

## Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial

MOACIR E. HELLMANN<sup>1</sup>, JULIANA I.O. MELLO<sup>1</sup>, RITA C.L. FIGUEIREDO-RIBEIRO<sup>1</sup> e  
CLAUDIO J. BARBEDO<sup>1,2</sup>

(recebido: 12 de maio de 2005; aceito: 5 de janeiro de 2006)

**ABSTRACT** – (Freezing tolerance in seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) as influenced by the initial water content). *Caesalpinia echinata* Lam., a Brazilian tropical woody species, is at risk of extinction due to the economic exploitation of its heartwood. In natural environment, under warm temperatures, seeds of *C. echinata* germinate immediately after shedding, keeping their viability under storage only up to three months after harvesting. These seeds are tolerant to desiccation (until 7.6% wet basis) maintaining their viability (more than 80%) until 18 months when stored at 7 °C, but the final percentage of seedlings produced from those seeds is low. In the present work the effect of freezing temperatures on the storability of *C. echinata* seeds was evaluated, aiming to increase the period in which seeds are capable to produce normal seedlings. Results showed that *C. echinata*, in spite of being a tropical species, has seeds tolerant to freezing temperatures depending on their initial water content, which should not be higher than 12.7% (wet basis). Seeds stored under -18 °C for 24 months produced *ca.* 80% of normal seedlings while those stored at 7 °C produced, as reported previously, only *ca.* 20% of normal seedlings. These data add new information to the seed physiology of *C. echinata* and can be useful to improve seedling production and germplasm conservation of this important species native from the Brazilian Atlantic Forest.

Key words - cold storage, Leguminosae, seed germination, tropical tree

**RESUMO** – (Tolerância ao congelamento de sementes de pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) influenciada pelo teor de água inicial). *Caesalpinia echinata* Lam. é espécie lenhosa tropical brasileira que, devido à sua intensa exploração econômica, foi incluída na lista de espécies em risco de extinção. No ambiente natural, em temperaturas elevadas, as sementes de *C. echinata* germinam imediatamente após a dispersão, mantendo a viabilidade por no máximo três meses, quando armazenadas em temperatura ambiente. Essas sementes são tolerantes à dessecação até 7,6% (base úmida), mantendo mais de 80% de viabilidade até 18 meses, quando armazenadas a 7 °C. Contudo, a porcentagem final de plântulas produzidas a partir dessas sementes é baixa. No presente trabalho, foi estudado o efeito do congelamento sobre a manutenção da viabilidade de sementes de *C. echinata*, visando ampliar o período no qual essas sementes são capazes de produzir plântulas normais. Embora *C. echinata* seja espécie tropical, os resultados obtidos mostraram que suas sementes toleram o congelamento, dependendo do teor de água inicial, que não pode ser superior a 12,7%. Sementes armazenadas a -18 °C por 24 meses produziram *ca.* 80% de plântulas normais, enquanto as armazenadas a 7 °C produziram, como previamente descrito, somente 20% de plântulas normais. Os dados obtidos acrescentam informações novas sobre a fisiologia da germinação de sementes de *C. echinata* e são relevantes para a produção de mudas e para a conservação de germoplasma dessa importante espécie nativa da Mata Atlântica.

Palavras-chave - armazenamento a frio, germinação de sementes, Leguminosae, planta arbórea tropical

### Introdução

A exploração descontrolada de *Caesalpinia echinata* Lam. (Leguminosae - Caesalpinioideae), o pau-brasil, é um dos clássicos exemplos de distúrbio causado à Mata Atlântica, restando pequenos remanescentes dessa espécie na atualidade (Rocha 2004). De valor histórico e econômico para o Brasil, o pau-brasil já foi incluído na lista oficial de espécies da

flora brasileira ameaçadas de extinção e é utilizado, atualmente, para a confecção de arcos de violino e para o paisagismo (Cunha & Lima 1992, Rocha 2004).

A preservação *ex situ* e a utilização racional do pau-brasil demandam informações conclusivas, entre outros aspectos, quanto ao armazenamento das sementes por períodos prolongados. Essa prática é de fundamental importância, principalmente para espécies que apresentam dificuldades de propagação e que, como o pau-brasil, estejam ameaçadas de extinção (Barbedo *et al.* 2002, Theilade & Petri 2003). De maneira geral, a capacidade de armazenamento das sementes está associada à sua qualidade inicial e às condições de armazenamento (Roberts 1973, Carvalho & Nakagawa 2000).

1. Instituto de Botânica, Caixa Postal 4005, 01061-970 São Paulo, SP, Brasil.  
2. Autor para correspondência: claudio.barbedo@pesquisador.cnpq.br

Para a obtenção de sementes com elevada qualidade inicial, a colheita deve ser realizada próximo ao ponto de maturidade fisiológica (Carvalho & Nakagawa 2000). Mudanças físicas e fisiológicas durante a maturação de frutos e sementes de pau-brasil foram descritas por Borges *et al.* (2005), sendo demonstrada a importância da colheita de frutos diretamente nas árvores, em momento próximo à maturidade fisiológica das sementes, ou imediatamente após sua deiscência.

