

Amanda Cristiane Rodrigues¹, Amauri Alves de Alvarenga¹, Diego Egídio Ribeiro¹, Renato Mendes Guimarães¹, Eduardo Alves¹, Jessé Marques da Silva Junior¹

REINDUÇÃO DA TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO EM SEMENTES DE *Bauhinia forficata* LINK (FABACEAE)

Palavras chave:
Semente germinada
Potencial osmótico
Estrutura celular

Histórico:
Recebido 27/10/2011
Aceito 15/11/2015

RESUMO: *Bauhinia forficata* Link é uma espécie arbórea de interesse medicinal e agrônomo. Devido à importância da espécie objetivou-se avaliar características da germinação de *B. forficata*, bem como a capacidade desta espécie em manter a tolerância à dessecação após a germinação. Os resultados indicam *B. forficata* como uma espécie com capacidade de reindução de tolerância à dessecação. Através de eletromicrografias de varredura foi possível entender os efeitos positivos de uma secagem lenta em sementes germinadas. Conclui-se então que *B. forficata* possui capacidade de re-indução de tolerância à dessecação com até 4mm de comprimento de radícula, quando tratada com solução de PEG à -1,4MPa.

REINDUCTION OF DESICCATION TOLERANCE IN SEEDS OF *Bauhinia forficata* LINK (FABACEAE).

Keywords:
Germinated seed
Osmotic potential
Cell structure

Correspondência:
amandabiounifal@yahoo.com.br

ABSTRACT: *Bauhinia forficata* is a tree with medicinal and agronomic interest. Due to the importance of the species, the work aimed to evaluate some characteristics of germination of *B. forficata* and estimate its capacity to maintain the desiccation tolerance after the germination. The results indicate that *B. forficata* is a species with capacity to reinduction of the desiccation tolerance. The scanning electron micrographs show the benefits of slow drying in germinated seeds. In conclusion, *B. forficata* is a species with capacity to reinduction to desiccation tolerance until 4mm of radicle, when subjected to treatment using PEG -1,4MPa.

DOI:

10.1590/01047760201521041377

¹ Universidade Federal de Lavras - Lavras, Minas Gerais, Brasil

INTRODUÇÃO

A água, como fator fundamental da sobrevivência de tecidos vivos, participa dos eventos metabólicos relacionados à manutenção da viabilidade de sementes. Em relação a água, sementes ortodoxas possuem capacidade de tolerância à dessecação. Esta capacidade de tolerância a dessecação indica que o tecido poderá sofrer dessecação e manter seus tecidos vivos mesmo após a perda de 80 a 90% da água protoplásmica (HOEKSTRA et al., 2001).

Durante o processo de germinação, sementes ortodoxas perdem gradualmente a tolerância à dessecação. Quando ocorre a protusão radicular, a nova plântula é sensível à dessecação, e pode sofrer danos irreversíveis em caso de escassez de água. A radícula é a primeira estrutura do vegetal a perder a tolerância à dessecação, o que ocorre logo após a sua protrusão (BUTINK et al., 2003).

Bauhinia forficata, conhecida popularmente como pata de vaca e pertencente à família Fabaceae – Caesalpinaceae, produz sementes classificadas como tolerantes à dessecação (MEDEIROS; EIRA, 2006). Apesar de seu interesse medicinal e importância, já comprovados cientificamente (CUNHA et al., 2010), os estudos das características das sementes desta espécie são limitados. O que se sabe é que a produção de sementes é baixa, os índices de predação e imaturidade são altos, e trata-se de uma espécie ameaçada de extinção no bioma Caatinga (SILVA et al., 2003).

Assim, visando aprofundar o conhecimento sobre as sementes de *B. forficata* e entender melhor os fatores que governam os processos de tolerância à dessecação objetivou-se com este trabalho estabelecer protocolos de reindução de tolerância à dessecação em sementes germinadas de *B. forficata*, assim como determinar aspectos estruturais e bioquímicos que estejam relacionados com o processo de perda de tolerância após a germinação.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta: As sementes de *B. forficata* foram coletadas de indivíduos no cerrado de Boa Esperança, localizada no sul de Minas Gerais (21°05' S e 45°35' O). Após a coleta, procedeu-se o beneficiamento manual, descartando-se as sementes predadas. As sementes viáveis foram mantidas sob temperatura ambiente até atingir 20% de teor de água.

