

Criopreservação de sementes de *Cybistax
antsyphilitica* (Mart.) Mart. - Bignoniaceae



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
338**

**Criopreservação de sementes de *Cybistax
antisyphilitica* (Mart.) Mart. - Bignoniaceae**

*Antonieta Nassif Salomão
Izumé Rita Imaculada Santos
Solange Carvalho Barrios Roveri José
Lucimar Silva Padilha
Rosângela Caldas Mundim*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Parque Estação Biológica
PqEB, Av. W5 Norte (final)
70970-717, Brasília, DF
Fone: +55 (61) 3448-4700
Fax: +55 (61) 3340-3624
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Marília Lobo Burle

Secretário-Executivo
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros
Antonieta Nassif Salomão; Diva Maria Alencar Dusi; Francisco Guilherme V. Schmidt; João Batista Teixeira; João Batista Tavares da Silva; Maria Cléria Valadares Inglis; Rosameres Rocha Galvão; Tânia da Silveira Agostini Costa

Supervisão editorial
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto
João Batista Teixeira

Normalização bibliográfica
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Tratamento das ilustrações
Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Adilson Werneck

Foto da capa
Antonieta Nassif Salomão

1ª edição
1ª impressão (ano): tiragem

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Criopreservação de sementes de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart. -
Bignoniaceae / Antonieta Nassif Salomão ... [et al.]. – Brasília - DF : Embrapa
Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2018.

18 p. : il. color. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos
Genéticos e Biotecnologia, ISSN 0102-0110 ; 338).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web.

1. Desidratação. 2. Ipê-verde. 3. Germinação. I. Santos, Izulmé Rita Imaculada.
II. José, Solange Carvalho Barrios Roveri. III. Padilha, Lucimar Silva. IV. Mundim,
Rosângela Caldas. V. Série.

CDD (21. ed.) 581.15

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	11
Conclusão.....	19
Referências	20

Criopreservação de sementes de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart. - Bignoniaceae

Antonieta Nassif Salomão¹

Izulmé Rita Imaculada Santos²

Solange Carvalho Barrios Roveri José³

Lucimar Silva Padilha⁴

Rosângela Caldas Mundim⁵

Resumo – A criopreservação é a técnica de conservação em longo prazo mais apropriada para sementes como as de *Cybistax antisyphilitica*, ortodoxas e não longevas. Visando determinar as melhores condições para a conservação criogênica da espécie, sementes com teor inicial de água de 24,1% foram desidratadas sobre sílica gel por 0, 24, 48, 72 e 96 h. Seguindo-se a cada período de dessecação, foi determinado o teor de água das sementes, conduzidos testes de germinação e sanidade e subamostras foram armazenadas em nitrogênio líquido por três e seis meses. Para cada combinação entre período de desidratação e período de congelamento, foram repetidos os testes de germinação e sanidade. Após desidratação, houve perda de germinabilidade de 62% (24,1% de umidade) para 37% (4% de umidade). Em sementes de todos os tratamentos, os fungos prevalentes foram *Phomopsis* sp. e *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. Os teores de água de 4,6% (72h de desidratação) e 4,0% (96h de desidratação) foram os mais adequados para o armazenamento das sementes em nitrogênio líquido por seis meses, pois a germinabilidade foi superior a 56%.

Termos para indexação: desidratação, ipê-verde, germinação.

¹ Engenheira Florestal, Mestre, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Bióloga, Ph.D, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Agrônoma, Doutora, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Técnica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Geógrafa, Técnica da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Cryopreservation of *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart. - Bignoniaceae seeds

Abstract – Cryopreservation is the most appropriate long-term conservation technique for seeds such as those of *Cybistax antisiphilitica*, orthodox and short life span. In order to determine the best conditions for the cryogenic conservation of the species, seeds with initial moisture content of 24.1% were dehydrated over silica gel for 0, 24, 48, 72 and 96 h. Following each desiccation period, the moisture content of the seeds was determined, germination and sanity tests were conducted and sub-samples were stored in liquid nitrogen for three and six months. For each combination between dehydration period and freezing period the germination and sanity tests were repeated. After dehydration there was loss of germinability from 62% (24.1% moisture content) to 37% (4% moisture content). In seeds of all treatments the prevalent fungi were *Phomopsis* sp. and *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. The moisture content of 4.6% (72h dehydration) and 4.0% (96h dehydration) were the most adequate for seed storage in liquid nitrogen stored for six months, since germinability was higher than 56%.

