

## Alterações nas reservas de sementes de *Melanoxylon brauna* Schott. (Fabaceae Caesalpinoideae) durante a germinação em diferentes temperaturas

Glauciana da Mata Ataíde<sup>1</sup>, Eduardo Euclides de Lima e Borges<sup>2</sup>, Edgard Augusto de Toledo Picoli<sup>2</sup>, Argemiro Teixeira Leite Filho<sup>2</sup>, Andressa Vasconcelos Flores<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de São João Del-Rei, Rodovia MG 424, km 07, Itapuã, CEP 23895-000, Sete Lagoas-MG, Brasil. E-mail: glaucianadamata@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs, s/n, Centro, CEP 36571-000, Viçosa-MG, Brasil. E-mail: elborges@ufv.br; eatpicoli@gmail.com; argemirottf@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Reitoria, Campus Curitibanos, Rod. Ulisses Gaboardi, km 3, Fazenda Pessegueirinho, CEP 89520-000, Curitibanos-SC, Brasil. E-mail: andressafloressm@yahoo.com.br

### RESUMO

Durante a germinação, as sementes utilizam os compostos de reserva para fornecerem os nutrientes necessários até que as plântulas se tornem autotróficas. Neste trabalho objetivou-se investigar as alterações nas reservas de carboidratos, amido, lipídios e proteínas em sementes de *Melanoxylon brauna* durante o período germinativo em diferentes temperaturas. Para tanto, sementes da espécie foram colocadas para germinar sob temperaturas de 10, 25, 30 e 40 °C, sendo retiradas amostras de sementes a cada 24 horas durante o período de 96 horas. Uma pequena redução nos teores de lipídios foi observada durante a germinação nas temperaturas analisadas, enquanto os teores de açúcares solúveis decresceram a partir de 48 horas de embebição, sendo prontamente utilizados, especialmente nas temperaturas de 25 e 30 °C. Para as proteínas solúveis, verificou-se declínio desde o início do período germinativo às temperaturas de 25 e 30 °C, sendo este mais intenso no período pós-germinativo à temperatura de 30 °C. Conclui-se que as reservas de carboidratos solúveis, lipídios e proteínas decresceram durante o período germinativo de sementes de *Melanoxylon brauna*, variando esses decréscimos de acordo com a temperatura.

**Palavras-chave:** amido; carboidratos; lipídios; proteínas

## *Changes in seed reserves of Melanoxylon brauna Schott. (Fabaceae Caesalpinoideae) during germination at different temperatures*

### ABSTRACT

During germination, seeds use the reserve compounds to provide the nutrients until the seedlings become autotrophic. The aim of this study was to investigate the changes in carbohydrates, starch, lipids and proteins reserves during germination of *Melanoxylon brauna* seeds at different temperatures. For both, the seeds were germinated at temperatures of 10, 25, 30 and 40 °C, and samples were collected every 24 hours during 96 hours. Was observed small reduction of lipid levels during germination in temperatures analyzed, while the levels of soluble sugars decreased from 48 hours of soaking, being readily used, especially at temperatures of 25 and 30 °C. For soluble proteins, there was a decrease from the beginning of the germination period at temperatures of 25 to 30 °C, this being more intense in the post-germination at 30 °C period. It is concluded that soluble carbohydrate, lipid and protein reserves decreased during the germination period of *Melanoxylon brauna* seeds, varying these decreases according to temperature.

**Key words:** starch; carbohydrates; lipids; protein

## Introdução

Nas últimas décadas, o desmatamento contribuiu para a fragmentação da Mata Atlântica, que foi reduzida a 12,4% de sua cobertura original, considerando-se todos os fragmentos acima de três hectares (SOS Mata Atlântica & INPE, 2017). Em Minas Gerais, tal fragmentação resultou na diminuição da abundância de espécies vegetais, com consequente redução na variabilidade genética. Dentre estas, ressalta-se a *Melanoxylon brauna*, espécie arbórea pertencente à família botânica Fabaceae Caesalpinoideae, que se encontra na “Lista das espécies da flora brasileira ameaçada de extinção”, na categoria vulnerável (Brasil, 2008). Esta espécie é encontrada nos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro e Bahia.

*M. brauna* apresenta madeira pesada e de grande durabilidade, mesmo em ambientes adversos, sendo utilizada em obras externas e na construção civil (Lorenzi, 2009). Devido a estes aspectos, sua madeira tem sido alvo de devastação, restando poucos fragmentos florestais com a espécie, em geral pequenos e isolados, como os destacados nos trabalhos de Carvalho et al. (2007), Crepaldi & Peixoto (2010) e Versieux et al. (2011). Neste contexto, estudos a respeito da germinação das sementes são o ponto de partida para o desenvolvimento de novas estratégias para a conservação da espécie, haja vista ser esta sua principal forma de propagação.

No intuito de fornecer subsídios para propor estratégias de conservação e melhor utilização/propagação da espécie, são necessários estudos sobre a fisiologia e bioquímica de suas sementes, especialmente a respeito das principais substâncias de reserva como carboidratos, lipídios e proteínas. Durante a germinação, estas precisam ser convertidas em compostos solúveis e transportadas para as regiões de crescimento para fornecerem os nutrientes necessários até que as plântulas se tornem autotróficas.