Curva de embebição e secagem: foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes cada, mecanicamente escarificadas. Durante as primeiras sete horas, as sementes foram pesadas de hora em hora, e as subsequentes pesagens foram feitas de oito em oito horas, até 100 horas. Após esse período o material foi transferido para placas de Petri contendo solução de PEG a -1,4 MPa para controlar a perda de água em ambiente com potencial hídrico conhecido. As sementes foram retiradas da solução, secas superficialmente com papel toalha, e pesadas em intervalos de 24 em 24 horas, até 72 horas. Após esse período as sementes foram transferidas para recipientes contendo sílica a 20% de umidade. A umidade da sílica foi controlada utilizando-se um termohigrometro da ICCEL® HT208, e as pesagens foram feitas até o material retornar a 20% de umidade inicial.

Reindução da tolerância à dessecação: Para os testes de germinação foram utilizadas as seguintes condições: placa de Petri com dupla camada de papel Germitest® umedecido com 4 mL de H₂O destilada, mantidas em câmara de germinação do tipo Mangesdorf, a aproximadamente 30(±2)°C e luz constante. As sementes foram desinfestadas de acordo com Souza (2009). Após a protrusão radicular, foram selecionadas sementes germinadas com radículas de 1, 2, 3 e 4 mm de comprimento, medidas com o auxílio de um paquímetro. As sementes com os comprimentos de radícula selecionados foram distribuídas em quatro tratamentos de secagem. Para o tratamento 1, quatro repetições de 20 sementes de cada comprimento radicular foram submetidas à dessecação em sílica gel (20% de umidade) conforme metodologia descrita por Faria et al. (2005). O grau de umidade das sementes foi monitorado utilizando-se de pesagens em balança analítica até que as sementes apresentassem 20% de teor de água. Os tratamentos 2, 3 e 4 consistiram de pré-incubação em soluções de PEG 6000 à -1,4; -1,7 e -2,0 MPa, com quatro repetições de 20 sementes cada. Após 72 horas de pré-incubação nas soluções, as sementes germinadas foram submetidas à secagem em sílica, conforme descrição acima, até atingirem 20% de teor de água. Após a secagem, as sementes foram postas em condições ótimas de germinação para verificar a retomada do crescimento e desenvolvimento das plântulas. As sementes germinadas que reassumiram o crescimento da radícula foram consideradas tolerantes à dessecação, segundo descrição de Butink et al. (2003). Nesse experimento também foram

contabilizadas as sementes com morte da raiz primária e posterior desenvolvimento de raízes adventícias.

Composição química: Foram utilizadas sementes germinadas, sem tegumento, com radículas de comprimentos de 2, 3 e 4 mm de comprimento. O teor de amido das sementes foi determinado segundo o método descrito por McCready et al. (1950). Os açúcares totais extraídos pelo método de Lane-Enyon (AOAC, 1990) e determinados por Nelson (1944); e a fração protéica foi determinada pelo método de micro-Kjeldahl (AOAC, 1990). Os lipídeos foram quantificados pela metodologia descrita na AOAC (1990).

Microscopia Eletrônica de Varredura: neste ponto foram utilizadas sementes não germinadas, germinadas, germinadas com posterior secagem em sílica, germinadas e incubadas em PEG -1,4MPa por 72h, e germinadas, incubadas em PEG -1,4MPa por 72h e posteriormente secas em sílica. Os tratamentos descritos foram fixados em solução Karnovsky, criostratificados 1 mm do ápice radicular, lavados em tampão cacodilato, pós-fixados em tetróxido de ósmio a 1%, desidratados em gradientes progressivos de acetona, levados ao aparelho de ponto crítico (Bal-Tec), metalizados em evaporador de ouro (Bal-Tec) e observados em microscópio de varredura modelo LEO Evo40 XVP. Para cada tratamento foram utilizadas 5 sementes.