A redução do teor de água imediatamente após a colheita também é um aspecto importante quando as sementes apresentam teor de água inadequado ao armazenamento. De maneira geral, a secagem pode ampliar a longevidade das sementes, reduzindo as reações metabólicas e dificultando a ação de microrganismos e insetos prejudiciais à sua conservação (Carvalho & Nakagawa 2000, Villela & Peres 2004).

A capacidade de armazenamento é ampliada, para muitas espécies, quando a redução do teor de água das sementes está associada à diminuição da temperatura do ambiente (Walters *et al.* 1998). Temperaturas baixas conservam melhor componentes celulares, como as enzimas, permitindo a disponibilização de glicose para a respiração da semente, por meio da hidrólise de sacarose ou outros oligossacarídeos, podendo ainda agir em enzimas sintetizadoras de outros componentes responsáveis pela integridade das membranas (Peterbauer & Richter 2001). Contudo, há espécies que não toleram grande redução da temperatura, principalmente o congelamento (Chin *et al.* 1989). Nestas condições, a quantidade de água torna-se mais importante pois a água contida nas sementes pode propiciar a formação de cristais de gelo, acarretando rupturas mecânicas na parede celular e no sistema de membranas, promovendo a desagregação celular e conseqüente perda da viabilidade das sementes (Roberts 1973, Andrade & Pereira 1997).

Barbedo *et al.* (2002) avaliaram a tolerância das sementes de pau-brasil à dessecação e o seu potencial de armazenamento e obtiveram melhores resultados com o armazenamento das sementes secas (7,6% de água, em relação à sua massa fresca) a 7 °C. Contudo, apesar de terem ampliado o período de armazenamento para 18 meses, com 81% de germinação, o vigor dessas sementes foi reduzido e apenas 21% delas produziram plântulas normais.

Assim, este trabalho objetivou avaliar a tolerância ao congelamento das sementes de pau-brasil, colhidas com diferentes teores de água e a capacidade de armazenamento das sementes congeladas.

## Material e métodos

**Tolerância ao congelamento** – As sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) foram obtidas de aproximadamente 20 árvores em bosque homogêneo implantado na Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, Município de Moji-Guaçu, SP (22°15-16' S e 47°8-12' W). Três procedimentos para obtenção das sementes foram realizados: 1) colheita de frutos maduros com coloração totalmente castanha (Borges *et al.* 2005) e com remoção manual das sementes em laboratório (denominadas sementes não dispersas); 2) coleta de sementes recém-dispersas (menos de 24 horas da dispersão) sem ocorrência de chuva nas 24 horas anteriores à colheita (denominadas sementes dispersas em época seca); 3) coleta de sementes recém-dispersas, com ocorrência de chuva nas 24 horas anteriores à colheita (denominadas sementes dispersas após chuva).

As sementes obtidas foram inicialmente avaliadas quanto ao teor de água e à germinação. O teor de água foi avaliado pelo método da estufa a  $103 \pm 2$  °C/  $17 \pm 1$  horas (ISTA 1996), com quatro repetições de três sementes cada. O teste de germinação foi realizado em germinadores com circulação interna de água, regulados para 25 °C (J.I.O. Mello, dados não publicados), com as sementes colocadas em rolos de papel (Brasil 1992), com quatro repetições de dez sementes cada. Neste teste avaliaram-se, a cada três dias, as sementes germinadas (protrusão da raiz primária com, no mínimo, 2 cm) e o desenvolvimento de plântulas normais (Barbedo *et al.* 2002).

As sementes de cada procedimento de colheita foram, então, armazenadas em câmaras com três temperaturas distintas,  $25 \pm 1$  °C (umidade relativa do ar, UR, de  $72 \pm 3\%$ ),  $7 \pm 3$  °C (UR de  $45 \pm 7\%$ ) e  $-18 \pm 5$  °C (UR de  $84 \pm 10\%$ ), por 15, 30 e 90 dias. Após cada período de armazenamento as sementes foram novamente avaliadas quanto ao teor de água e à germinação.

As sementes dispersas após chuva (procedimento 3) não foram incluídas nos tratamentos de armazenamento por terem perdido totalmente a capacidade germinativa após os primeiros 15 dias, em quaisquer das câmaras. Dessa forma, dentro de cada época de armazenamento constituiu-se um experimento fatorial  $2 \times 3$  (procedimento de coleta  $\times$  condições de armazenamento), em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise da variância (teste F) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Gomes 1982). Na realização das análises estatísticas, quando necessária a correção da normalidade e da heterogeneidade, os valores de porcentagem foram transformados para  $\text{arc sen } (\%)^{0.5}$ .

