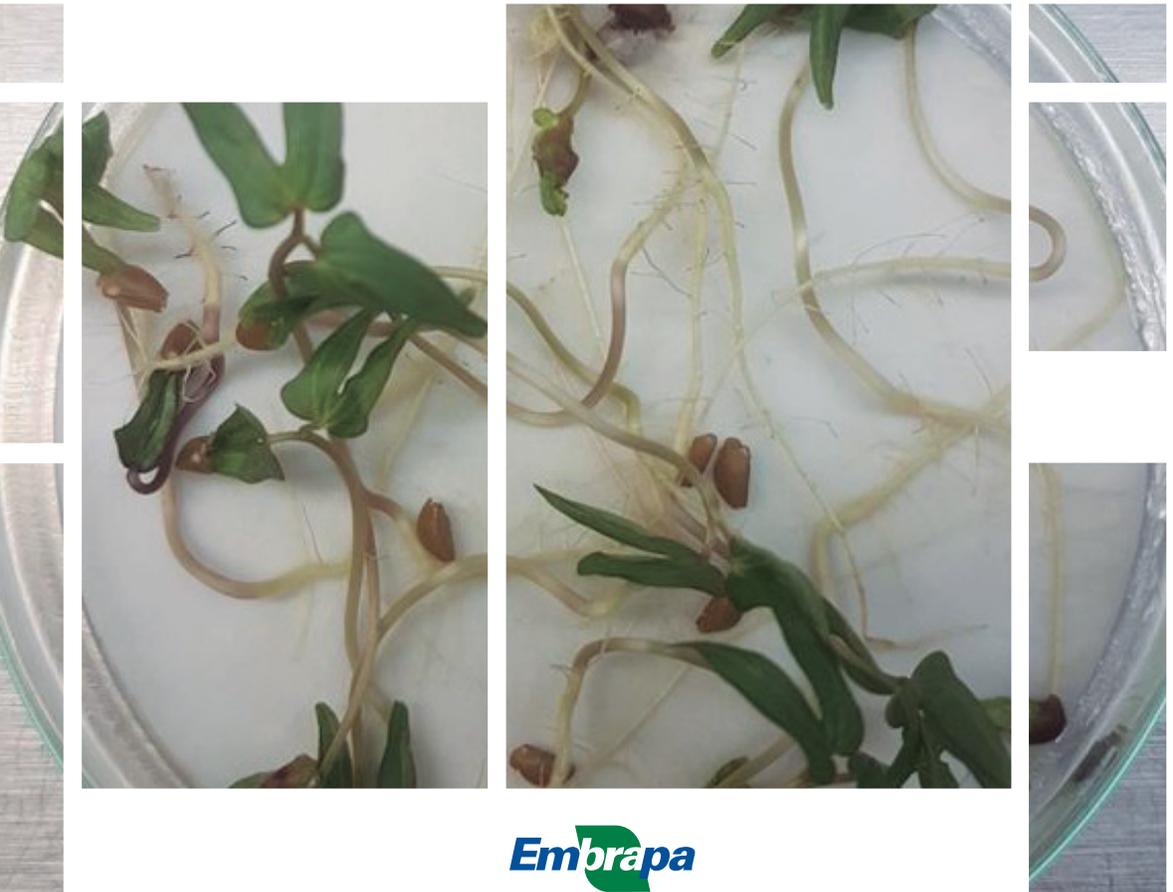


Germinação de sementes de *Ipomoea
cynanchifolia* após armazenamento em
diferentes temperaturas e escarificação



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

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
354**

**Germinação de sementes de *Ipomoea
cynanchifolia* após armazenamento em
diferentes temperaturas e esscarificação**

*Izulmé Rita Imaculada Santos
Antonieta Nassif Salomão*

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
Milene Castellen Sathler

Secretária-Executiva
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

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

Supervisão editorial
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto
João Batista Teixeira

Normalização bibliográfica
Rosameres Rocha Galvão

Tratamento das ilustrações
Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Adilson Werneck

Foto da capa
Izulmé Rita Imaculada Santos

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

Germinação de sementes de *Ipoema cynanchifolia* após armazenamento em diferentes temperaturas e escarificação / Izulmé Rita Imaculada Santos, Antonieta Nassif Salomão – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2019.