Reindução da tolerância à dessecação combinada com ABA: foram testadas três concentrações de ABA (1, 10 e 100 mM), em conjunto com PEG -1,4 MPa. Como controle foi utilizada solução de PEG -1,4 MPa. Todo o protocolo seguiu os mesmos passos citados no item anterior. Foram utilizados nesse teste 4 repetições de 20 sementes cada.

Análise estatística: o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) foi utilizado para os testes de germinação e secagem. Os dados obtidos em cada teste foram submetidos à análise de variância (ANAVA), sendo as médias dos dados de reindução de tolerância à dessecação comparados pelo teste de Skott Knott, e os referentes a composição química comparados pelo teste de Tukey, ambos a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão representados os resultados referentes à percentagem de sobrevivência da raiz primária. As sementes germinadas com até 3 mm de comprimento, secas diretamente em sílica, apresentaram retomada de crescimento da raiz primária em baixas proporções (menos de 20% em sementes germinadas com 3mm de radícula). Em relação aos métodos de secagem empregados, o PEG a -1,4 MPa foi o que apresentou resultados mais promissores.

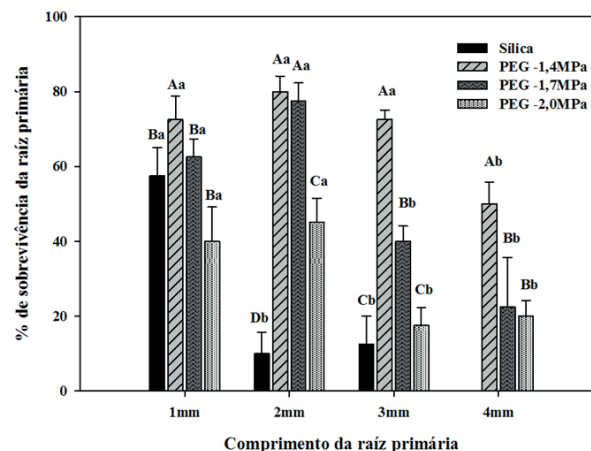


FIGURA 1 Porcentagem de sobrevivência da raiz primária de *B. forficata* com reindução de tolerância à dessecação após secagem em sílica, e pré-secagem em PEG -1,4 MPa, PEG -1,7 MPa e PEG -2,0 MPa. As letras maiúsculas comparam as metodologias de secagem e as minúsculas os tamanhos das radículas dentro de cada tipo de secagem. As barras indicam o erro padrão das médias.

FIGURE 1 Percentage of survival of the primary root in *B. forficata* considering reinduction of desiccation tolerance after dried in silica, and pre-dried in PEG -1.4 MPa, PEG -1.7 MPa and PEG -2.0 MPa. Uppercases represent the drying methods and lowercases the size of roots. The bars indicate the standard error of the averages.

Sementes germinadas tendem a perder a tolerância à dessecação, e caso o processo de germinação ocorra em condições ambientais adversas, tal como períodos de seca, as plântulas caminham para um processo de morte do meristema radicular (HONG; ELLIS, 1992; BUITINK et al., 2003). Entretanto, já foi obtido sucesso no reestabelecimento da tolerância à dessecação em sementes germinadas, em espécies como *Tabebuia impetiginosa* (VIEIRA et al., 2010) e *Medicago trunculata* (BUITINK et al., 2003; FARIA et al., 2005).

Quanto mais negativo for o potencial osmótico da solução, mais rápida será a perda de água na radícula. Se a secagem ocorrer de forma lenta e sob condições

ideais, as possibilidades de ocorrer a retomada do desenvolvimento sem danos a radícula são maiores. A secagem lenta também propicia maior homogeneidade na perda de água, proporcionando um tempo adequado e necessário para que ocorra nas sementes germinadas a síntese de novo de moléculas e substâncias que atuam na proteção dos tecidos durante a secagem (VIEIRA et al., 2010). As espécies que mantêm a tolerância à dessecação após a germinação até determinado comprimento radicular (no presente trabalho 4mm), têm característica de adaptação ao estresse (DAWS et al., 2007). Guimarães e colaboradores (2011) demonstraram a incapacidade de reindução de tolerância à dessecação em sementes ortodoxas de *Peltoforum dubium*, o que indica que esta característica de reindução à tolerância é intrínseca a algumas espécies que podem ser caracterizadas como mais resistentes a ambientes com escassez de água.