**Armazenamento de sementes resfriadas e congeladas** – Um outro experimento foi realizado com sementes obtidas de frutos coletados antes da deiscência, nas mesmas árvores do experimento anterior. Após a coleta, os frutos foram deixados ao sol, em sacos de tela sombreada, para deiscência. As sementes assim obtidas foram armazenadas em câmara

fria ( $2 \pm 2$  °C), em embalagem permeável (sacos de papel Kraft), até a instalação dos experimentos.

Para avaliação do armazenamento sob diferentes temperaturas, as sementes foram submetidas à secagem controlada em estufa a 50 °C até terem seu teor de água reduzido para, aproximadamente, 10%, baseando-se em informações de Barbedo *et al.* (2002). A seguir, foram armazenadas em sacos de papel permeável, em quatro câmaras com temperaturas reguladas para  $7 \pm 3$  °C (UR de  $45 \pm 7\%$ ),  $2 \pm 2$  °C (UR de  $29 \pm 2\%$ ),  $-5 \pm 4$  °C (UR de  $73 \pm 5\%$ ) e  $-18 \pm 5$  °C (UR de  $84 \pm 10\%$ ). Para efeito de comparação com o experimento anterior, uma amostra das sementes foi mantida em temperatura ambiente de laboratório ( $22 \pm 7$  °C, UR de  $80 \pm 15\%$ ). Após seis, 12 e 24 meses, as sementes foram avaliadas quanto ao teor de água e à germinação, conforme descrito no experimento anterior.

As sementes armazenadas no ambiente natural do laboratório não foram incluídas nos tratamentos por não estarem viáveis já após os primeiros seis meses de armazenamento. Dessa forma, constituiu-se experimento em parcelas subdivididas. Nas parcelas foram avaliadas as temperaturas de armazenamento (câmaras) e nas subparcelas os tempos de armazenamento. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Visando à análise das tendências de perda de viabilidade e vigor durante o armazenamento foram ajustadas regressões lineares para os resultados de germinação e de desenvolvimento de plântulas normais em função do tempo de armazenamento. As médias de teor de água também foram analisadas pelo teste de

Tukey (5%), visando à avaliação de alterações nessa característica nas sementes armazenadas nas diferentes câmaras (Gomes 1982).

## Resultados e Discussão

**Tolerância ao congelamento** – No momento da dispersão, as sementes dispersas após chuva estavam com 21,9% de água e apresentavam 25% de germinação. Nos primeiros 15 dias de armazenamento, essas sementes perderam a capacidade germinativa, independentemente da condição de armazenamento confirmando, dessa forma, a importância da qualidade inicial das sementes de pau-brasil para a conservação de sua viabilidade durante armazenamento (Barbedo *et al.* 2002).

O teor de água das sementes dispersas em época seca foi 12,7%, enquanto o das não dispersas foi 22,6%. As sementes dispersas em época seca apresentaram, inicialmente, 78% de germinação e 70% de desenvolvimento de plântulas normais, enquanto as não dispersas apresentaram o mesmo potencial de germinação, com 62% de plântulas normais. Excetuando a diferença do teor de água, as sementes dos dois procedimentos de colheita possuíam qualidade inicial semelhante.

Os resultados do teor de água das sementes armazenadas nas diferentes temperaturas (tabela 1)

Tabela 1. Teor de água (%) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) não dispersas e de sementes dispersas em época seca, armazenadas por 15, 30 e 90 dias a 25 °C (UR de 72%), 7 °C (UR de 45%) e -18 °C (UR de 84%). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; minúsculas para comparação entre processos de obtenção, maiúsculas entre temperaturas.

Table 1. Water content (%) of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) before shedding or after shedding in dry period, during storage for 15, 30 and 90 days at 25, 7 and -18 °C. Values with the same letter, small for columns and capital for lines, did not differ by Tukey at 5% level.

Processo de obtenção das sementes	Temperatura de armazenamento		
	25 °C	7 °C	-18 °C
	15 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	10,9 aB	9,3 aC	18,3 aA
Sementes dispersas em época seca	10,2 bB	8,7 aC	12,1 bA
Coefficiente de variação (%)		3,62	
	30 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	10,9 aB	6,8 bC	15,5 aA
Sementes dispersas em época seca	10,7 aA	8,2 aB	11,2 bA
Coefficiente de variação (%)		3,53	
	90 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	11,9 aB	8,3 aC	13,5 aA
Sementes dispersas em época seca	11,4 aA	7,7 aB	11,3 bA
Coefficiente de variação (%)		4,14	

evidenciaram a relação diretamente proporcional entre o teor de água e a umidade relativa do ar (UR) da câmara, como já foi descrito por Carvalho & Nakagawa (2000). A diferença no teor de água entre as sementes dispersas em época seca e as não dispersas foi aparentemente fundamental para a tolerância ao congelamento, principalmente por não terem sido empregados processos artificiais de secagem. O teor de água das sementes dispersas manteve-se relativamente baixo (inferior aos 12,7% iniciais) durante os 90 dias de armazenamento, independentemente do ambiente, chegando a 7,7% nas mantidas a 7 °C (tabela 1).

