

ENVELHECIMENTO ARTIFICIAL DE SEMENTES DO PINHEIRO DO PARANÁ¹

ADSON RAMOS² e JOSÉ GERALDO DE ARAÚJO CARNEIRO³

RESUMO - O envelhecimento rápido de sementes do pinheiro do Paraná *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze resultou em um progressivo decréscimo em sua germinação e velocidade de germinação. Foram realizadas análises bioquímicas em vários períodos de envelhecimento. Os açúcares totais das sementes aumentaram. Nitrogênio e proteínas não apresentaram alterações e a quantidade de amido decresceu. A enzima amilase apresentou aumento de atividade. Houve acréscimos em altura e peso seco de mudas. Este estudo indica que a técnica de envelhecimento precoce pode ser usada para que se conheçam os mecanismos que se associam com a deterioração de sementes florestais em armazenamento.

Termos para indexação: *Araucaria angustifolia*, velocidade de germinação, análises bioquímicas, proteínas, amido.

ARTIFICIAL AGING OF PARANA PINE SEED

ABSTRACT - Artificial aging, at $42^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ and 100% relative humidity, of Parana pine seeds (*Araucaria angustifolia*) resulted in a progressive decrease in their emergence and speed emergence. Various biochemical analyses were performed at various periods of aging. Increasing periods of aging resulted in an increase of sugar total. Nitrogen and protein contents did not change, whereas starch quantities decreased. The amylase activity, height and dry matter weight of the aerial part of seedlings increased with increasing periods of aging. The results of this study indicate that the technique of accelerated aging can be useful to provide further knowledge of the mechanisms associated with the deterioration of forest tree seeds in storage.

Index terms: *Araucaria angustifolia*, speed emergence, biochemical analyses, proteins, starch.

INTRODUÇÃO

O envelhecimento é um dos maiores desafios científicos do universo, e consequentemente, o número de biólogistas interessados em pesquisas moleculares, bioquímicas e fisiológicas associadas com envelhecimento em animais e plantas é cada vez maior (Chauhan et al. 1984).

Quando sementes velhas são plantadas, observa-se um gradual declínio da germinação, precedido pela perda de vigor, acarretando um menor desenvolvimento das plantas. Isto é

consequência da deterioração das sementes (Chauhan et al. 1984).

O processo de deterioração das sementes é muito complexo e não se conhecem precisamente seus detalhes bioquímicos e fisiológicos (Roberts 1979).

Alterações físicas e fisiológicas associadas com a deterioração das sementes têm sido intensamente pesquisadas em espécies agrícolas. Vários autores relatam estreita associação entre a deterioração e algumas características das sementes como: cor, peso específico, permeabilidade, energia de germinação, aumento no número de plântulas anormais, velocidade de germinação e crescimento das plântulas (Ching et al. 1959, Ching & Schoolcraft 1968, Delouche & Baskin 1971, Harrington 1973).

Todas estas indicações podem ou não ocorrer ao mesmo tempo em uma amostra de sementes, e algumas delas são peculiares a se-

¹ Aceito para publicação em 4 de outubro de 1990.

² Eng. - Florestal, Dr. Fundação Inst. Agron. do Paraná - Polo Regional de Curitiba, Caixa Postal 2301, CEP 80001 Curitiba, PR.

³ Eng. - Florestal, Dr. Prof. Dep. Silvic. e Manejo - Univ. Fed. do Paraná, Curitiba, PR.

mentes de certas espécies de plantas (Abdul-Baki & Anderson 1972).

Durante os últimos anos, a base bioquímica do envelhecimento em sementes tem atraído muitos pesquisadores (Abdul-Baki 1969, Anderson 1973) e muitas mudanças têm sido detectadas em sementes em deterioração.