Index terms: Dehydration, green trumpet flowers, germination.

Introdução

Critérios econômicos, sociais, culturais, farmacológicos, ecológicos, entre outros, são usualmente considerados para determinar quais espécies não domesticadas são prioritárias para a conservação *ex situ*. *Cybistax antisyphilitica*, popularmente conhecida como ipê-verde e caroba, é uma espécie autóctone de renomado uso etnofarmacológico (Fenner et al., 2006; Bittencourt Jr. et al., 2011; Árvores do Brasil, 2016). Suas propriedades medicinais no tratamento contra infecções, pústulas e chagas foram inicialmente descritas no século XVI, no Tratado Descritivo do Brasil (Carvalho et al., 2016). No século XIX, Carl Friedrich Phillip Von Martius relatou que a espécie era utilizada em tratamentos de retenção urinária, hidropisia e úlceras sífilíticas (Breitbach et al., 2013). Atualmente, há comprovação científica de que os princípios ativos da espécie, triterpenos e lapachol, têm propriedades antiepiléptica, antissifilítica, analgésica, anticoagulante, anti-inflamatória, larvicida contra o mosquito *Aedes aegypti* (Mentz, et al., 1997; Rodrigues et al., 2005; Melo, 2009; Bittencourt Jr. et al., 2011; Árvores do Brasil, 2016). Sendo assim, pelo critério farmacológico a espécie está entre as prioritárias para a conservação *ex situ*.

Informações sobre a biologia da semente e sua tolerância à dessecação são importantes para nortear as ações de conservação *ex situ* (Pritchard et al., 2014). Sementes de *C. antisyphilitica* apresentam comportamento ortodoxo para fins de conservação, porém não são longevas (Freitas et al., 2011). Essas características permitem indicar a criopreservação como a técnica mais apropriada para a conservação *ex situ* de *C. antisyphilitica*. Isto porque, para sementes ortodoxas e não longevas recomenda-se que a conservação seja feita, preferencialmente, em condições criogênicas (Pritchard e Nadarajan, 2008). Outro aspecto a ser considerado para essa espécie é que dependendo da procedência do material, os fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. e *Phomopsis* sp. podem estar associados às sementes, interferindo negativamente sobre sua qualidade fisiológico-sanitária durante o armazenamento (Santos et al., 1998). Portanto, é essencial avaliar a qualidade fisiológica e a micoflora associada às sementes de *C. antisyphilitica* visando minimizar a perda de integridade do germoplasma durante a conservação.

Pesquisas têm sido conduzidas, para estabelecer ou aprimorar protocolos de criopreservação que são específicos para cada espécie e determinar as condições favoráveis de conservação, sobretudo para sementes de espécies tropicais não domesticadas. Esses protocolos baseiam-se em ajustar os processos de dessecação, congelamento e descongelamento, visando garantir a máxima sobrevivência e a integridade biológica do material (Salomão et al., 2015).

O objetivo deste trabalho foi identificar as melhores condições para a criopreservação de sementes de *C. antisiphilitica*.

Material e Métodos

As síliquas semiabertas de *C. antisiphilitica* foram coletadas de diferentes árvores em área próxima ao Jardim Botânico de Brasília (15° 51' 52"S 47° 45' 04" W). As síliquas foram mantidas em condições ambientais de laboratório (25 ± 2 ° C) por cinco dias até que se abriam completamente. As sementes foram extraídas dos frutos manualmente e homogeneizadas para formar uma única amostra de sementes. Todos os testes foram realizados no Laboratório de Sementes e no Laboratório de Criobiologia Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Determinação do teor de água das sementes após distintos períodos de dessecação

Os teores de água das sementes foram determinados pelo método de estufa 103±2 °C/24h (Brasil, 2009), com duas repetições de 50 sementes, após a desidratação sobre sílica gel (4g sílica/ 1g semente) por 0 (controle), 24, 48, 72 e 96 h. Os resultados dos teores de água foram expressos em percentuais médios com base no peso fresco.