Na Figura 2, estão apresentados os dados de retomada do crescimento da raiz primária e morte da raiz primária com aparecimento de raízes adventícias. A raiz adventícia foi visualizada apenas quando as sementes foram secas diretamente em sílica, sem prévia incubação em PEG. A condição de reindução de tolerância a dessecação só é considerada quando a raiz primária mantém sua viabilidade. Mas o aparecimento de raízes secundárias indica que a espécie em questão, mesmo quando em condições de secagem rápida, como a que ocorre na sílica, é capaz de retomar o processo de desenvolvimento da plântula. Apesar do foco do presente trabalho ser a reindução de tolerância a dessecação, o fato da espécie manter o crescimento mesmo após a morte da raiz primária confirma seu alto grau de tolerância à dessecação, tonando a espécie em questão um interessante modelo para futuros estudos.

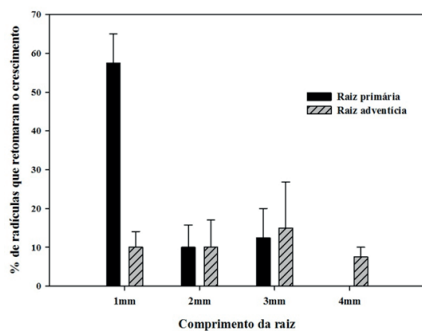


FIGURA 2 Percentagem de radículas de *B. forficata* que retomaram o crescimento da raiz primária e com desenvolvimento de raiz adventícia após a secagem direta em sílica. Barras indicam o erro padrão das médias.

FIGURE 2 Percentage of germinated seeds of *B. forficata* which resumed the growth of primary root and developed adventitious root after drying in silica. Bars indicate the standard error of the averages.

Pela curva de secagem (Figura 3) é possível observar como ocorre a embebição em água e a secagem em PEG -1,4 MPa, com posterior secagem em sílica. Durante as 72 horas de incubação em PEG -1,4 MPa, houve perda de aproximadamente 15% do conteúdo de água. Na secagem em sílica observou-se perda de 35% de água em aproximadamente o mesmo período de 72 horas.

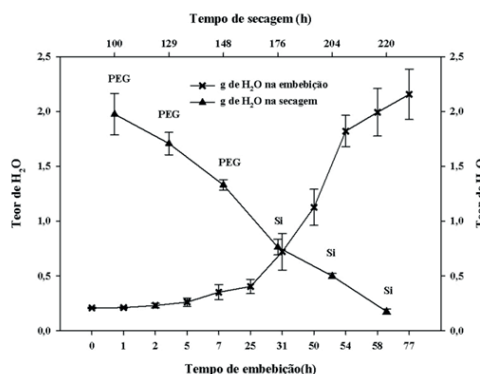


FIGURA 3 Curva de embebição e secagem de *B. forficata*. As barras indicam o erro padrão das médias. PEG-polietilenoglicol; Si- sílica.

FIGURE 3 Imbibition and drying curve of *B. forficata*. The bars indicate the standard error of the averages. PEG-polyethyleneglycol, Si-silica.

A secagem em sílica leva à diminuição do conteúdo de água de forma rápida, conforme observado na curva de secagem. Essa perda, em um curto período, pode acarretar danos nas funções celulares, e impedir a síntese de compostos que atuam na preservação dos tecidos. Esses danos, quando causados no sistema radicular, podem alterar a absorção de água e nutrientes. Já a secagem em PEG retira a água de forma lenta e em baixas quantidades, possibilitando mudanças na bioquímica da semente que podem atuar na porcentagem de sobrevivência da espécie.