As maiores mudanças que ocorrem durante a deterioração de sementes são incrementos nos ácidos graxos gordurosos livres (Glass & Geddes 1959, Milner & Geddes 1946, Pomeranz 1969) e fosfatos inorgânicos (Ching & Scholcraft 1968, Glass & Geddes 1959), decréscimos nos lipídios neutros (Pomeranz 1969); fosfolipídios (Koostra & Harrington 1969, Pomeranz 1969); açúcares solúveis totais (Ching & Schoolcraft 1968, Glass & Geddes 1959 e 1960, Linch et al. 1962).

O principal propósito deste estudo é examinar, química, bioquímica e fisiologicamente, sementes e mudas de *Araucaria angustifolia*, usando a técnica do envelhecimento precoce (Delouche & Baskin 1971). Esta técnica é reconhecida por muitos investigadores como de bastante eficiência para o estudo do mecanismo de envelhecimento de sementes (Chauhan & Swaminathan 1984, Agrawal & Sinha 1980, Kole & Gupta 1982).

MATERIAL E MÉTODOS

As pinhas foram coletadas na Flona - Floresta Nacional de Três Barras, estado de Santa Catarina, longitude 50°21'W, latitude 26°08'S, altitude de 765 m e clima, segundo Köppen, do tipo Cfb, ou seja, subtropical úmido sem estação seca, com temperatura média do mês mais frio superior a 10°C.

Após a debulha, os pinhões foram selecionados manualmente, sendo eliminados aqueles manchados, defeituosos e pequenos, assim como os atacados pela broca *Laspeyresia* sp.

Para o envelhecimento artificial, as sementes foram submetidas a câmara climática marca "Deleo", previamente regulada a uma temperatura de $43^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 100%. As duas prateleiras existentes na câmara receberam suportes laterais e divisões de alumínio, ao meio, de forma a acolherem as sementes para os tratamentos. Para cada tempo de permanência estabelecido foram colocadas 340 se-

mentes, divididas em quatro repetições de 85.

Foram testados quatro períodos de permanência na câmara de envelhecimento, ou seja: 0, 4, 8 e 16 horas.

Cada tratamento foi feito separadamente, devido às limitações de espaço existentes na câmara. Ao final de cada tratamento, esta foi limpa e desinfetada com formol.

Após cada período de permanência na câmara, as sementes foram submetidas a teste de emergência em viveiro.

O índice de velocidade de germinação foi calculado através da fórmula de Throneberry & Smith, apresentada por Bianchetti (1976).

A determinação do nitrogênio foi realizada através do método descrito por Matioli (1977). Para o amido, os lipídios, os açúcares totais e proteínas, seguiu-se a metodologia da Association Official Agricultural Chemists (1980). Na determinação da atividade das enzimas amilase, celulase e invertase utilizou-se a metodologia descrita por Ramos (1987).

O desenvolvimento das plântulas, representado pelos parâmetros morfológicos altura da parte aérea, diâmetro do colo, peso seco aéreo e percentagem de raiz em relação ao peso seco foram avaliados segundo metodologia exposta por Carneiro (1980).

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Os dados em percentagem de emergência foram transformados em $\text{arc. sen } \sqrt{\%}$. Na comparação das médias utilizou-se o Teste de Duncan ao nível de $\alpha = 0,05$.

As análises de variância foram processadas através do Programa Sanest - Sistema de Análise Estatística, do Centro Nacional de Pesquisa Florestal, em Colombo (PR).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos aumentos nos períodos de envelhecimento corresponderam reduções nas percentagens e índices de velocidade de emergência obtidas (Tabela 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Pitel (1980) com *Pinus banksiana* Lamb e *Quercus rubra* L., e por Ramos (1980) com *Parapiptadenia rigida* (Benth) Brenan, *Tabebuia cassionoides* (LAM) DC e *Jacaranda micrantha* Cham.

Os teores de umidade das sementes com e sem casca apresentaram um aumento com o aumento do tempo em envelhecimento devido

TABELA 1. Valores médios de diversos parâmetros de sementes e mudas de *Araucaria angustifolia*, obtidos após o envelhecimento precoce das sementes em vários períodos.