Testes de germinação e sanidade

Seguindo-se a cada período de dessecação, as sementes foram submetidas aos testes de germinação com quatro repetições de 50 sementes cada, em substrato rolo de papel, à temperatura de incubação de 25 °C, fotoperíodo 12h luz/12h escuro, com contagens de plântulas normais por 20 dias. Os resultados foram expressos em percentuais de plântulas normais. O teste de sanidade foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes cada, adotando-se o método de papel filtro, à temperatura de incubação de 25 °C, por sete dias, sob regime alternado de luz (12h ultravioleta/12h escuro). As identificações e quantificações (em percentuais) de fungos foram feitas utilizando-se microscópio estereoscópico.

Congelamento e descongelamento das sementes

Duas subamostras de sementes com os diferentes teores de água foram imersas diretamente em nitrogênio líquido (NL) à temperatura de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, com velocidade de congelamento $>200\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$. O descongelamento das subamostras após três e seis meses de armazenamento em NL foi feito lentamente, à taxa de $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, à temperatura ambiente ($25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Para cada combinação dos tratamentos, período de desidratação e período de congelamento, foram repetidos os testes de germinação e sanidade, conforme descrito anteriormente.

Análise estatística

O experimento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5×3 (cinco períodos de dessecação: 0, 24, 48, 72 e 96 h) e três períodos de exposição ao NL (0, 3 e 6 meses). Os dados de germinação, incidência fúngica e número médio de dias para a germinação foram submetidos à análise de variância (Two-Way ANOVA), seguida de pós-teste de Bonferroni ($P > 0.05$). Para as análises foi usado o programa estatístico GraphPad Prism (@2017 Graph Pad Software Inc.).

Número médio de dias para a germinação

O número médio de dias para a germinação foi calculado segundo Santana e Ranal (2004):

$$M_{\text{dias}} = N_1G_1 + N_2G_2 + \dots + N_nG_n / G_1 + G_2 + \dots + G_n$$

Em que:

N_1, N_2, \dots, N_n = número de dias contados a partir da semeadura até o dia da observação.

G_1, G_2, \dots, G_n = número de sementes germinadas no dia da observação.

Resultados e Discussão

Visando identificar as melhores condições para a criopreservação de sementes de *C. antisiphilitica*, foram testados três períodos de armazenamento em NL, por 0, 3 e 6 meses, para sementes com diferentes teores de água. As sementes de *C. antisiphilitica* recém-extraídas das síliquas e homogeneizadas apresentaram teor de água de 24,1% (Figura 1). Ao final do tratamento de dessecação (96h), as sementes atingiram 4,0% de umidade (Figura 2). Nas primeiras 24 horas houve uma redução rápida e expressiva do teor de água das sementes de 24,1% para 7,2%. Ainda que essa redução tenha correspondido a cerca 70% do total de água das sementes, não houve diferença significativa entre os percentuais de germinação, 62% e 60%, de sementes com 24,1% e 7,2% de umidade, respectivamente (Tabela 1).

Foto: Antonieta Nassif Salomão



Figura 1. Síliqua de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.). Mart.

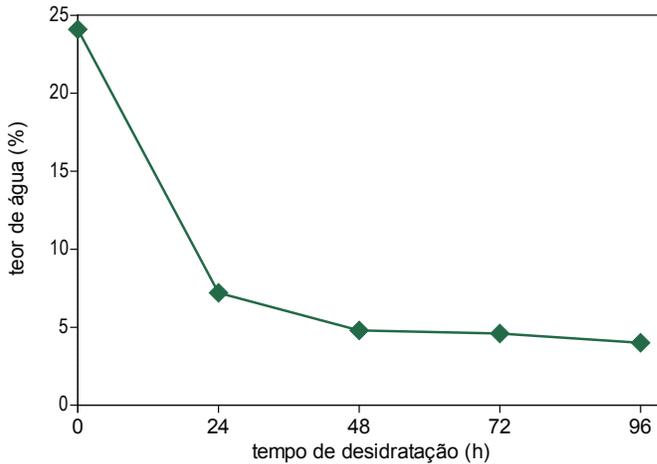


Figura 2. Curva de desidratação de sementes de *Cybistax antispyhilitica* (Mart.). Mart.