21 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 354).

ISSN: 0102-0110

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader (PDF)

Modo de Acesso: World Wide Web

1. Criopreservação. 2. Dormência. 3. Escarificação. I. Santos, Izulmé Rita Imaculada. II. Salomão, Antonieta Nassif. III. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. IV. Série.

631.521 – CDD 21

© Embrapa, 2019

Ana Flávia do N. Dias Côrtes (CRB1/1999)

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	6
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	11
Conclusões.....	15
Agradecimento	16
Referência Bibliográfica.....	16

Germinação de sementes de *Ipomoea cynanchifolia* após armazenamento em diferentes temperaturas e escarificação

Izulmé Rita Imaculada Santos¹

Antonieta Nassif Salomão²

Resumo – *Ipomoea cynanchifolia* Meisn., *Convolvulaceae*, é um parente silvestre da espécie *Ipomoea batatas* (L.) Lam., a batata-doce. Nesse estudo, sementes com 7,8% de teor de água foram armazenadas em estufa tipo B.O.D. (25 °C), em freezer (-18 °C) e em nitrogênio líquido (-196 °C) por sete dias. Após o armazenamento, as sementes foram submetidas a tratamento de descontaminação por 15 min, seguida de três enxagues com água destilada esterilizada, e em seguida procedeu-se a escarificação das sementes, que consistiu em um corte no polo oposto ao hilo, feito com alicate de unha. Sementes não escarificadas (controle, ESC-) e escarificadas (ESC+) foram semeadas em placas de Petri entre discos de papel filtro, umedecidos com água na quantidade de três vezes sua massa e levadas à sala de crescimento com temperatura de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12h. Foram feitas observações diárias e contagens aos 3, 7, 15 e 30 DAS (dias após semeadura), adotando-se os critérios botânico (protrusão radicular) e tecnológico (formação de plântula normal com hipocótilo clorofilado, cotilédones e raiz). Independentemente da temperatura de armazenamento, os percentuais de germinação das sementes não escarificadas foram baixos, sendo que o maior percentual de germinação (15%) foi das sementes armazenadas a -196 °C. Em contrapartida, os percentuais de germinação das sementes escarificadas foram altos variando de 97% a 100%. Esses resultados evidenciam a ocorrência de dormência em sementes de *I. cynanchifolia*, a necessidade de realizar a escarificação para promover sua germinação e a tolerância das sementes ao armazenamento em temperaturas abaixo de zero.

Termos para indexação: Criopreservação, dormência, escarificação.

¹ Bióloga, doutora, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Engenharia Florestal, mestre, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Germination of *Ipomoea cynanchifolia* seeds after storage at different temperatures and scarification.

Abstract – *Ipomoea cynanchifolia* Meisn., Convolvulaceae, is a wild relative of *Ipomoea batatas* (L.) Lam. (sweet potato). In this study, seeds with 7.8% water content were stored in a germinator (25 °C), a freezer (-18 °C) and in liquid nitrogen (-196 °C) for seven days. After storage, seeds underwent a decontamination treatment for 15 min, followed by three rinses with sterile distilled water, and after that seeds were scarified, by means of a cut in the opposite pole to the hilum made with nail pliers. Non-scarified (control, ESC-) and scarified (ESC +) seeds were sown in Petri dishes between filter paper discs soaked with water equivalent to three times the mass of the discs, and taken to a growth room at 25 ± 2 °C, with a 12h photoperiod. Observations occurred daily and counts occurred at 3, 7, 15 and 30 days after sowing using botanic (radicle protrusion) or technological (formation of a normal seedling with a green hypocotyl, cotyledons and root) criteria. Regardless of the storage temperature, germination percentages of ESC- seeds were low, with highest percentage of germination (15%) for seeds stored at -196 °C. In contrast, germination percentages for ESC+ seeds were high, ranging from 97% to 100%. These results show the occurrence of dormancy in *I. cynanchifolia* seeds, the need for scarification to promote seed germination and seed tolerance to storage at temperatures below freezing.