Parâmetros	Tempo de permanência das sementes em câmara de envelhecimento (horas)			
	0	4	8	16
Percentagem de emergência	98,98 A	94,16 B	92,24 B	84,10 C
I.V. emergência	0,451 A	0,411 B	0,349 C	0,289 D
T.U. s/casca (%)	42,10 B	41,96 B	43,93 A	43,98 A
T.U. c/casca (%)	59,06 C	62,65 B	63,57 B	66,13 A
Proteínas (%)	6,03 A	5,87 A	6,09 A	5,82 A
Nitrogênio (%)	0,96 A	0,94 A	0,98 A	0,94 A
Açúcares totais (%)	6,67 C	5,89 D	8,14 B	8,87 A
Lipídios (%)	1,74 AB	1,83 A	1,82 A	1,63 B
Amido (%)	83,70 A	80,91 A	76,76 B	75,28 B
amilase (+)	0,39 D	21,46 C	27,25 B	30,79 A
Invertase (+)	34,04 D	42,15 A	40,33 B	37,96 C
Celulase (+)	2,30 B	0,97 D	1,58 C	2,63 A
Ø do colo (mm)	3,89 A	3,87 A	3,86 A	4,04 A
Altura p/aérea (cm)	15,63 B	15,89 B	17,27 AB	19,04 A
Peso seco aéreo (g)	1,15 B	1,07 B	1,39 A	1,42 A
% Rafz em relação ao peso seco total (g)	26,38 AB	28,34 A	25,92 AB	23,86 B

(+) valores em $\mu\text{g}/\text{ml}/\text{min} \times 10^{-3}$ de glicose.

As médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de $\alpha = 0,05$.

à umidade absorvida da atmosfera saturada da câmara. Estes resultados confirmam relatos de McDonald Junior (1977) e Agrawal & Sinha (1980), de que o teor de umidade de sementes influencia o grau de deterioração das sementes submetidas ao envelhecimento precoce.

O amido, principal componente químico em sementes de *Araucaria*, apresentou valores decrescentes com o aumento do período de permanência em envelhecimento. Isto faz supor que o consumo de amido tenha sido provocado por uma respiração mais intensa, devido às condições de alta umidade e temperatura que, segundo Kole & Gupta (1982), estimula os processos bioquímicos.

Para os açúcares totais, os resultados apontam acréscimos nas percentagens medidas entre inicio e final. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Ching (1972) com

Pseudotsuga menziesii (Mirb). Harrington (1973) menciona o aumento dos açúcares como um sintoma de deterioração.

Como não ocorreram modificações com o nitrogênio (N), também não ocorreram nas proteínas, em cuja determinação utilizaram-se os números obtidos nas determinações de N multiplicado pela constante 6,25 (Association of Official Agricultural Chemists 1980). As sementes de *A. angustifolia* utilizadas no presente experimento apresentaram valores em torno de 0,96% de N, que é uma quantidade muito pequena se comparada com os 4,02% obtidos por Badran et al. (1976) com *Araucaria excelsa*.

A quantidade de lipídios detectada no presente trabalho é semelhante à relatada por Ferreira (1977) e inferior às informações de Zucas et al. (1961) e Mota & Kramer (1953); as

médias obtidas após 16 horas de envelhecimento foram inferiores às obtidas com sementes não envelhecidas.

A atividade da enzima amilase aumentou com o aumento do período de envelhecimento. Na comparação dos dados iniciais e finais expostos na Tabela 1, observa-se que decresceu a quantidade de amido e aumentou a quantidade de açúcares, resultado da ação desta enzima, o que acarretou decréscimo nas percentagens e índices de velocidade de emergência obtidos. Resultados semelhantes foram obtidos por Monerri et al. (1986), em cotilédones de *Pisum sativum* L., durante a germinação. Para a enzima invertase, observaram-se decréscimos, após um aumento inicial. Para a celulose ocorreu um decréscimo seguido de ligeiros incrementos com o aumento do tempo na câmara de envelhecimento.