Tabela 1. Percentuais germinativos médios de sementes de *Cybistax antispyhilitica* (Mart.). Mart. após diferentes períodos de desidratação e exposição ao nitrogênio líquido (NL).

Período de desidratação (h)	Teor de água (%)	Germinação (%)		
		Inicial	3 meses em NL	6 meses em NL
0 (controle)	24,1	62 A (± 5,90)		
24		60 AB a (± 4,08)	56 ABC ab (± 2,63)	46 B bc (± 12,37)
48	4,8	31 CD b (± 4,73)	50 D a (± 2,16)	28 C bc (± 0,96)
72	4,6	20 CDE c (± 4,97)	68 Aa (± 4,55)	62 A ab (± 1,58)
96	4,0	37 Cc (± 3,30)	64 AB a (± 2,63)	56 AB ab (± 3,56)

Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si $P > 0.05$

Uma redução significativa do teor de água das sementes pode causar danos durante o processo de embebição e perda parcial ou total da germinabilidade (Silva e Villela, 2011). Um dos indicadores de que ocorreu alteração fisiológica em sementes desidratadas é o aumento do tempo necessário para que ocorra a germinação (Matos et al., 2015). Para as sementes de *C. antisiphilitica*, nos períodos subsequentes de desidratação (48, 72 e 96h), as variações dos teores de água foram semelhantes, tendendo à estabilização (Figura 2). Tais decréscimos de teores de água para 4,8%, 4,6% e 4,0% foram acompanhados por decréscimos significativos de germinabilidade das sementes, 31%, 20% e 37%, respectivamente (Tabela 1). Isso sugere, provavelmente, que durante a embebição os processos de reparo das sementes de *C. antisiphilitica* não foram eficientes a ponto de reverter as injúrias decorrentes da dessecação. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os números médios de dias para a germinação (Tabela 2). As sementes hidratadas com 24,1% de umidade apresentaram um número médio de 13,3 dias para germinar, enquanto que para sementes com 4,0% de teor de água esse tempo foi de 18,0 dias (Tabela 2). Sementes de algumas espécies, quando desidratadas, tornam-se mais vulneráveis aos danos por embebição, requerendo, portanto, uma hidratação gradual antes do teste de germinação (Hay e Probert, 2013). Possivelmente, não teria ocorrido a redução de germinabilidade com sementes de *C. antisiphilitica* se essas tivessem sido reidratadas gradualmente.

Tabela 2. Número médio de dias para a germinação de sementes de *Cydistax antisiphilitica* (Mart.). Mart. após desidratação e desidratação seguida de exposição ao nitrogênio líquido por três e seis meses.

Tratamento	Número médio de dias (dias)				
	24,1%	7,2%	4,8%	4,6%	4,0%
Desidratação	13,3abcd	15,55abc	17,88ab	17,88ab	18,0a
3 meses em NL		12,35abcd	12,24abcd	12,38abcd	12,44abcd
6 meses em NL		14,79abc	16,76ab	14,58abc	14,52abc

Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si $P > 0.05$

Em sementes ortodoxas, a tolerância à dessecação inclui a habilidade para ajustar os mecanismos metabólicos que permitam a reversibilidade de danos celulares funcionais e estruturais causados pela remoção de água (Soares et al., 2015; Leprince e Buitink, 2010). Quanto maior o grau de maturação fisiológica das sementes, maior sua tolerância à dessecação e seu potencial germinativo e de armazenabilidade (Newton et al., 2013). As sementes de *C. antisyphilitica* não vivenciaram o processo natural de dispersão que, para inúmeras espécies, coincide com a máxima maturação e qualidade fisiológica (Vidigal et al., 2011). Mesmo que as síliquas de *C. antisyphilitica* tenham apresentado características de maturação similares, como coloração castanha e tempos para sua completa abertura, supõe-se que não houve uniformidade de maturação entre as sementes. Tais variações de graus de maturação das sementes podem ter comprometido sua qualidade fisiológica, evidenciada pelos baixos percentuais germinativos após 48, 72 e 96 h de dessecação (Tabela 1).