Em relação ao teor de água inicial, as sementes não dispersas tiveram rápida redução no armazenamento em temperaturas superiores a zero grau (7 e 25 °C), chegando a valores de 9,3% e 10,9%, respectivamente (tabela 1). Contudo, as sementes não dispersas mantidas a -18 °C tiveram redução dos 22,6% iniciais para 18,3% aos 15 dias, 15,5% aos 30 dias e 13,5% aos 90 dias (tabela 1). Dessa forma, essas sementes permaneceram pelo menos por 15 dias em temperatura sub-zero com teor de água superior a 17% (ou seja, acima de 0,20 g H<sub>2</sub>O g matéria seca<sup>-1</sup>), valor considerado crítico para a tolerância ao congelamento de sementes de algumas espécies do gênero *Coffea* (Dussert *et al.* 1998, Eira *et al.* 1999).

O congelamento de sementes de pau-brasil com teor de água elevado, resultou em expressiva redução da capacidade germinativa, com apenas 10% das sementes germinando e 8% produzindo plântulas normais, após 30 dias de armazenamento e culminando com a perda total da germinação aos 90 dias de armazenamento (tabelas 2, 3). Esses resultados indicam que sementes de pau-brasil são tolerantes ao congelamento, desde que seu teor de água não seja elevado. Nesses casos, pode ocorrer a formação de cristais de gelo a partir da água livre presente no interior das células (Santos 2000), acarretando injúrias e causando a perda da capacidade germinativa. Sementes com baixo teor de água, armazenadas a -18 °C, mantiveram tanto a capacidade germinativa (tabela 2) quanto a de produção de plântulas normais (tabela 3) após 90 dias de armazenamento.

Os resultados de germinação e de desenvolvimento de plântulas normais (tabelas 2, 3) das sementes de pau-brasil, armazenadas sob diferentes temperaturas, permitiram confirmar também a importância da redução da temperatura, para a manutenção da viabilidade dessas sementes, conforme já mostrado por Barbedo *et al.* (2002). Novamente se constatou que a manutenção das sementes em ambiente com temperatura elevada (25 °C) acarreta a rápida perda do vigor e da capacidade germinativa, já nos primeiros 30 dias de armazenamento

Tabela 2. Germinação (%) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) não dispersas e sementes dispersas em época seca, armazenadas por 15, 30 e 90 dias a 25 °C (UR de 72%), 7 °C (UR de 45%) e -18 °C (UR de 84%). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; minúsculas para comparação entre processos de obtenção, maiúsculas entre temperaturas.

Table 2. Germination (%) of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) before shedding or after shedding in dry period, stored for 15, 30 and 90 days at 25, 7 and -18 °C. Values with the same letter, small for columns and capital for lines, did not differ by Tukey at 5% level.

Processo de obtenção das sementes	Temperatura de armazenamento		
	25 °C	7 °C	-18 °C
	15 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	58 aA	65 aA	12 bB
Sementes dispersas em época seca	60 aA	58 aA	62 aA
Coefficiente de variação (%)		26,18	
	30 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	18 aB	50 aA	10 bB
Sementes dispersas em época seca	18 aC	52 aB	82 aA
Coefficiente de variação (%)		23,70	
	90 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	2 aB	58 aA	0 bB
Sementes dispersas em época seca	0 aB	65 aA	60 aA
Coefficiente de variação (%)		26,58	

(tabelas 2, 3), ainda que as sementes não possuam elevado teor de água (tabela 1).

Armazenamento de sementes resfriadas e congeladas – A primeira modificação observada no armazenamento de sementes em diferentes temperaturas foi a coloração do tegumento. Enquanto as sementes mantidas em temperaturas sub-zero permaneceram, após dois anos de armazenamento, com as mesmas características visuais iniciais, ou seja, pardas com manchas púrpuras bem definidas, as armazenadas nas temperaturas de 2 e 7 °C escureceram, não se identificando mais as manchas púrpuras iniciais (figura 1). Além da alteração na coloração do tegumento, após dois anos de armazenamento, as sementes armazenadas a 2 e a 7 °C tiveram sua germinação nitidamente prejudicada, tanto pela qualidade (figuras 2-5), quanto pela porcentagem final (figura 6) e pela capacidade de produzir plântulas normais (figura 7).

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam dados reportados por Barbedo *et al.* (2002), quanto à redução nos valores de germinação e de produção de plântulas normais de sementes armazenadas a 7 °C, por 12 meses (figuras 6A, 7A), com regressões lineares significativas, de coeficiente angular negativo e resultando, ao final dos 24 meses de armazenamento, 23% de germinação e 8% de plântulas normais, em média. Observou-se, ainda, que a redução

de 7 °C para 2 °C pouco modificou esta tendência (figuras 6B, 7B), embora visualmente tenha-se notado germinação qualitativamente melhor para as sementes armazenadas a 2 °C (figuras 3-5), bem como valores ligeiramente superiores de germinação (33%) e de plântulas normais (15%).