Para sementes submetidas ao envelhecimento precoce, as mudas obtidas apresentaram acréscimos em altura da parte aérea com o aumento da permanência das sementes na câmara. Estes resultados discordam dos obtidos por Pitel (1980), com *Pinus banksiana* e *Quercus rubra*.

As médias de peso de matéria seca da parte aérea, obtidas de mudas provenientes de sementes submetidas ao envelhecimento precoce, apresentaram com 8 e 16 horas, maiores valores que os determinados no ínicio.

O diâmetro do colo também foi favorecido com 16 horas de permanência das sementes em envelhecimento, embora não se verifiquem diferenças estatísticas significantes (Tabela 1).

As médias de percentagem de raiz em relação ao peso seco apresentaram uma pequena redução com o aumento do período de envelhecimento das sementes.

CONCLUSÕES

1. A diminuição da qualidade das sementes de *A. angustifolia* está associada a várias alterações bioquímicas, como o catabolismo das

reservas armazenadas e mudanças na atividade de enzimas, detectada pela técnica de envelhecimento artificial.

2. Devem ser estudados períodos mais prolongados de envelhecimento precoce, com a finalidade de ajustar o método como meio de investigação da deterioração de sementes desta espécie e consequentes implicações na produção de mudas.

REFERÊNCIAS

- ABDUL-BAKI, A.A. Relationship between seed viability and glucose metabolism in germinating barley and wheat seeds. *Crop Science*, v.9, p.732, 1969.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T.T. *Seed Biology*. New York: Academic Press, 1972. p.283-316.
- AGRAWAL, P.K.; SINHA, S.K. Response of okra seeds (*Abelmoschus esculentus* L.) of different chronological ages during accelerated aging and storage. *Seed Research*, v.8, n.1, p.64-70, 1980.
- ANDERSON, J.D. Metabolic changes associated with senescence. *Seed Science and Technology*, v.1, n.2, p.401-416, 1973.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS, Washington, EUA. *Official methods of analysis*. 13.ed. Washington, 1980. 1094p.
- BADRAN, O.A.; EL-LAKANY, M.H.; HARIDI, M.B. Biochemical changes during storage of Norfolk Island Pine seeds (*Araucaria excelsa*). In: IUFRO INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 2., 1976, Tokio. *Proceedings...* Tokio: [s.n.], 1976. p.209-217.
- BIANCHETTI, A. *Velocidade de germinação e energia germinativa de sementes de cebola Allium cepa L.* Pelotas: UFPel, 1976. 139p. Tese Mestrado.
- CARNEIRO, J.G. de A. *Untersuchungen zu fragen der morphologischen und des Wasserhaustaltes junger Koniferenpflanzen*. Freiburg i. Br.: Universitat-Albert-Ludwigs, 1980. Tese Doutorado.