O desempenho germinativo de sementes está também relacionado à patogenicidade de fungos associados a elas. Em sementes hidratadas de *C. antisyphilitica*, os fungos prevalentes foram *Lasiodiplodia theobromae* (26%) e *Phomopsis* sp. (58%) (Tabelas 3 e 4). Em sementes desidratadas, não houve diferença significativa entre os percentuais de incidência *L. theobromae* e *Phomopsis* sp. Os percentuais de incidência de *Phomopsis* sp. variaram entre 51% e 66% e entre 15% e 38% para *L. theobromae* (Tabelas 3 e 4).

A patogenicidade de *Lasiodiplodia theobromae* e *Phomopsis* sp. já foi relatada em sementes de outras espécies nativas. Em sementes de urucum (*Bixa orellana* L.), foi observado que a presença desses dois fungos resultou em perda de germinabilidade (Kruppa et al., 2016). Em condições de viveiro foram constatadas a redução de emergência de plântulas de angico vermelho (*Parapiptadenia rigida* Benth.) e de germinabilidade e desenvolvimento de plântulas de ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson = *Handoanthus serratifolius* (Vahl) S. O. Grose), como resultado da patogenicidade de *Phomopsis* sp. (Walker et al., 2013; Botelho et al, 2008). Os resultados obtidos com sementes de *C. antisyphilitica* nesse experimento estão em consonância com aqueles relatados por Santos et al. (1998), em que a germinabilidade das sementes de *C. antisyphilitica* foi comprometida

tanto em testes de laboratório quanto em casa de vegetação pela presença de *Phomopsis* sp. e *L. theobromae*.

Tabela 3. Percentuais médios de incidência de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl em sementes de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.). Mart. após diferentes períodos de desidratação e exposição ao nitrogênio líquido (NL).

Período de desidratação (h)	Teor de água (%)	Incidência de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (%)		
		Inicial	3 meses em NL	6 meses em NL
0 (controle)	24,1	26 CDE (± 2,31)		
24	7,2	38 A a (± 3,40)	33 ABC abc (± 3,11)	35 A ab (± 1,98)
48	4,8	33 C a (± 3,59)	32 ABCD ab (± 2,89)	25 B c (± 2,06)
72	4,6	27 CD b (± 3,87)	36 AB a (± 3,00)	16 C c (± 1,83)
96	4,0	37 AB ab (± 4,75)	41A a (± 1,91)	56 AB ab (± 1,96)

Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si $P > 0.05$

Tabela 4. Percentuais médios de incidência de *Phomopsis* sp. em sementes de *Cybistax antisyphilitica* (Mart.). Mart., após diferentes períodos de desidratação e exposição ao nitrogênio líquido (NL).

Período de desidratação (h)	Teor de água (%)	Incidência de <i>Phomopsis</i> sp. (%)		
		Inicial	3 meses em NL	6 meses em NL
0 (controle)	24,1	58 ABC (± 3,65)		
24	7,2	54 ABCD abc (± 5,60)	57 ABC ab (± 3,40)	61 ABC a (± 4,68)
48	4,8	59 AB abc (± 3,86)	60 A ab (± 1,41)	61 ABC a (± 4,23)
72	4,6	62 A ab (± 2,94)	51CD c (± 1,38)	66 A a (± 1,29)
96	4,0	37 Cc (± 3,51)	59 AB b (± 2,63)	65 AB a (± 0,96)

Letras maiúsculas iguais nas colunas e minúsculas iguais nas linhas não diferem entre si $P > 0.05$