As melhores temperaturas para o armazenamento de sementes de pau-brasil foram as negativas, permitindo que as mesmas mantivessem os valores de germinação iniciais (figuras 6C, D). As temperaturas sub-zero permitiram, durante 24 meses de armazenamento, a manutenção de elevadas porcentagens de desenvolvimento de plântulas normais (54% para -5 °C e 67% para -18 °C, figuras 7C, D, respectivamente), não resultando em regressão linear de coeficiente angular negativo. Contudo, foi observado que a qualidade das plântulas desenvolvidas a partir de sementes armazenadas a -18 °C foi melhor do que as de sementes armazenadas a -5 °C (figura 5). Esses resultados indicam a possibilidade do armazenamento de sementes de pau-brasil por períodos prolongados, principalmente a -18 °C, como estratégia para conservação *ex situ*, semelhante ao observado por Cochrane *et al.* (2002) para armazenamento a -18 °C, de sementes de espécies do gênero *Dryandra* R.Br. (Proteaceae), também ameaçadas de extinção.

Tabela 3. Desenvolvimento de plântulas normais (%) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) não dispersas e sementes dispersas em época seca, armazenadas por 15, 30 e 90 dias a 25 °C (UR de 72%), 7 °C (UR de 45%) e -18 °C (UR de 84%). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; minúsculas para comparação entre processos de obtenção, maiúsculas entre temperaturas.

Table 3. Development of normal seedlings (%) from seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) before shedding or after shedding in dry period, stored for 15, 30 and 90 days at 25, 7 and -18 °C. Values with the same letter, small for columns and capital for lines, did not differ by Tukey at 5% level.

Processo de obtenção das sementes	Temperatura de armazenamento		
	25 °C	7 °C	-18 °C
	15 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	35 aA	30 aA	5 bB
Sementes dispersas em época seca	40 aA	18 aA	38 aA
Coeficiente de variação (%)		29,43	
	30 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	8 aA	22 aA	8 bA
Sementes dispersas em época seca	12 aB	32 aB	75 aA
Coeficiente de variação (%)		33,53	
	90 dias de armazenamento		
Sementes não dispersas	0 aB	25 bA	0 bB
Sementes dispersas em época seca	0 aB	50 aA	28 aA
Coeficiente de variação (%)		37,20	



Figuras 1-5. Fases da germinação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) após 24 meses de armazenamento a 7, 2, -5 e -18 °C (do primeiro ao quarto alinhamento de sementes ou plântulas, de cima para baixo, respectivamente). Sementes imediatamente após a retirada das câmaras de armazenamento (1) e após três (2), seis (3), nove (4) e 12 dias de germinação. Barra = 1 cm.

Figures 1-5. Germination of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) after 24 months of storage at 7, 2, -5 and -18 °C (from the top to the bottom, respectively). Seeds immediately after removing from the storage chambers (1), after three days (2), six days (3), nine days (4), and 12 days (5) of germination. Bar = 1 cm.

O teor de água das sementes armazenadas nas diferentes temperaturas (tabela 4), da mesma forma que no experimento anterior, acompanhou a umidade relativa do ar das câmaras, permanecendo com valores mais baixos nas temperaturas de 2 e 7 °C e mais elevados a -5 e -18 °C, independente do tempo de armazenamento. A longevidade de sementes é bastante influenciada, tanto pelo seu teor de água, quanto pela temperatura do ambiente. Em geral, na faixa de 5% a 15% de água, a cada 1% de diminuição desse valor, pode-se duplicar a

longevidade de sementes (Villela & Peres 2004). No presente trabalho, contudo, verificou-se que a redução na temperatura influenciou muito mais a longevidade das sementes de pau-brasil.

O armazenamento de sementes ortodoxas a -18 °C é adotado pela maioria dos bancos de sementes, permitindo prolongar a longevidade das sementes por muitas décadas (Santos 2000). Contudo, freqüentemente esta temperatura está associada com baixos teores de água nas sementes, entre 3% a 7%