Lipídios, carboidratos, amido e proteínas são mobilizados por enzimas hidrolíticas distintas, muitas das quais são transcritas e sintetizadas *de novo* (Bewley et al., 2013). Os lipídios e proteínas de reserva têm como produto final do catabolismo a sacarose e aminoácidos, respectivamente, enquanto carboidratos e amido são convertidos em açúcares menores, como maltose, glicose e sacarose (Ataíde et al., 2013).

Em sementes de *Jathropha curcas*, foi observada redução nos teores de carboidratos, tanto no endosperma quanto no embrião durante o processo germinativo, sendo estes mínimos durante a protrusão e logo após (Lopes et al., 2013). Durante a germinação de sementes de *Aniba rosaedora*, o decréscimo no teor de amido foi relacionado ao aumento na atividade da  $\alpha$ -amilase, indicando ser esta enzima a responsável pela quebra inicial do amido na espécie (Lima et al., 2008).

Considerando que pouco se conhece a respeito do processo de mobilização de reservas em sementes de espécies florestais nativas durante a germinação, e que este processo é influenciado por fatores ambientais, o objetivo neste trabalho foi investigar as alterações nas reservas de carboidratos, amido, lipídios e proteínas em sementes de *Melanoxylon brauna* durante o período germinativo em diferentes temperaturas.

## Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), no período de outubro/2012 a fevereiro/2013. As sementes de *Melanoxylon brauna* utilizadas para as análises foram coletadas na região de Leopoldina, Minas Gerais em setembro/2012. Durante o beneficiamento foram eliminadas as sementes imaturas, deterioradas ou danificadas. As sementes selecionadas foram acondicionadas em tambores de fibra e armazenadas em câmara fria a 5 °C e 60% UR até a realização dos experimentos.

O teor de água inicial das sementes foi determinado pelo método da estufa  $105 \pm 3$  °C, utilizando-se três repetições de 20 sementes para cada tratamento, com resultados expressos em porcentagem (base úmida). Sementes de *M. brauna* foram colocadas para germinar em placas de Petri sobre duas folhas de papel germitest umedecidas com água destilada, sob luz contínua proporcionada por quatro lâmpadas fluorescentes 40 W tipo luz do dia, nas temperaturas constantes de 10, 25, 30 e 40°C, durante 10 dias. As sementes foram consideradas germinadas quando apresentaram protrusão da raiz primária, sendo computada a porcentagem média. Foram utilizadas cinco repetições de 20 sementes para cada temperatura.

Para avaliar as alterações nas reservas das sementes nas diferentes temperaturas, amostras de sementes foram retiradas a cada 24 horas durante o período germinativo, até o tempo de 96 horas, quando se observou o início da protrusão radicular à temperatura de 30 °C. Em seguida, foram secas em estufa a 60 °C por 24 horas e armazenadas em vidros hermeticamente fechados, que foram mantidos a -20 °C até o momento de se iniciarem a extração e a quantificação das reservas. Foram feitas as seguintes determinações:

**Lipídios:** A determinação do teor de lipídios foi obtida a partir da extração a frio dos óleos contidos nos cotilédones das sementes, realizada em aparelho Soxhlet, segundo procedimentos descritos por Silva (1990). Amostras de cotilédones foram trituradas e três repetições de 1,0 g colocadas em cartuchos de papel-filtro, pesadas e transferidas para o aparelho, sendo mantidas em refluxo, com éter de petróleo, durante 24 horas. Após, foram secas a 45 °C por 18 horas e pesadas novamente, sendo o resultado expresso em porcentagem de lipídios extraídos.

**Açúcares solúveis e amido:** Para a extração dos açúcares solúveis, foram utilizadas amostras de 300 mg de cotilédones do material do qual foram extraídos lipídios. Estas foram mantidas em álcool 80% em banho-maria a 75 °C durante 30 minutos e centrifugadas a 16000 g durante 10 minutos para a coleta do sobrenadante, sendo este processo repetido por mais três vezes. Os sobrenadantes das quatro extrações foram reunidos e secos a 45 °C por 24 horas. Após, as amostras foram ressuspensas com 1,0 mL de água destilada, sendo a quantificação realizada pelo método colorimétrico (Dubois et al., 1956).

O precipitado resultante da extração dos açúcares solúveis foi seco em estufa a 45 °C durante 24 horas e submetido à digestão com 1,0 mL de ácido perclórico 35% durante 15 minutos, sendo em seguida utilizado como extrato para

quantificação do amido presente pelo método colorimétrico, conforme metodologia descrita por Dubois et al. (1956). Os teores de açúcares solúveis e amido foram determinados por espectrofotometria a um comprimento de onda de 490 nm, utilizando-se uma curva padrão de glicose (1%) de intervalo de 10 a 90 µg.