O congelamento rápido é recomendado, desde que o máximo de água intracelular tenha sido removido durante a desidratação das sementes. Assim, o congelamento rápido promoverá um resfriamento mais uniforme da água subcelular e não haverá cristais de gelo letais se formando nas células e tecidos celulares (Benson, 2008). Em sementes de *C. antisyphilitica*, o congelamento rápido (>200 °C.min.⁻¹) não causou danos aparentes, não foram observados danos físicos como rompimento de estruturas, separação dos cotilédones ou desenvolvimento de plântulas anormais, em sementes submetidas ao congelamento em NL por três e seis meses, independente do teor de água das mesmas. Os decréscimos nos percentuais germinativos após exposição ao NL podem ser atribuídos à desorganização mecânica celular, em decorrência da inadequação do teor de água das sementes (Santos e Salomão, 2007). Sugere-se que os teores de água de sementes de *C. antisyphilitica* de 7,2% e 4,8%, em interação com a heterogeneidade de maturação das sementes e outros fatores contribuíram para a perda de germinabilidade dessas sementes.

Dessa forma, sementes com 7,2% de umidade tiveram redução significativa de germinabilidade após seis meses de exposição ao NL (Tabela 1). Para essas sementes, os percentuais de germinação foram de 60% (após desidratação), 56% (exposição ao NL por três meses) e 46% (exposição ao NL por seis meses). Sementes desidratadas a 4,8% de umidade apresentaram

diferença significativa entre os percentuais de germinação após desidratação (31%) e exposição ao NL por seis meses (28%) e o percentual de germinação obtido (50%) após três meses de exposição ao NL (Tabela 1). Essas diferenças de germinabilidade de sementes com 7,2% e 4,8% de umidade podem ser atribuídas ao vigor heterogêneo das amostras resultando em germinação desuniforme ou maturação precoce das sementes que contribui para acelerar o processo de deterioração das mesmas (Mondo et al., 2012; Borba et al., 2016).

Sementes com teores de água de 4,6% e 4,0% e armazenadas em NL por três e seis meses apresentaram maiores percentuais de germinação, quando comparados aos percentuais germinativos observados após desidratação (Tabela 1). Para sementes com 4,6% de umidade, os valores foram de 68% e 62%, três e seis meses de armazenamento em NL, respectivamente. Sementes com 4,0% de umidade atingiram 64% (exposição ao NL por três meses) e 56% (exposição ao NL por seis meses). O número médio de dias para a germinação destas sementes com teores de água de 4,6% e 4,0% foi similar, tanto após três meses quanto após seis meses de exposição ao NL (Tabela 2).

As condições que conferem maior longevidade às sementes são as mesmas que preservam a viabilidade fúngica durante a conservação (Mycock e Berjak, 1995). Em geral, fungos sobrevivem à criopreservação sem que haja alterações em suas morfologia e funções metabólicas (Chetverikova, 2009). *L. theobromae* e *Phomopsis* sp mantiveram-se viáveis em sementes de *C. antisyphilitica*, independentemente do teor de água e do período de congelamento em NL (Tabelas 3 e 4). Após três meses de exposição ao NL, os percentuais de incidência de *Phomopsis* sp. foram de 51% a 60% e os de *L. theobromae* foram de 32% a 41% (Tabelas 3 e 4).

Houve diferença significativa do percentual médio de incidência de *Phomopsis* sp. para as sementes com 4,0% de umidade e expostas ao NL por seis meses (65%) quando comparado aos percentuais médios de incidência após desidratação (51%) e exposição ao NL por três meses (59%). Observou-se diferença significativa dos percentuais médios de incidência de *L. theobromae*, 16% (sementes com 4,6% de umidade) e 15% (sementes 4,0% de umidade) e expostas por seis meses ao NL (Tabelas 3 e 4).

A interação entre os seguintes fatores – ineficiente habilidade para ajustar os mecanismos metabólicos durante a embebição, heterogeneidade de maturação das sementes e ocorrência dos fungos *Phomopsis* sp. e *L. theobromae* – podem ter interferido negativamente sobre a germinabilidade de sementes de *C. antisyphilitica* antes e após o tratamento de dessecação. Por outro lado, a exposição ao NL para sementes com teores de água de 4,6% e 4,0% teve efeito positivo sobre a germinabilidade das mesmas. Conforme

observado em sementes de outras espécies, a pressão exercida pelo NL sobre a testa da semente pode amolecê-la ou mesmo trincá-la, favorecendo a embebição durante a fase inicial da germinação (Kholina e Voronkova, 2012).