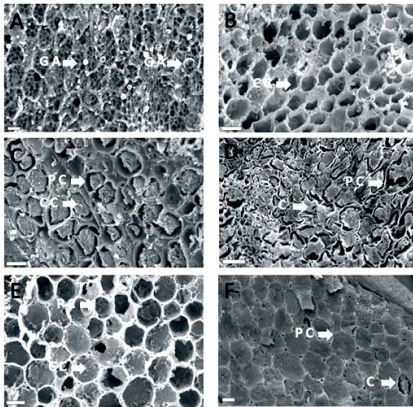
Na Tabela 1 estão representados as quantidades de proteínas, lipídeos, açúcares e amido das sementes germinadas de *B. forficata*. Não foi possível observar nenhum padrão que possa ser correlacionado com a tolerância à dessecação da espécie em questão. Com excessão dos lipídeos, as outras moléculas estudadas não apresentaram padrão linear. Organismos com capacidade de tolerância à dessecação apresentam mecanismos regulatórios na composição química que podem conferir maior tolerância à secagem, como por exemplo a presença de açúcares e proteínas que interagem com a membrana plasmática e evitam sua desestruturação durante o processo de desidratação. Além disso, alguns estudos têm gerado entendimento acerca da regulação negativa do metabolismo, a presença de compostos anfífilos nas membranas e a imobilização do citoplasma gerando uma matriz estável multicomposta (HOEKSTRA et al., 2001).

TABELA I Teores de proteínas, lipídeos, amido e açúcares totais em sementes germinadas com 2, 3 e 4mm de comprimento de radícula. Os compostos orgânicos estão expressos em g/100g de massa seca, e a estatística refere-se as colunas.

TABLE I Levels of proteins, lipids, starch and sugar in germinated seeds with 2, 3 and 4mm length of radicle. Organic compounds are expressed in g/100 dry weight, and statistics refer to the columns.

Comprimento	Proteína	Lipídeo	Amido	Açúcar Total
2 mm	22,8 ^c	8,9 ^b	7,9 ^{ab}	4,1 ^{ab}
3 mm	27,3 ^a	8,7 ^b	8,2 ^a	3,8 ^b
4 mm	24,2 ^b	9,6 ^a	6,6 ^b	4,3 ^a

Na Figura 4 encontram-se as eletromicrografias eletrônicas de varredura do ápice do embrião de sementes de *B. forficata*. Sementes não germinadas e sem embebição representam o controle (4A). Nesta figura podem ser observados grãos de amido e depressões que poderiam estar ocupadas anteriormente por grãos de amido. Durante a criofatura, esses grãos podem ter se deslocado deixando um espaço vazio, representado pelos espaços escuros na figura. Observa-se também que o conteúdo citoplasmático e a membrana plasmática encontram-se bem estruturados, bem como as paredes celulares. Na Figura 4B a seta indica o conteúdo citoplasmático após a embebição, mostrando que a parede celular está bem estruturada. Na Figura 4C é possível observar que algumas células apresentam o conteúdo citoplasmático retraído, porém com a manutenção da forma da parede celular.

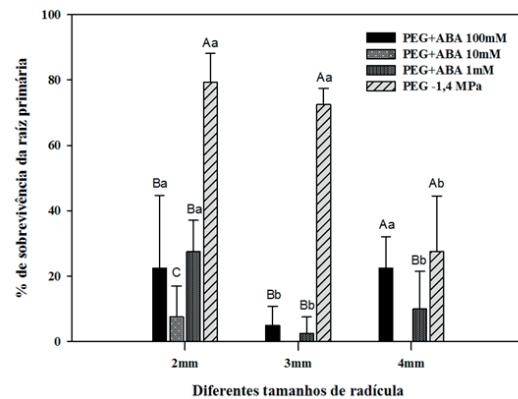


FÍGURA 4 Eletromicrografias de varredura do ápice radicular de *B. forficata*. A- antes da germinação; B e C- após a germinação D- após secagem direta em sílica até 20% de umidade; E- após incubação em PEG -1,4 MPa; F- incubação em PEG -1,4 MPa com posterior secagem. PC- parede celular; CC- conteúdo citoplasmático; GA- grãos de amido; C- colapso celular. Barras = 10 μ m.

FIGURE 4 Scanning Electron Micrographs of the root apex of *B. forficata*. A-before germination; B,C- after germination; D - after drying directly in silica; E - after incubation in PEG -1.4 MPa; F- incubation in PEG -1.4 MPa with further drying. PC-cell wall; CC-cytoplasmic content; GA-starch grains; C-cell collapse. Bars = 10 μ m.