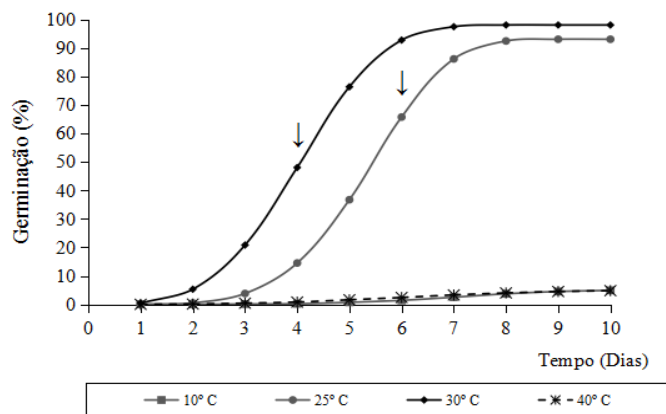
**Proteínas solúveis:** A extração de proteínas solúveis foi realizada utilizando-se tampão acetato de sódio 100 mM, pH 5,0 como solução de extração. A quantificação foi efetuada em amostras de 100 mg de eixos embrionários e cotilédones de sementes, de acordo com Bradford (1976). Para o preparo dos extratos solúveis de cada tratamento, as amostras foram trituradas em nitrogênio líquido utilizando-se almofariz e pistilo. O homogenato obtido foi centrifugado a 15.000 x g, por 30 min e 4 °C, e o sobrenadante resultante constituiu o extrato solúvel utilizado para quantificação de proteínas, mensurada pela absorbância a 595 nm. Preparou-se uma curva padrão ajustada por regressão linear, utilizando-se albumina sérica bovina (BSA) como proteína padrão entre zero e 75 mg. Foram utilizadas três repetições em triplicatas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Foram realizadas análises de variância, sendo as médias de germinação comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para as análises das reservas lipídios, carboidratos solúveis, amido e proteínas solúveis foram avaliados modelos de regressão linear e não-linear, selecionados de acordo com o maior coeficiente de determinação e menor erro padrão da média. As significâncias das regressões foram testadas pelo teste t ao nível de 5%. O programa estatístico utilizado foi o Statistica 8.0.

## Resultados e Discussão

As maiores porcentagens de germinação em sementes de *M. brauna* foram observadas nas temperaturas de 25 e 30 °C, com valores de 93 e 98%, respectivamente, as quais não diferiram estatisticamente entre si e foram estatisticamente superiores à germinação nas temperaturas 10 e 40 °C, onde foi observada porcentagem média de 5% para ambas (Figura 1).

Assim, o aumento de 5 °C na temperatura contribuiu significativamente para acelerar a germinação. Dentro de



Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5%, pelo teste de Tukey. As setas indicam a germinação de 50% das sementes.

**Figura 1.** Germinação acumulada de sementes de *Melanoxylon brauna* nas temperaturas de 10, 25, 30 e 40 °C.

certos limites, quanto maior a temperatura, mais rápida a velocidade do processo com que ocorrem as reações químicas do metabolismo germinativo, sendo este mais eficiente. Bewley et al. (2013) afirmam que a velocidade de germinação é mais sensível às variações na temperatura do que a porcentagem total. Os dados obtidos estão de acordo com os apresentados por Flores et al. (2014), que afirmam ser a faixa de 25 a 30 °C a ótima para a germinação da espécie. Assim, possivelmente, as temperaturas 10 e 40 °C atuaram comprometendo o desenvolvimento do processo e crescimento do embrião.

A faixa de temperatura entre 20 e 30 °C tem sido indicada para a germinação de inúmeras espécies florestais tropicais e subtropicais, dentre as quais *Peltogyne paniculata* (Ramos et al., 2007), *Adenantha pavonina* (Kissmann et al., 2008), *Senna alata* (Braga et al., 2010), *Tabebuia ochracea* (Oliveira et al., 2012), *Myracrodruon urundeuva* (Virgens et al., 2012) e *Apeiba tibourbou* (Guedes et al., 2013).

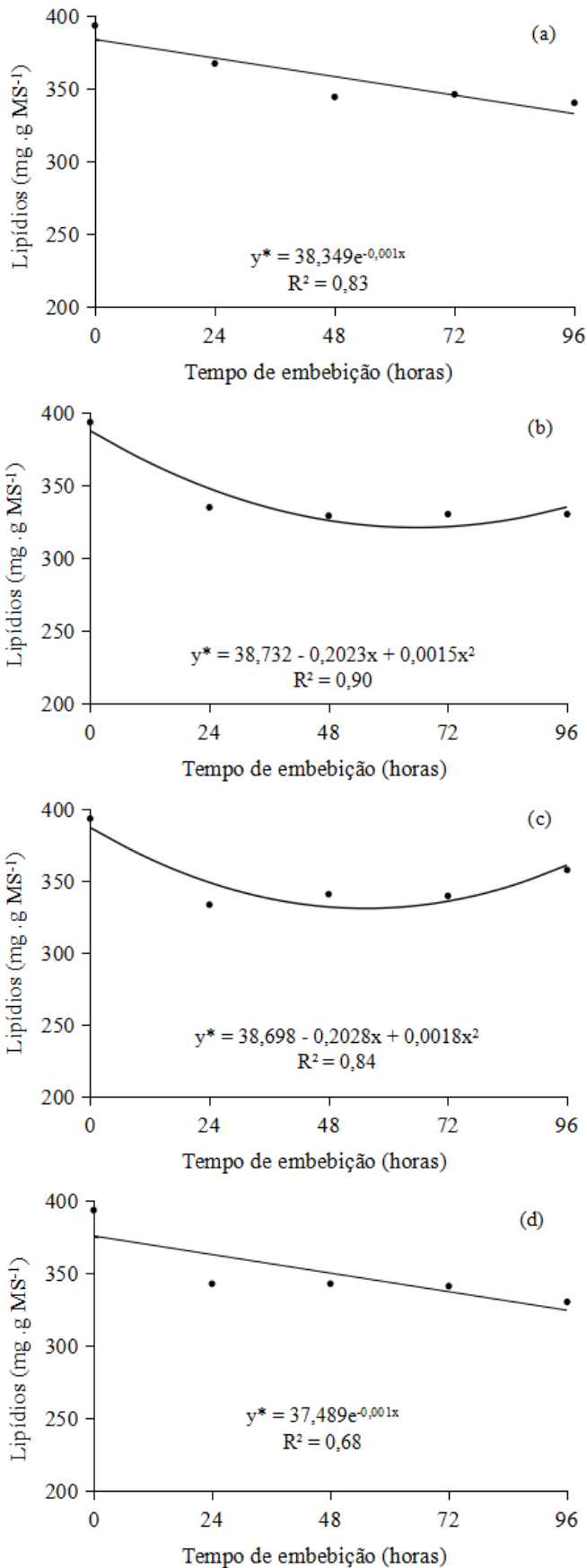
O teor inicial de lipídios dos cotilédones das sementes de *M. brauna* era de 39,3%, com decréscimo ao longo do período de embebição em todas as temperaturas, conforme apresentado na Figura 2. Tais decréscimos corresponderam a reduções de 13,54, 16,08 e 14,05% durante as 96 horas de germinação nas temperaturas de 10, 25 e 40 °C, respectivamente (Figuras 2A, B e D). Estes resultados indicaram que, mesmo nas temperaturas 10 e 40 °C, fora da faixa ótima de germinação da espécie, as reservas lipídicas estão sendo consumidas, ainda que em pequenas taxas.