Conclusão

A dessecação de sementes de *C. antisiphilitica* para valores de 4,6% e 4,0% de umidade foi adequada à criopreservação do material por seis meses.

Referências

ÁRVORES DO BRASIL. Disponível em: <<http://arvores.brasil.nom.br/new/ipeverde/index.htm>>. Acesso em: 15 maio 2016.

BENSON, E. E. Cryopreservation theory. In: REED, B. M. (ed.) **Plant cryopreservation: a practical guide.** New York: Springer, 2008. p. 15-32.

BITTENCOURT JUNIOR, N. S.; PEREIRA JUNIOR., E. J.; SÃO-THIAGO, P. de S.; SEMIR, J. The reproductive biology of *Cybistax antisiphilitica* (Bignoniaceae), a characteristic tree of the South American savannah-like “Cerrado” vegetation. **Flora**, v. 206, p. 872- 886, 2011.

BORBA, I. C. G. de; BANDEIRA, J. de M.; MARINI, P.; MARTINS, A. B. N.; MORAES, D. M. de. Metabolismo antioxidativo para separação de lotes de sementes de diferentes graus de homogeneidade. **Revista Brasileira de Biociências**, v.12, p. 20-26, 2014.

BOTELHO, L. da S.; MORAES, M. H. D.; MENTEN, J. O. M. Fungos associados às sementes de ipê-amarelo (*Tabebuia serratifolia*) e ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*): incidência, efeito na germinação e transmissão para as plântulas **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 343-348, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

BREITBACH, U. B.; NIEHUES, M.; LOPES, N. P.; FARIA, J. E. Q.; BRANDÃO, M.G.L. Amazonian Brazilian medicinal plants described by C.F.P. von Martius in the 19th century. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 147, n. 1, p. 180–189, 2013.

CARVALHO, B. F.; JAQUES, F. E.; SANTOS, C. F. M. dos. A flora como ferramenta: a importância das plantas medicinais para a colonização da América portuguesa no século XVI. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE HISTÓRIA, 4., 2009, Maringá. [**Anais**]. Maringá: Universidade Federal de Maringá – PR, 2009. Disponível em: < <http://www.pph.uem.br/cih/anais/trabalhos/433.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2016.

CHETVERIKOVA, E. P. The problem of stability of organisms after cryopreservation (fungi as example). **Biophysics**, v 54, n. 5, p. 626 – 630, 2009.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n.3, p. 369-394, 2006.

FREITAS; M. N.; SANTANA, D. G.; CAMARGO, R. de. Conservação de sementes de ipê-verde (*Cybistax antisyphilitica* Mart.) por armazenamento à vácuo. **Revista Verde**, v. 6, n. 4, p.142 – 148, 2011.

HAY, F. R.; PROBERT, R. J. Advances in seed Conservation of wild plant species: a review of recent research. **Conservation Physiology**, v. 1, p. 1-11, 2013.

KHOLINA, A. B.; VORONKOVA, N. M. Seed cryopreservation of some medicinal legumes. **Journal of Botany**, v. 2012, artigo ID 186891, 7 p. doi:10.1155/2012/186891.

KRUPPA, P. C.; RUSSOMANNO, O. M. R.; FABRI, E. G. **Fungos em sementes de urucum**. 2012. Disponível em: < http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=170> Acesso em: 16 julho 2016.

LEPRINCE, O.; BUITINK, J. Desiccation tolerance: from genomic to the field. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 554-564. 2010.

MATOS, A. C. B.; BORGES, E. E. L.; SILVA, L. J. da. Fisiologia da germinação de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Allemão ex Benth. sob diferentes temperaturas e tempos de exposição. **Revista Árvore**, v. 39, p.115-125, 2015.