Na Figura 4D o conteúdo celular encontra-se retraído e a parede celular apresenta-se desuniforme. Todas as radículas analisadas após secagem direta em sílica (4D) apresentavam o conteúdo celular retraído. Após a incubação em PEG -1,4 MPa (Figura 4E), as células assumem uma conformação parecida com as células das sementes germinadas. Após a secagem em sílica, precedida de incubação em PEG -1,4 MPa (Figura 4F), a conformação das células também se encontra próxima a de uma semente não germinada, porém, sem a presença de grãos de amido, ou depressões que indiquem que os mesmos estavam presentes na estrutura da radícula. A manutenção da integridade das membranas e paredes celulares durante a dessecação é essencial para garantir a subsequente e ordenada reestruturação celular durante a embebição e retomada do crescimento e desenvolvimento vegetal (SUN, 2002), além de contribuir para minimizar as perdas de solutos durante a reestruturação da membrana plasmática.

Na Figura 5, observa-se a influência de diferentes concentrações de ABA juntamente com PEG -1,4 MPa durante a reindução de tolerância a dessecação. Para as três concentrações testadas, observou-se decréscimo significativo na porcentagem de radículas que retomaram o crescimento após a secagem. Não foi observado um padrão linear nas diferentes concentrações de ABA, sendo que a concentração de 10m foi a que apresentou os menores valores.



FÍGURA 5 Porcentagem de sobrevivência da raiz primária em função de diferentes soluções (PEG -1,4MPa + ABA 100mM; PEG -1,4MPa + ABA 10mM; PEG -1,4MPa + ABA 1mM; PEG -1,4MPa) na reindução de tolerância à dessecação. As letras maiúsculas comparam os tratamentos, e as minúsculas os tamanhos das radículas. As barras indicam o erro padrão entre as médias.

FIGURE 5 Percentage of survival of the primary root in different solutions (PEG -1.4 MPa + ABA 100 μ M, PEG -1.4 MPa + ABA 10 μ M, PEG -1.4 MPa + ABA 1 μ M, PEG -1.4 MPa) in reinduction of desiccation tolerance. Uppercases compare treatments and lowercases compare the size of roots. The bars indicate the standard error between means.

Martins (2009) reporta que durante a incubação de sementes de *T. impetiginosa* em PEG ocorre a síntese de ABA, fitormônio relacionado com a ativação de vários mecanismos protetores contra a dessecação, dentre eles, o relaxamento da membrana celular, que aumenta a possibilidade de redução do volume citoplasmático sem a ocorrência de danos ultraestruturais (CREELMAN; MULLET, 1991). Sreedhar et al. (2002) constatou que os embriões somáticos de *Medicago sativa* somente se mostraram tolerantes à dessecação e mantiveram a membrana celular íntegra quando tratados com ABA. Quando se utiliza ABA exógeno, as respostas podem diferenciar de acordo com a espécie estudada (VIEIRA et al., 2010).