Durante a germinação, os lipídios são hidrolisados e convertidos a sacarose pela  $\beta$ -oxidação e ciclo do glioxalato, para fornecerem energia e esqueletos de carbono para a plântula em formação (Theoudoulou & Eastmond, 2012). Pritchard et al. (2002) demonstraram que a germinação e a mobilização de lipídios são reguladas independentemente em sementes de *Arabidopsis*, ao observarem que a mobilização lipídica é metabolicamente ativa na presença de ABA, que as enzimas e sinais que iniciam a digestão dessas reservas estão presentes e que ocorre acúmulo de sacarose, embora não se tenha germinação nas mesmas condições.

Segundo Hooks et al. (2010), o processo de mobilização das reservas lipídicas se tornará especialmente importante no período pós-germinativo e no estabelecimento das plântulas, até o momento em que estas se tornem autotróficas. Corte et al. (2006) e Lima et al. (2008) observaram acentuado declínio nos teores de lipídios de sementes de *Caesalpinia peltophoroides* e *Aniba rosaeodora* imediatamente após a protrusão da radícula.

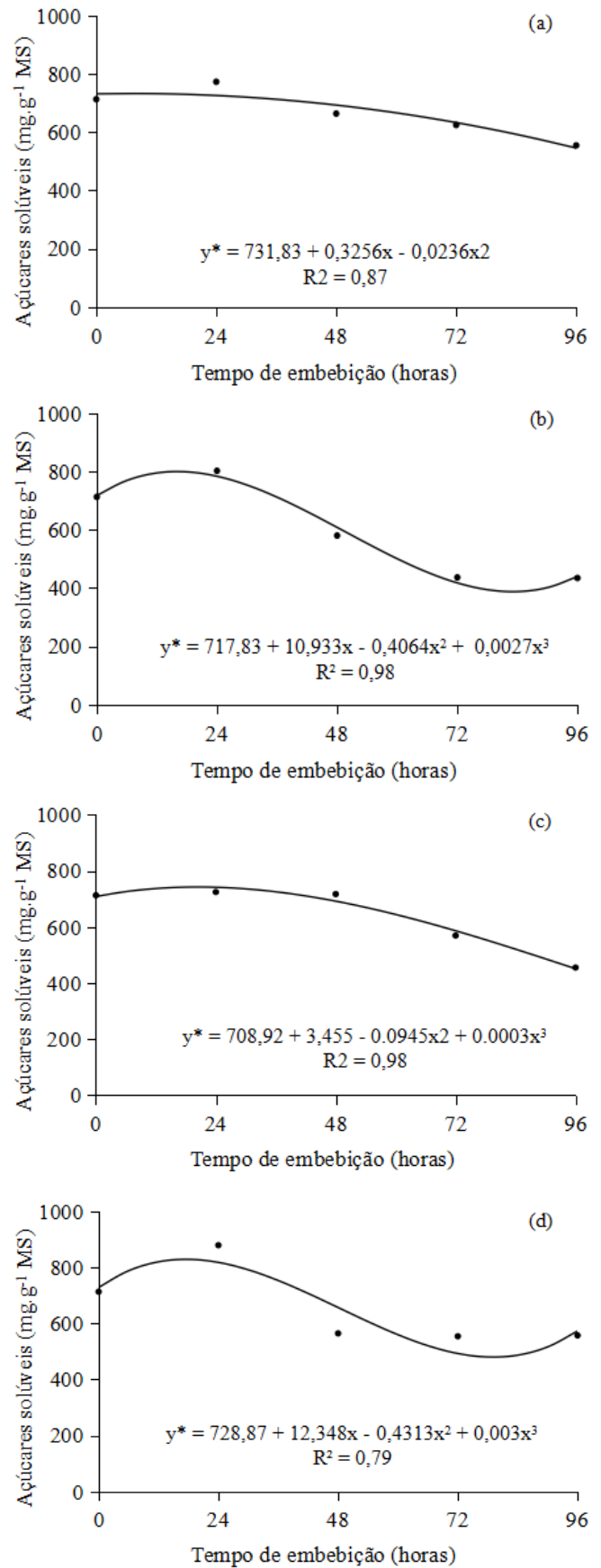
A 30 °C, a diminuição no conteúdo de lipídios observada entre o tempo inicial e 72 horas de embebição foi de 13,68%, com novo acúmulo nessa reserva em 96 horas de embebição (Figura 2C). Nesta temperatura, em 96 horas de embebição já ocorreu a protrusão da raiz primária, de forma que o aumento de lipídios pode ser atribuído à síntese destes para prover energia à raiz em formação. Neste sentido, Berni & Canniatti-Brazaca (2011), também observaram aumento no teor de lipídios na germinação de trigo.