MELO, P. R. B. de. **Qualidade fisiológica e armazenamento de ipê-verde (*Cybistax antisyphilitica* (Mart.) Mart.)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 122 p. 2009.

MENTZ, L. A.; LUTZEMBERGER, L. C.; SCHENKEL, E. P. Flora medicinal do Rio Grande do Sul: notas sobre a obra de D'Ávila (1910). **Caderno de Farmácia**, v. 13, n.1, p. 25-48, 1997.

MONDO, V. H. V.; CICERO, S. M.; DOURADO-NETO, D.; PUPIM, T. L.; DIAS, M. A. N. Vigor de sementes e desempenho de plantas de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n.1, p. 143 – 155, 2012.

MYCOCK, D. J.; BERJAK, P. The implications of seed-associated mycoflora during storage. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (ed.). **Seed development and germination**. New York: CRC Press, 1995. p. 747-766.

NEWTON, R. J.; HAY, F. R.; ELLIS, R. H. Seed development and maturation in early spring-flowering *Galanthus nivalis* and *Narcissus pseudonarcissus* continues post-shedding with little evidence of maturation in planta. **Annals of Botany**, v. 111, n. 5, p. 945-955, 2013.

PRITCHARD, H. W.; MOAT, J. F.; FERRAZ, J. B. S.; MARKS, T. R.; CAMARGO, J. L. C.; NADARAJAN, J.; FERRAZ, I. D. K. Innovative approaches to the preservation of forest trees. **Forest Ecology and Management**, v. 333, n. 1, p. 88-98, 2014.

PRITCHARD, H. W.; NADARAJAN, J. Cryopreservation of orthodox (desiccation tolerant) seeds. In: REED, B. M. (Ed.). **Plant cryopreservation: a practical guide**. New York: Springer, 2008. p. 485–501.

RODRIGUES, A. M. S.; PAULA, J. E.de; ROBLLOT, F.; FOURNET, A.; ESPINDOLA, L. S. Larvicidal activity of *Cydistax antisyphilitica* against *Aedes aegypti* larvae. **Fitoterapia**, v. 76, n.7/8, p.755-757, 2005.

SANTANA, D. G. DE; RANAL, M. A. **Análise da germinação**: um enfoque estatístico. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2004. 248 p.

SALOMÃO, N. A.; SANTOS, I. R. I.; WALTER, B.M. T. Coleta e conservação de recursos genéticos ex situ: sementes de espécies florestais nativas. In: PIÑA-RODRIGUES, F. C.; FIGLIOLA, M. B.; SILVA, A. da. (Org.). **Sementes florestais tropicais**: da ecologia à produção. Londrina: ABRATES, 2015. p. 167-178.

SANTOS, I. R. I.; SALOMÃO, A. N. Criopreservação de germoplasma vegetal. In: Nass, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 545 – 573.

SANTOS, M. F.; RIBEIRO, W. R. C.; FAIAD, M. G. R.; SALOMÃO, A. N. Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica das sementes de caroba (*Cydistax antisyphilitica* (Mart.) Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 1, p. 1-6. 1998.

SILVA, K. da R. G. da; VILLELA, F. A. Pré-hidratação e avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 2, p. 331-345, 2011.

SOARES, G. C. M.; DIAS, D. C. F. dos S.; FARIA, J. M. R.; BORGES, E. E. L. Physiological and biochemical changes during the loss of desiccation tolerance in germinating *Adenanthera pavonina* L. seeds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, n. 4, p. 2001-2011, 2015.

VIDIGAL, D. de S.; DIAS, D. C. F. dos S.; DIAS, L. A. S.; FINGER, F. L. Changes in seed quality during fruit maturation of sweet pepper. **Scientia Agricola**, v. 68, n.5, p. 535-539, 2011.

WALKER, W.; MACIEL, C. G.; BOVOLINI, M. P.; POLLET, C. S.; MUNIZ, M. F. B. Transmissão e patogenicidade de *Phomopsis* sp. associadas às sementes de angico-vermelho (*Parapiptadenia rigida* Benth.). **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 216-222, 2013.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*