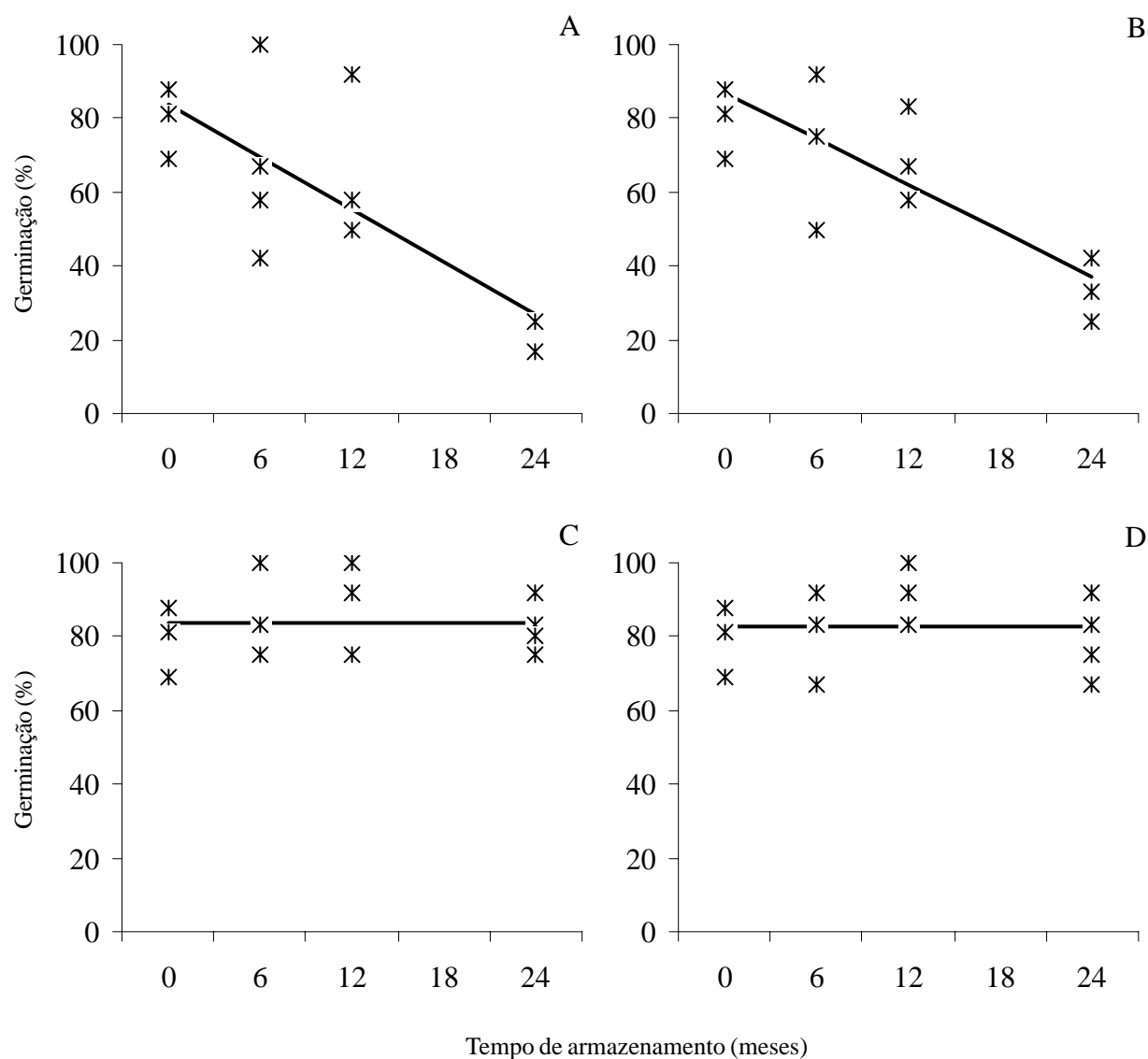


Figura 6. Germinação (%) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) armazenadas por 6, 12 e 24 meses a 7 °C (A), 2 °C (B), -5 °C (C) e -18 °C (D). ( $Y_A = -2,3774X + 83,9$ ,  $R^2 = 0,6652$ ;  $Y_B = -2,0679X + 86,9$ ,  $R^2 = 0,7024$ ;  $Y_C = 83,6$ ;  $Y_D = 82,7$ ).

Figure 6. Germination (%) of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) after 6, 12 and 24 months of storage at 7 °C (A), 2 °C (B), -5 °C (C) and -18 °C (D). ( $Y_A = -2.3774X + 83.9$ ,  $R^2 = 0.6652$ ;  $Y_B = -2.0679X + 86.9$ ,  $R^2 = 0.7024$ ;  $Y_C = 83.6$ ;  $Y_D = 82.7$ ).

(Theilade & Petri 2003) diferente, portanto, do teor de água das sementes de pau-brasil, observado no presente trabalho (10,8% a 12,5%). Dessa forma, embora até o final do segundo ano de armazenamento a -18 °C não tenham sido observadas diferenças quanto à qualidade fisiológica das sementes de pau-brasil, é possível que, nesta temperatura, a utilização de embalagens que permitam manter as sementes com teor de água entre 3% e 7% seja uma forma mais eficiente de preservação da viabilidade das sementes dessa espécie, por décadas.