Pela observação das alterações nas reservas de açúcares solúveis pode-se inferir que estas foram utilizadas durante a germinação das sementes em todas as temperaturas, porém maiores decréscimos foram observados nas temperaturas de 25 e 30 °C (Figuras 3B e 3C). Nestas, o teor de açúcares



\* Significativo a 5%, pelo teste t ( $p < 0,05$ )

**Figura 2.** Porcentagem de lipídios de cotilédones de sementes de *Melanoxylon brauna* durante a germinação nas temperaturas de 10 (a), 25 (b), 30 (c) e 40 °C (d).



\* Significativo a 5%, pelo teste t ( $p < 0,05$ )

**Figura 3.** Açúcares solúveis ( $\text{mg.g}^{-1}$  de massa seca) de cotilédones de sementes de *Melanoxylon brauna* durante a germinação nas temperaturas de 10 (a), 25 (b), 30 (c) e 40 °C (d).

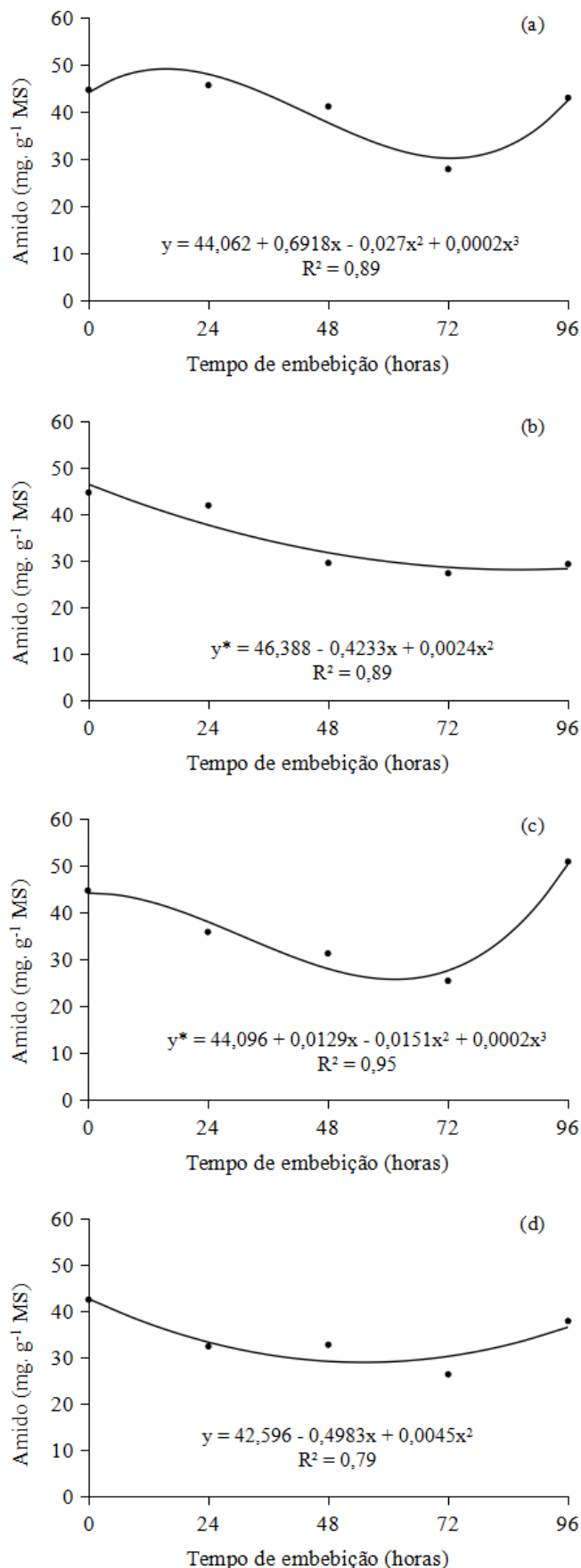
solúveis decresceu de 713,15 para 434,75 e 455,45 mg g<sup>-1</sup> (redução de 39,04 e 36,14%), respectivamente, enquanto para as temperaturas de 10 e 40 °C (Figuras 3A e 3D) tal decréscimo não ultrapassou 25%, com valores correspondentes a 554,83 e 550,50 mg g<sup>-1</sup> após 96 horas de embebição. Neste contexto, possivelmente, na faixa ótima de temperatura para germinação das sementes de *M. brauna* (25-30 °C) o metabolismo é estimulado pela assimilação e translocação mais eficiente dos carboidratos de reserva. Os decréscimos nos teores de açúcares solúveis nos cotilédones indicaram que estes foram, aparentemente, translocados para o eixo embrionário durante a fase inicial de embebição.

