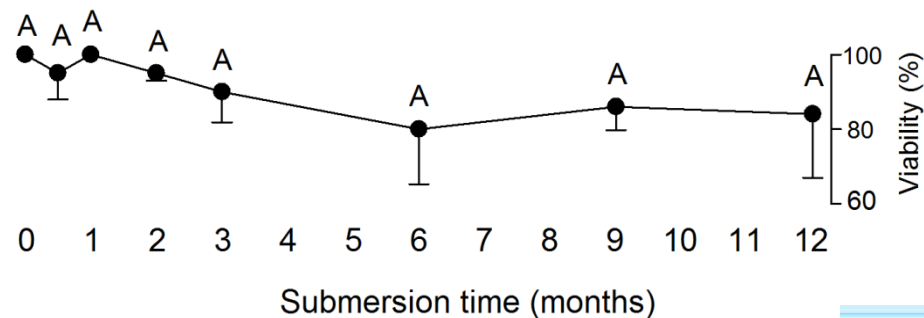
Parcialmente coradas - valores intermediários



Adaptado de Calvi *et al.* (2017)

Uso de uma única semente para diversos testes

| Flooding time (months) | MC (%) | GSH (nmol gDW ⁻¹) | GSSG (nmol gDW ⁻¹) | GSSG (%) | E _{GSSG/2GSH} pH 7.3 (mV) | | | | |
|------------------------|---------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------|------------------------------------|---------------|--|---------------|--|
| 0 | 59.2 ± 1.26 a | 623.594 ± 63.43 b | 19.297 ± 3.61 ab | 3.0 ± 0.29 a | -215.1 ± 0.96 ab | | | | |
| 0.5 | 59.7 ± 1.33 a | 603.230 ± 52.78 b | 35.970 ± 5.05 bc | 5.7 ± 0.94 bc | -206.3 ± 3.24 bc | | | | |
| 1 | 57.7 ± 1.57 a | 643.141 ± 70.71 b | 24.120 ± 7.52 ab | 3.7 ± 1.46 ab | -213.7 ± 6.54 b | | | | |
| 3 | 61.0 ± 2.87 a | 780.345 ± 50.30 ab | 50.042 ± 8.14 c | 6.1 ± 1.25 c | -208.4 ± 3.29 bc | | | | |
| 3* | 63.6 ± 0.60 a | 751.052 ± 12.38 ab | 46.310 ± 7.06 c | 5.8 ± 0.92 bc | -207.9 ± 2.23 bc | | | | |
| 12 | 59.0 ± 3.82 a | 879.680 ± 113.45 a | 18.700 ± 4.74 a | 2.1 ± 0.58 a | -224.4 ± 4.73 a | | | | |
| 12* | 65.7 ± 6.34 a | 617.180 ± 119.61 b | 46.109 ± 9.75 c | 6.9 ± 0.47 c | -202.4 ± 2.45 c | | | | |
| LSD: 8.6 | | LSD: 208.05 | | LSD: 17.60 | | LSD: 212.05 | | LSD: 9.30 | |
| CV (%): 5.78 | | CV (%): 11.80 | | CV (%): 20.22 | | CV (%): 11.46 | | CV (%): -1.81 | |



Adaptado de Calvi *et al.* (2017)