Até o momento, os resultados do presente trabalho permitem recomendar o armazenamento de sementes de pau-brasil em embalagem permeável e em temperaturas de -5 °C ou -18 °C, desde que apresentem elevada qualidade inicial e teor de água próximo a 10%. Dessa forma, mantém-se a viabilidade dessas sementes. Esses dados acrescentam informações novas sobre a fisiologia da germinação de sementes de *C. echinata* e são relevantes para a produção de mudas e para a conservação de germoplasma dessa importante espécie nativa da Mata Atlântica.

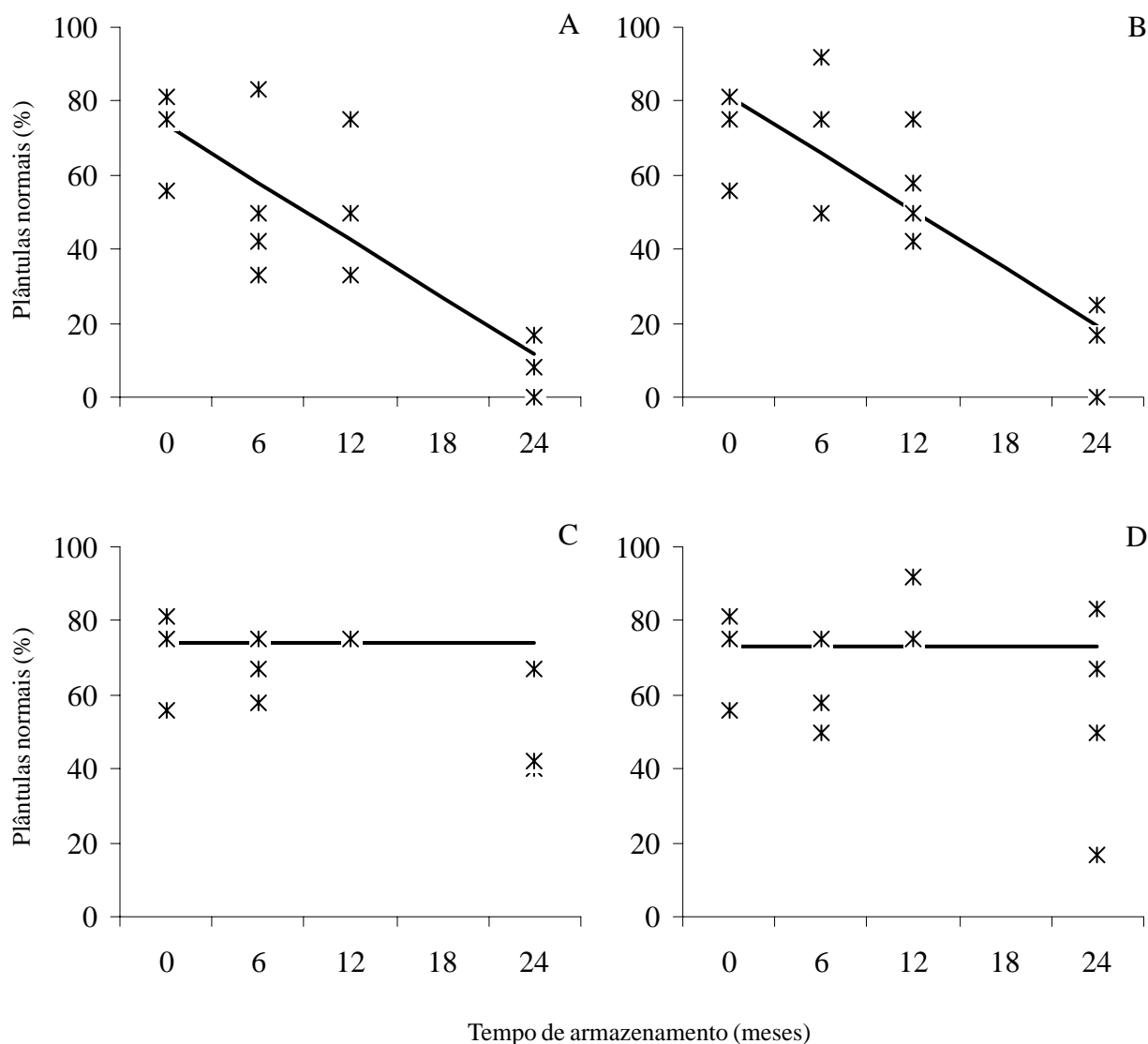


Figura 7. Desenvolvimento de plântulas normais (%) a partir de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) armazenadas por 6, 12 e 24 meses a 7 °C (A), 2 °C (B), -5 °C (C) e -18 °C (D). ( $Y_A = -2,5833X + 73,5$ ,  $R^2 = 0,7099$ ;  $Y_B = -2,5845X + 81,45$ ,  $R^2 = 0,7412$ ;  $Y_C = 73,95$ ;  $Y_D = 73,05$ ).

Figure 7. Normal seedling development (%) from seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) after 6, 12 and 24 months of storage at 7 °C (A), 2 °C (B), -5 °C (C) and -18 °C (D). ( $Y_A = -2.5833X + 73.5$ ,  $R^2 = 0.7099$ ;  $Y_B = -2.5845X + 81.45$ ,  $R^2 = 0.7412$ ;  $Y_C = 73.95$ ;  $Y_D = 73.05$ ).