Os carboidratos pré-formados nas sementes servem como substrato durante o período pré-germinativo (Bewley et al., 2013), sendo os oligossacarídeos da série rafínósica utilizados como fontes primárias de energia em sementes de *Dalbergia nigra* e *Vicia faba*, respectivamente (Carrizo et al., 2010; Goyoaga et al., 2011). Na hidratação das sementes inicia-se o gasto de energia, suprida pelas reservas de sacarose, possibilitando às células os níveis de atividade metabólica necessários para sustentar o desenvolvimento do embrião.

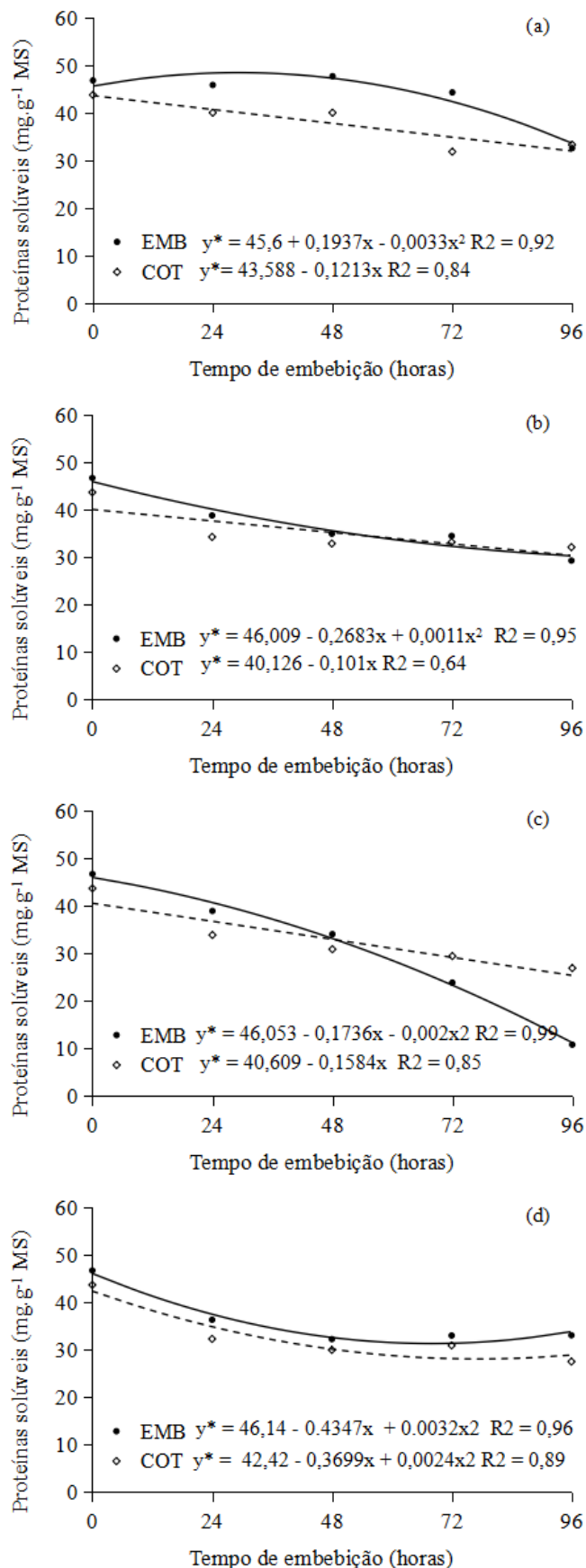
Os teores de amido na temperatura de 10 °C permaneceram praticamente constantes durante as primeiras 48 horas de embebição, decrescendo em 72 horas e retornando aos valores originais no tempo de 96 horas (Figura 4A). É possível que, em 72 horas, o amido esteja sendo utilizado para sintetizar mais reservas amiláceas, diante de uma baixa demanda do eixo embrionário. Na temperatura de 25 °C, foram observados decréscimos do tempo zero (44,64 mg g<sup>-1</sup> MS) até 48 horas de embebição (29,49 mg g<sup>-1</sup> MS), com tendência de estabilização em seguida, até as 96 horas, que manteve valores de 29,25 mg g<sup>-1</sup> MS (Figura 4B). Houve mobilização do amido até 72 horas após início da embebição em 30 °C, correspondendo a decréscimo de 43,22% (19,29 mg g<sup>-1</sup> MS) em relação ao teor inicial da reserva, porém com novo incremento em 96 horas (Figura 4C). O aumento nas reservas de amido observado em 96 horas pode ser devido à protrusão da radícula, com síntese de novas estruturas de carbono para serem translocadas e permitir o desenvolvimento da plântula.

O acúmulo de amido nas sementes no período pós-germinativo à temperatura de 30 °C pode ser atribuído à formação de amido transitório, resultante do início da mobilização das reservas lipídicas, até 72 horas nesta temperatura, que são convertidos em glicose por gliconeogênese e podem ser armazenados temporariamente como amido (Shimada & Hara-Nishimura, 2010). Para a temperatura de 40 °C, os teores médios de amido decresceram de 44,64 mg g<sup>-1</sup> MS no início da embebição para 37,82 mg g<sup>-1</sup> MS após 96 horas de embebição, indicando pequena variação no período analisado (Figura 4D). A temperatura supra ótima possivelmente acarretou danos ao sistema enzimático do metabolismo do amido, prejudicando a degradação do polissacarídeo.