Uso de uma única semente para diversos testes

| Flooding time (months) | MC (%) | GSH (nmol gDW ⁻¹) | GSSG (nmol gDW ⁻¹) | GSSG (%) | E _{GSSG/2GSH} pH 7.3 (mV) |
|------------------------|---------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------|------------------------------------|
| 0 | 59.2 ± 1.26 a | 623.594 ± 63.43 b | 19.297 ± 3.61 ab | 3.0 ± 0.29 a | -215.1 ± 0.96 ab |
| 0.5 | 59.7 ± 1.33 a | 603.230 ± 52.78 b | 35.970 ± 5.05 bc | 5.7 ± 0.94 bc | -206.3 ± 3.24 bc |
| 1 | 57.7 ± 1.57 a | 643.141 ± 70.71 b | 24.120 ± 7.52 ab | 3.7 ± 1.46 ab | -213.7 ± 6.54 b |
| 3 | 61.0 ± 2.87 a | 780.345 ± 50.30 ab | 50.042 ± 8.14 c | 6.1 ± 1.25 c | -208.4 ± 3.29 bc |
| 3* | 63.6 ± 0.60 a | 751.052 ± 12.38 ab | 46.310 ± 7.06 c | 5.8 ± 0.92 bc | -207.9 ± 2.23 bc |
| 12 | 59.0 ± 3.82 a | 879.680 ± 113.45 a | 18.700 ± 4.74 a | 2.1 ± 0.58 a | -224.4 ± 4.73 a |
| 12* | 65.7 ± 6.34 a | 617.180 ± 119.61 b | 46.109 ± 9.75 c | 6.9 ± 0.47 c | -202.4 ± 2.45 c |
| LSD: 8.6 | | LSD: 208.05 | LSD: 17.60 | LSD: 212.05 | LSD: 9.30 |
| CV (%): 5.78 | | CV (%): 11.80 | CV (%): 20.22 | CV (%): 11.46 | CV (%): -1.81 |



Adaptado de Calvi *et al.* (2017)

Avaliação da germinabilidade após a submersão

Lote 1

Tempo: 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 12 meses

Lote 2

Tempo: 0.5, 1, 2, 3, 6, 9 e 12 meses

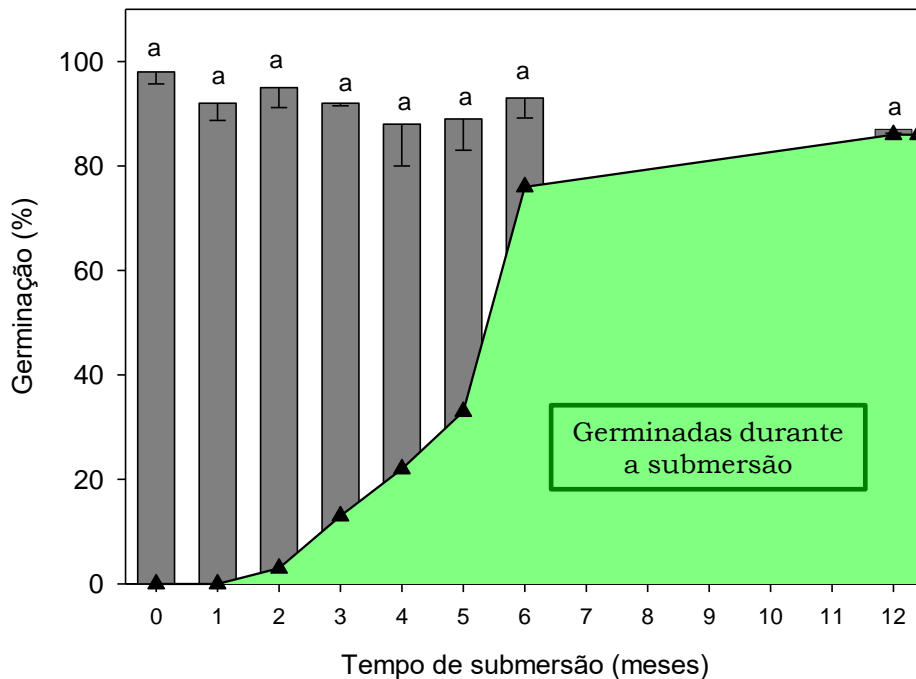
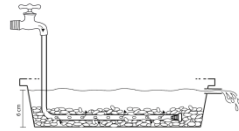
Germinação final (%)