- CHAUHAN, K.P.S.; PURKEAR, J.K.; BANERJEE, S.R. Aging induces changes in seeds. *Seed Research*, v.12, n.1, p.53-71, 1984.
- CHAUHAN, K.P.S.; SWAMINATHAN, M.S. Cytogenetical effects of aging in seeds. *Genetica*, n.64, p.6976, 1984.
- CHING, T.M. Metabolism of germinating seeds. In: KOZLOWSKI, T.T. (ed.) *Seed Biology*. New York: Academic Press, 1972. p.103-218.
- CHING, T.M.; PARKER, M.C.; HILL, D.D. Interaction of moisture and temperature on viability of forage seed stored in hermetically sealed cans. *Agronomy Journal*, v.51, p.680-684, 1959.
- CHING, T.M.; SCHOOLCRAFT, I. Physiological and biochemical differences in aged seeds. *Crop Science*, n.8, p.407-409, 1968.
- DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Development of methods for predicting longevity of crop seed lots in storage. Mississippi: Term. Rep. Arg. Res. Mis. State University, 1971.
- FERREIRA, A.G. *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. germinação da semente e desenvolvimento da plântula. São Paulo: USP, 1977. Tese Doutorado.
- GLASS, R.L.; GEDDES, W.F. Grain storage studies. XXVII. The inorganic phosphorus content of deteriorating wheat. *Cereal Chemistry*, v.36, p.186-190, 1959.
- GLASS, R.L.; GEDDES, W.F. Grain storage studies. XXXI. Changes occurring in low molecular weight compounds in deteriorating wheat. *Cereal Chemistry*, v.37, p.568-572, 1960.
- HARRINGTON, J.F. Biochemical basis of seed longevity. *Seed Science & Technology*, v.1, n.2, p.453-461, 1973.
- KOLE, S.N.; GUPTA, K. Biochemical changes in safflower (*Carthamus tinctorius*) seeds under accelerated aging. *Seed Science & Technology*, n.10, p.47-54, 1982.
- KOOSTRA, P.T.; HARRINGTON, A. Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. seeds. *Proceedings of the International Seed Testing Association*, v.34, p.329-340, 1969.
- LINCH, B.T.; GLASS, R.L.; GEDDES, W.F. Grain storage studies. XXXII. Quantitative changes occurring in the sugars of wheat deteriorating in the presence and absence of molds. *Cereal Chemistry*, v.39, p.256-262, 1962.
- MACDONALD JUNIOR, M.B. The influence of seed moisture on the accelerated aging seed vigour test. *J. Seed Technology*, v.2, n.1, 1977.
- MATIOLI, J.R. Efeitos da intensidade da população de *Sitophilus oryzae*. Curitiba: UFPR, 1977. 192p. Tese Mestrado.
- MILNER, M.; GEDDES, W.F. Grain storage studies. III. The relation between moisture content, mold growth and respiration of soybeans. *Cereal Chemistry*, v.23, p.225-247, 1946.
- MONERRI, C.; GARCIA-LUIS, A.; GUARDIA, J.L. Sugar and starch changes in pea cotyledons during germination. *Physiologia Plantarum*, v.67, p.49-54, 1986.
- MOTA, S.; KRAMER, P.J. O valor nutritivo do pinhão. *Engenharia e Química*. Rio de Janeiro, v.5, n.5, p.1-9, 1953.
- PITEL, J.A. Accelerated aging studies of seeds of Jack Pine (*Pinus banksiana* Lamb.) and red oak (*Quercus rubra* L.). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FOREST TREE SEED STORAGE, 1980, Ottawa, Proceedings. Ottawa: [s.n.], 1980. p.40-54.
- POMERANZ, Y. The role of the lipid fraction in growth of cereals and in their storage and processing. *Wallerstein Laboratories Communications*, v.29, p.17-28, 1969.
- RAMOS, A. Deterioração de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. em envelhecimento natural e artificial e sua influência na produção de mudas. Curitiba: UFPR - Setor de Ciências Agrárias, 1987. 353p. Tese Doutorado.
- RAMOS, A. Influência de cinco tipos de embalagens na germinação e no vigor de sementes de angico, caixeta e caroba, armazenadas em câmara fria e à temperatura ambiente. Curitiba: UFPR - Setor de Ciências Agrárias, 1980. 134p. Tese Mestrado.

ROBERTS, E.H. Seed deterioration and loss of viability. *Advances in Research and Technology of seeds*, v.4, p.25-42, 1979.

ZUCAS, S.M.; BARBÉRIO, J.C.; ORLANDI,

M.M.G. Valor nutritivo de 30 vegetais comestíveis no Brasil. *Anais de Farmácia e Química*, São Paulo, v.12, n.11/12, p.155-161, 1961.