Eixos embrionários e cotilédones das sementes de *M. brauna* apresentaram tendência de mobilização de proteínas solúveis em todas as temperaturas analisadas, com exceção do eixo embrionário daquelas mantidas a 10 °C (Figura 5). Observou-se quantidade superior de proteínas solúveis nos eixos embrionários das sementes secas (46,78 mg g<sup>-1</sup> MS), quando



**Figura 4.** Teores médios de amido (mg. g<sup>-1</sup> de massa seca) de cotilédones de sementes de *Melanoxylon brauna* durante a germinação nas temperaturas de 10 (a), 25 (b), 30 (c) e 40 °C (d).



\* Significativo a 5%, pelo teste t ( $p < 0,05$ ).

**Figura 5.** Proteínas solúveis ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  de massa seca) em eixos embrionários (EMB) e cotilédones (COT) de sementes de *Melanoxylon brauna* durante a germinação nas temperaturas de 10 (a), 25 (b), 30 (c) e 40 °C (d).

comparado aos cotilédones ( $43,74 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$ ). Em 10 °C, os valores de proteínas solúveis nos eixos embrionários foram relativamente estáveis por 72 horas. Nos cotilédones verificou-se decréscimo contínuo nos teores. Nas temperaturas 25 e 30 °C foram observados decréscimos progressivos nos teores de proteínas em eixos embrionários ao longo da embebição, com destaque para o grande consumo nessa reserva no embrião após 72 horas de embebição a 30 °C, atingindo valores de  $10,82 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{ MS}$  em 96 horas, o que representa redução de 76,86% em relação aos teores iniciais. Assim, a hidrólise das reservas protéicas ocorreu em todas as temperaturas avaliadas, porém foi mais expressiva após a emissão da radícula a 30 °C.

A mobilização mais intensa de proteínas no período pós-germinativo em dicotiledôneas é devido principalmente ao abaixamento do pH nos vacúolos pela introdução de íons  $\text{H}^+$  após a germinação, tornando o meio favorável à atividade das proteases, associado à síntese de novas proteínas neste período, que fornecem substrato para as endo e exopeptidases (Bewley et al., 2013). Na temperatura de 40 °C, houve redução contínua e similar nos teores de proteínas entre eixos embrionários, representando decréscimo de 29,23 e 37,01% em eixos embrionários e cotilédones, respectivamente, após 96 horas.

Essas proteínas de reserva são sintetizadas durante o desenvolvimento da semente e hidrolisadas a partir da atividade de enzimas proteolíticas, responsáveis por catalisar a clivagem de ligações peptídicas em outras proteínas, podendo atuar nas ligações internas (proteínases ou endopeptidases) ou entre os resíduos de aminoácidos C- ou N- terminal (protease ou exopeptidases) (Shen & Chou, 2009).

## Conclusão

Durante a germinação, as reservas de carboidratos solúveis são as que apresentam maior decréscimo nos cotilédones de sementes de *Melanoxylon brauna*, em todas as temperaturas, enquanto as proteínas decrescem no início do período pós germinativo, à temperatura de 30 °C.

## Literatura Citada

- Ataíde, G.M.; Borges, E.E.L.; Gonçalves, J.F.C.; Guimarães, V.M.; Flores, A.V.; Bicalho, E.M. Alterations in seed reserves of *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr All. ex Benth.) during hydration. *Journal of Seed Science*, v.35, n.1, p.56-63, 2013. <https://doi.org/10.1590/S2317-15372013000100008>.
- Berni, P.R.A.; Canniatti-Brazaca, S.G. Efeito da germinação e da sanitização sobre a composição centesimal, teor de fibras alimentares, fitato, taninos e disponibilidade de minerais em trigo. *Alimentos e Nutrição*, v.22, n.3, p.407-420, 2011. <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1307/1147>. 20 Mai. 2017.
- Bewley, J.D.; Bradford, K.J.; Hilhorst, H.W.M.; Nonogaki, H. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*. Nova York: Springer, 2013. 392 p.
- Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