Tempo Médio de Germinação

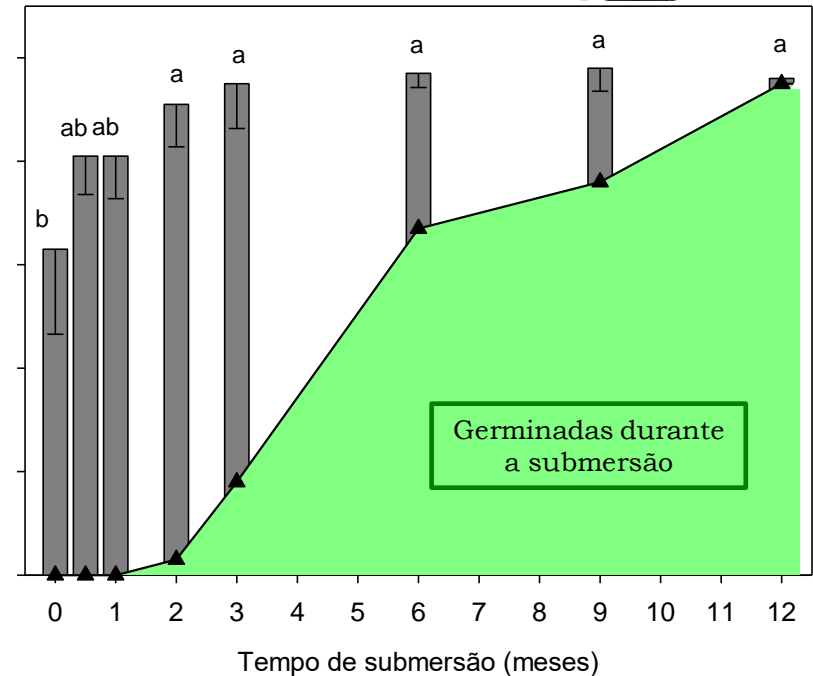
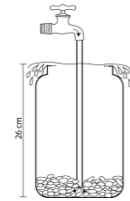


- Sementes sobreviveram por até um ano submersas em água independente da coluna d'água

Lote 1



Lote 2



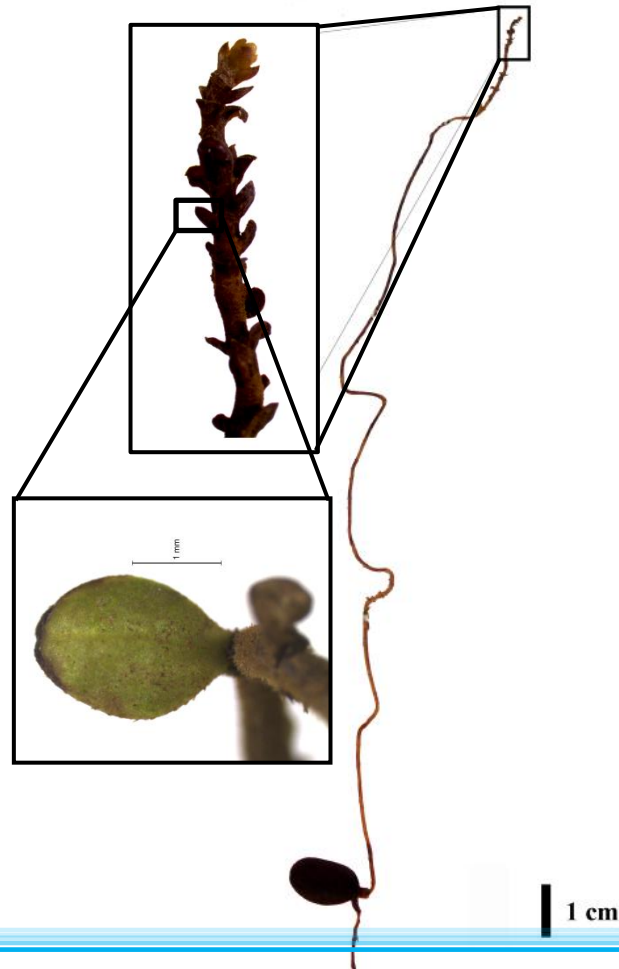
Germinação durante armazenamento é indesejável!