CONCLUSÕES

Conclui-se então que as sementes de *B. forficata* toleram a dessecação após a germinação com até 4mm de comprimento, porém essa tolerância dependerá de tratamentos, sendo a solução de PEG à -1,4MPa a mais indicada entre as testadas no presente trabalho. Não se recomenda a secagem em ambientes contendo sílica, visto a baixa sobrevivência. As eletromicrografias são um bom indicador de como a estrutura pode influenciar na tolerância à dessecação. As análises de proteínas, lipídeos, açúcares e amido não mostram padrões suficientes para inferências sobre a tolerância a dessecação, bem como o uso de ABA que foi ineficiente para reindução de tolerância a dessecação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of the Association of the Agricultural Chemists**. 15. ed. Washington, 1990. 1094 p.
- BUITINK, J.; VU, B. L.; SATOUR, P.; LEPRINCE, O. The reestablishment of desiccation tolerance in germinated radicles of *Medicago truncatula* Gaertn seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 13, n. 4, p. 273-286, Apr. 2003.
- CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. Abscisic acid accumulates at positive, turgor potential in excised soybean seedling growing zones. **Plant Physiology**, Washington, v. 95, n. 4, p. 1209-1213, Aug. 1991.
- CUNHA, A. M. da; MENON, S.; MENON, R.; COUTO, A. G.; BÜRGER, C.; BIAVATTI, M. W. Hypoglycemic activity of dried extracts of *Bauhinia forficata* Link. **Phytomedicine**, Muenchen, v. 17, p. 37-41, Jan. 2010.
- DAWS, M. I.; BOLTON, S.; BURSLEM, D. F. R. P. Loss of desiccation tolerance during germination in neo-tropical pioneer seeds: implications for seed mortality and germination characteristics. **Seed Science Research**, Wellington, v. 17, n. 4, p. 273-281, Dec. 2007.
- FARIA, J. M. R.; BUITINK, J.; LAMMEREN, A. A. M. van; HILHORST, H. W. M. Changes in DNA and microtubules during loss and reestablishment of desiccation tolerance in germinating *Medicago truncatula* seeds. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 418, p. 2119-2130, Aug. 2005.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar 4.3.1999**. Disponível em: <<http://www.dex.ufla.br/~danielff/softwares.htm>>. Acesso em: 01 fev. 2010.
- GUIMARÃES, C.C.; FARIA, J.M.R.; OLIVEIRA, J.M.; SILVA, E.A.A da. Avaliação da perda da tolerância à dessecação e da quantidade de DNA nuclear em sementes de *Peltophorum dubium* (SPRENG.) TAUBERT durante e após a germinação. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 33, nº 2, p. 207 - 215, 2011.
- HOEKSTRA, F. A.; GOLOVINA, E. A.; BUITINK, J. Mechanisms of plant desiccation tolerance. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 6, n. 9, p. 431-438, Sept. 2001.
- HONG, T. D.; ELLIS, R. H. The survival of germinating orthodox seeds after desiccation and hermetic storage. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 43, n. 247, p. 239-247, Feb. 1992.
- MARTINS, J. R. **Estudos ecofisiológicos da germinação e da reindução da tolerância à dessecação em plântulas de ipê-roxo**. 2009. 99 p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MCCREADY, R. M.; GUGGOLZ, A.; SILVEIRA, V.; OWENS, H. S. Determination of starch and amylase in vegetables: application to peas. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 22, n. 9, p. 1156-1158, Sept. 1950.
- MEDEIROS, A. C. de S.; EIRA, M. T. S. da. **Comportamento fisiológico, secagem e armazenamento de sementes florestais nativas**. Colombo: Embrapa Florestas, 2006. 13 p. (Circular Técnica, 127).
- NELSON, N. A. A photometric adaptation of Somogy method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 135, n. 2, p. 136-175, May 1944.
- SILVA, G. M. da C.; SILVA, H.; CAVALCANTI, M. L. F.; MARTINS, P. de L. Autecologia *Bauhinia forficata* L. – Espécie ameaçada de extinção no ecossistema da Caatinga. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Paraíba, v. 3, n. 2, p. 1-15, 2003.

- SOUZA, E. S. **Desenvolvimento de sementes e crescimento inicial de *Vernonanthura phosphorica* (Vell) H. Rob.** 2009. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- SREEDHAR, L.; WOLKERS, W. F.; HOEKSTRA, F. A.; BEWLEY, J. D. In vivo characterization of the effects of abscisic acid and drying protocols associated with the acquisition of desiccation tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos. **Annals of Botany**, London, v. 89, n. 4, p. 391-400, 2002.
- SUN, W. Q. Desiccation sensitivity of recalcitrant seeds and germinated orthodox seeds: can germinated orthodox seeds serve as a model system for studies of recalcitrant seeds. In: IUFRO SEED SYMPOSIUM, 1., 1998, Kuala Lumpur. **Proceedings**. Kuala Lumpur: FRIM, 1999. p. 29-42.
- VIEIRA, C.V.; SILVA, E.A.A. da; ALVARENGA, A.A.; CASTRO, E.M; TOOROP, P.E. Stress-associated factors increase after desiccation of germinated seeds of *Tabebuia impetiginosa* Mart. **Plant Growth Regulation**, n. 62, p. 257-263, 2010.