- Braga, L. F.; Sousa, M. P.; Braga, J. F.; Delachiave, M. E. A. Escarificação ácida, temperatura e luz no processo germinativo de sementes de *Senna alata* (L.) Roxb. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.12, n.1, p.1-7, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722010000100001>.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa n. 6, de 23 de setembro de 2008a. Reconhecer como espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção aquelas constantes do Anexo I a esta Instrução Normativa. Diário Oficial da União, v.145, n.185, seção 1, p.75-83, 2008. [http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom\\_boletins/\\_arquivos/83\\_19092008034949.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/ascom_boletins/_arquivos/83_19092008034949.pdf). 02 Mai. 2017.
- Carrijo, L. C.L.; Borges, E. E. L.; Pontes, C. A.; Lopes, M. R.; Brune, A.  $\alpha$ -galactosidase activity and carbohydrate mobilization in seeds of *Dalbergia nigra* during germination. Cerne, v.16, n.3, p.283-289, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602010000300004>.
- Carvalho, F.A.; Nascimento, M.T.; Braga, J.M.A. Estrutura e composição florística do estrato arbóreo de um remanescente de Mata Atlântica submontana no município de Rio Bonito, RJ, Brasil (Mata Rio Vermelho). Revista Árvore, v.31, n.4, p.717-730, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622007000400017>.
- Corte, V. B.; Borges, E. E. L.; Pontes, C. A.; Leite, I. T. A.; Ventrella, M. C.; Mathias, A. A. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae Caesalpinioideae). Revista Árvore, v.30, n.6, p.941-949, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622006000600009>.
- Crepaldi, M.O.S.; Peixoto, A.L. Use and knowledge of plants by "Quilombolas" as subsidies for conservation efforts in an area of Atlantic Forest in Espírito Santo State, Brazil. Biodiversity and Conservation, v.19, n. 1, p.37-60, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10531-009-9700-9>.
- Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, v.28, p.350-356, 1956. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Flores, A.V.; Borges, E.E.L.; Guimarães, V.M.; Ataíde, G.M.; Castro, R.V.O. Germinação de sementes de *Melanoxylon brauna* schott em diferentes temperaturas. Revista Árvore, v.38, n.6, p.1147-1154, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622014000600019>.
- Goyoaga, C.; Burbano, C.; Cuadrado, C.; Romero, C.; Guillamo, E.; Varela, A.; Pedrosa, M. M.; Muzquia, M. Content and distribution of protein, sugars and inositol phosphates during the germination and seedling growth of two cultivars of *Vicia faba*. Journal of Food Composition and Analysis, v.24, n.3, p.391-397, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.11.002>.
- Guedes, R. S.; Alves, E. U.; Viana, J. S.; Gonçalves, E. P. Germinação e vigor de sementes de *Apeiba tibourbou* submetidas ao estresse hídrico e diferentes temperaturas. Ciência Florestal, v.23, n.1, p.45-53, 2013. <https://doi.org/10.5902/198050988438>.
- Hooks, M. A.; Allen, E.; Wattis, J. A. D. Modelling the peroxisomal carbon leak during lipid mobilization in *Arabidopsis*. Biochemical Society Transactions, v.38, n.5, p.1230-1233, 2010. <https://doi.org/10.1042/BST0381230>.
- Kissmann, C.; Scalon, S.P.Q.; Scalon Filho, H.; Ribeiro, N. Tratamento para quebra de dormência, temperatura e substratos na germinação de *Andenantha pavonina* L. Ciência e Agrotecnologia, v.32, n.2, p.668-674, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000200051>.
- Lima, R. B. S.; Gonçalves, J. F. C.; Pando, S. C.; Fernandes, A. V.; Santos, A. L. W. Primary metabolite mobilization during germination in rosewood (*Aniba rosaeodora* ducke) seeds. Revista Árvore, v.32, n.1, p.19-25, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-67622008000100003>.
- Lopes, L. S.; Gallão, M. I.; Bertini, C. H. C. M. Mobilisation of reserves during germination of *Jatropha* seeds. Revista Ciência Agronômica, v.44, n.2, p.371-378, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902013000200021>.
- Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 2009. 384p.
- Oliveira, A. K. M.; Ribeiro, J. W. F.; Pereira, K. C. L.; Silva, C. A. A. Temperaturas para germinação de sementes de *Tabebuia ochracea* (Cham.) Standl. Comunicata Scientiae, v.3, n.2, p.98-103, 2012. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3959510>. 22 Mar. 2017.
- Pritchard, S. L.; Charlton, W. L.; Baker, A.; Graham, I. A. Germination and storage reserve mobilization are regulated independently in *Arabidopsis*. The Plant Journal, v.31, n.5, p.639-647, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2002.01376.x>.
- Ramos, M. B. P.; Varela, V. P.; Ribeiro, M. N.; Mafra, R. M.; Batalha, L. F. P. Volume de água no substrato e temperatura na germinação de sementes de mulateiro (*Peltogyne paniculata* Benth.). Revista de Ciências Agrárias, n.48, p.193-203, 2007. <http://www.periodicos.ufra.edu.br/index.php?journal=ajaes&page=article&op=view&path%5B%5D=243>. 10 Mar. 2017.
- Shen, H.; Chou, K. Identification of proteases and their types. Analytical Biochemistry, v.385, n.1, p.153-160, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2008.10.020>.
- Shimada, L.T.; Hara-Nishimura, I. Intracellular lipid droplet-associated proteins: unique members and their biological functions. Oil-body-membrane proteins and their physiological functions in plants. Biological & Pharmaceutical Bulletin, v.33, n.3, p.360-363, 2010. <https://doi.org/10.1248/bpb.33.360>.
- Silva, D. J. Análise de alimentos - métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1990. 165 p.
- SOS Mata Atlântica; Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE. Atlas dos remanescentes da Mata Atlântica - período 2015-2016. São Paulo: SOS Mata Atlântica; Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, 2017. 69p. (Relatório Técnico). [http://mapas.sosma.org.br/site\\_media/download/atlas\\_2015-2016\\_relatorio\\_tecnico\\_2017.pdf](http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2015-2016_relatorio_tecnico_2017.pdf). 22 Mai. 2017.
- Theoudoulou, F. L.; Eastmond, P. J. Seed storage oil catabolism: a story of give and take. Current Opinion in Plant Biology, v.15, n.3, p.322-328, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.03.017>.

- Versieux, L.M.; Medeiros, M.C.M.P.; Spósito, T.C.S.; Stehmann, J.R. Characterization of the tree component in a semideciduous forest in the Espinhaço Range: a subsidy to conservation. *Revista Caatinga*, v.24, n.2, p.85-94, 2011. <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/1829>. 03 Mai. 2017.
- Virgens, I.O.; Castro, R.D.; Fernandez, L.G.; Pelacami, C.R. Comportamento fisiológico de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae) submetidas a fatores abióticos. *Ciência Florestal*, v.22, n.4, p.681-692, 2012. <https://doi.org/10.5902/198050987550>.