... porém a morfologia das plântulas foi afetada pela submersão






Viveiro



Submersas



- Semente com alto poder regenerativo ^{1,2,3}

| Tratamentos | | Anjos e Ferraz (1999) | Mendes e Mendonça (2012) | Calvi <i>et al.</i> (2017) | Incremento na produção de raízes a partir de uma semente (vezes) |
|----------------------|---|-----------------------|--------------------------|----------------------------|--|
| Intacta |  | 68 | 90 | 62 | 1,00 |
| Corte dos dois pólos |  | 77 | - | 94 | 1,52 |
| Corte longitudinal |  | - | 105 | 113 | 1,82 |
| Corte transversal |  | 109 | 82,5 | 64 | 1,03 |
| Corte duplo |  | - | - | 128 | 2,06 |



Avaliação de uma segunda germinação

| | |
|-------------------|-------|
| Vermiculita úmida | 15 °C |
| Vermiculita úmida | 25 °C |
| Submersas | 25 °C |

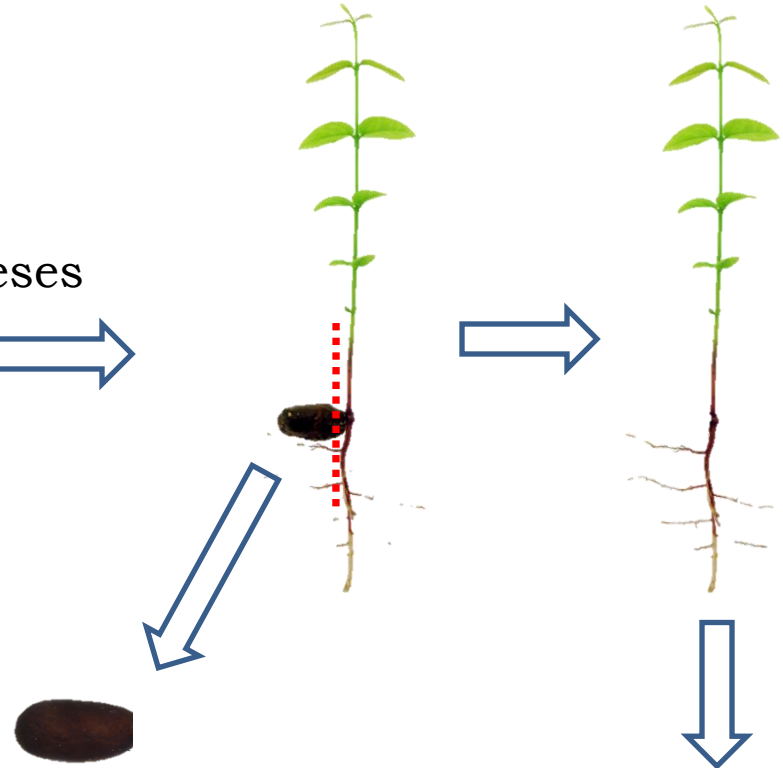
6 meses

9 meses

Germinação (%)

- Raiz
- Plântulas normais

Sacos de plásticos no viveiro e avaliada a sobrevivência após 90 dias



Avaliação de uma segunda germinação

| Tratamento | 1ª Germinação após 6 meses (%) | | | Sobrevivência das plântulas separadas (%) | | | 2ª Germinação | | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|--------|---|--|---------|---|---------------|---------|---|-----------------------------|--------|---|
| | | | | | | | Raiz (%) | | | Plântulas normais (%) | | |
| Vermiculita 15 °C | 100 | ± 0,00 | a | 87,0 | ± 2,83 | a | 96,7 | ± 4,74 | a | 86,7 | ± 9,41 | a |
| Vermiculita 25 °C | 100 | ± 0,00 | a | 91,5 | ± 6,36 | a | 76,7 | ± 23,55 | a | 46,7 | ± 9,41 | a |
| Submersão 25 °C | 100 | ± 0,00 | a | 85,5 | ± 13,44 | a | 83,3 | ± 4,67 | a | 76,7 | ± 4,74 | a |

Adaptado de Calvi *et al.* (2017)

Totipotência já reportada para esta espécie, porém, utilizar dessa capacidade para um segundo evento germinativo ainda não havia sido testado

Sementes germinadas durante o armazenamento não dificultam o manejo

Sementes de *Eugenia stipitata* são adaptadas para sobreviver por longos períodos submersas, desde que em água corrente

O produtor rural pode usar desta característica ecológica para um método não convencional de armazenamento das sementes

Sementes que germinam durante o armazenamento não são um “problema”, pois as sementes apresentam capacidade de regeneração após o corte





Edital CT-Amazônia



Obrigado!

Dr. Geângelo P. Calvi

gpcalvi@inpa.gov.br