Tabela 4. Teor de água (%) de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil) armazenadas por 6, 12 e 24 meses a 7, 2, -5 e -18 °C. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade; minúsculas para comparação entre períodos de armazenamento, maiúsculas entre temperaturas.

Table 4. Water content (%) of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (brazilwood) stored for 6, 12 and 24 months at 7, 2, -5 and -18 °C. Values with the same letter, small for columns and capital for lines, did not differ by Tukey at 5% level.

Tempo de armazenamento (meses)	Temperatura de armazenamento (°C)			
	7	2	-5	-18
0 (inicial)	11,4	-	-	-
6	6,2 bB	6,5 aB	10,5 aA	10,8 bA
12	6,2 bC	6,2 aC	10,6 aB	11,2 bA
24	7,0 aC	5,4 bD	10,6 aB	12,5 aA
Coef. variação (CV)	3,31%			

Agradecimentos – Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp, Processo 2000/06422-4) pelo apoio financeiro ao projeto; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de mestrado concedida a M.E. Hellmann; ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de iniciação científica concedida a J.I.O. Mello e de produtividade, concedidas a R.C.L.F. Ribeiro e C.J. Barbedo. Agradecimentos também a I.F. Borges, pelo tratamento das imagens fotográficas e aos funcionários da Reserva Biológica e Estação Experimental de Moji-Guaçu, pelo auxílio na coleta das sementes.

### Referências bibliográficas

- ANDRADE, A.C.S. & PEREIRA, T.S. 1997. Comportamento de armazenamento de sementes de palmito (*Euterpe edulis* Mart.). Pesquisa Agropecuária Brasileira 32:987-991.
- BARBEDO, C.J., BILIA, D.A.C. & FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. 2002. Tolerância à dessecação e armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). Revista Brasileira de Botânica 25:431-439.
- BORGES, I.F., GIUDICE, J.D., BILIA, D.A.C., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. & BARBEDO, C.J. 2005. Maturation of seeds of *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood), an endangered Leguminous tree from the Brazilian Atlantic Forest. Brazilian Archives of Biology and Technology 48:851-861.
- BRASIL. 1992. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. SNDA/DNDV/CLAV, Brasília.
- CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. 2000. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4ª ed. Funep, Jaboticabal.
- CHIN, H.F., KRISHNAPILLAY, B. & STANWOOD, P.C. 1989. Seed moisture: recalcitrant vs. orthodox seeds. In Seed moisture (P.C. Stanwood & M.B. McDonald, eds.). Crop Science Society of America, Madison. p.15-22.
- COCHRANE, A., BROWN, K. & KELLY, A. 2002. Low temperature and low moisture storage of seeds of rare and threatened taxa in the endemic Western Australian genus *Dryandra* (R.Br.) (Proteaceae). Conservation Science of Western Australia 4:1-12.
- CUNHA, M.W. & LIMA, H.C.L. 1992. Viagem à terra do Pau-brasil. Agência Brasileira de Cultura, Rio de Janeiro.
- DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ENGELMANN, F., ANTHONY, F., LOUARN, J. & HAMON, S. 1998. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. Seed Science Research 8:9-15.
- EIRA, M.T.S., WALTERS, C., CALDAS, L.S., FAZUOLI, L.C., SAMPAIO, J.B. & DIAS, M.C.L.L. 1999. Tolerance of *Coffea* spp. seeds to desiccation and low temperature. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 11:97-105.
- GOMES, F.P. 1982. Curso de estatística experimental. 10ª ed. Nobel, Piracicaba.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1996. International rules for seed testing, rules 1996. Seed Science and Technology 24 (supplement):1-335.
- PETERBAUER, T. & RICHTER, A. 2001. Biochemistry and physiology of raffinose family oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seeds. Seed Science Research 11:185-197.
- ROBERTS, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. Seed Science and Technology 1:499-514.
- ROCHA, Y.T. 2004. Ibirapitanga: história, distribuição geográfica e conservação do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam., Leguminosae) do descobrimento à atualidade. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- SANTOS, I.R.I. 2000. Criopreservação: potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 12 (especial):70-84.
- THEILADE, I. & PETRI, L. 2003. Conservation of tropical trees *ex situ* through storage and use. Guidelines and Technical Notes 65. Danida Forest Seed Centre, Humlebaek.
- VILLELA, F.A. & PERES, W.B. 2004. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In Germinação: do básico ao aplicado (A.G. Ferreira & F. Borghetti, orgs.). Artmed, Porto Alegre, p.265-281.
- WALTERS, C., RAO, N.K. & HU, X. 1998. Optimizing seed water content to improve longevity in *ex situ* genebanks. Seed Science Research 8:15-22.