Index terms: Cryopreservation, dormancy, scarification

Introdução

Ipomoea cynanchifolia Meisn., Convolvulaceae, é um parente silvestre da *Ipomoea batatas* (L.) Lam (batata-doce), uma cultura de grande importância para a agricultura mundial e uma das hortaliças mais cultivadas no Brasil. Parentes silvestres são espécies não domesticadas que compartilham ancestralidade relativamente recente com plantas cultivadas. Essas espécies detêm um valioso patrimônio genético por serem fonte de genes para uso em programas de melhoramento genético. Genes derivados dessas espécies podem contribuir para aumentar a produtividade, a resistência a pragas e doenças, a tolerância a estresses abióticos, e a mitigação dos impactos

adversos das mudanças climáticas sobre a produção agrícola (Walter et al., 2005). O Brasil possui uma rica diversidade de parentes silvestres da batata-doce em várias regiões brasileiras. Muitas dessas plantas são cultivadas como espécies ornamentais sobre cercas, muros e caramanchões por apresentarem flores intensamente coloridas e vistosas (Azania et al., 2003).

As espécies de parentes silvestres de espécies cultivadas e o acervo genético nelas contido encontram-se em processo de erosão genética e em risco de extinção devido à destruição dos ambientes naturais por ações antrópicas, às mudanças climáticas e à introdução maciça de culturas exóticas. Em vista disso, a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), o Tratado Internacional de Recursos Fitogenéticos e a Convenção sobre Diversidade Biológica recomendam urgência na tomada de ações de conservação de parentes silvestres para buscar a amplitude da variedade genética, garantir o desenvolvimento agrícola e a segurança alimentar no futuro. Uma das prioridades do Fundo Global para a Diversidade Agrícola (Global Crop Diversity Trust) é promover a coleta e conservação em coleções de germoplasma ex situ de parentes silvestres de espécies cultivadas de importância para a alimentação humana, especialmente aquelas que constam do ANEXO I do Tratado Internacional sobre Recursos Fitogenéticos para a Alimentação e a Agricultura (TIRFAAA), como é o caso da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.).

O Brasil possui uma rica diversidade de parentes silvestres da batata-doce em várias regiões brasileiras, mas a diversidade genética dessas espécies ainda não está bem representada em coleções de germoplasma do país e encontra-se em risco de desaparecimento em decorrência da intensa fragmentação de habitats e alteração de paisagens naturais, observadas nas últimas décadas em todos os grandes biomas, como a Amazônia, o Cerrado, o Pantanal, a Caatinga e a Mata Atlântica. Em decorrência disso e devido à importância dessas plantas para o melhoramento genético, a coleta de parentes silvestres da batata-doce foi proposta no projeto “Filling the gaps on Brazilian crop wild relatives in ex situ collections: germplasm collecting of wild Eleusine, *Ipomoea*, *Oryza* and *Solanum*”, liderado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e coordenado pelo Fundo Global para a Diversidade Agrícola. Um dos objetivos do projeto é que as espécies silvestres sejam incorporadas a coleções de germoplasma em bancos genéticos para conservação e uso. *I. cynanchifolia* foi um dos parentes silvestres de batata-

doce coletados nas expedições de coleta realizadas no âmbito do projeto, e o estabelecimento de uma técnica de conservação *ex situ* para essa amostra é uma prioridade.

Existem diferentes técnicas apropriadas para a conservação em longo prazo de germoplasma vegetal. Dentre elas, a criopreservação em nitrogênio líquido a -196 é uma das tecnologias mais eficientes e pode ser usada para o armazenamento de diferentes estruturas vegetais, como ápices caulinares, calos, células em suspensão, gemas laterais, grãos de pólen, embriões zigóticos e somáticos, além de sementes (Dinato et al., 2018; Oliveira et al., 2019; Salomão et al., 2016; Santos e Salomão, 2016, 2017). De acordo com Silva et al. (2007), a conservação de sementes constitui-se na forma mais simples, comum e prática para conservar recursos genéticos vegetais, e essa foi a abordagem selecionada para *I. cynanchifolia*, já que o material obtido durante as expedições de coleta realizadas foram sementes.

Estudos sobre a biologia e a propagação de espécies de *Ipomoea* comprovaram a ocorrência de dormência em suas sementes (Azania et al., 2003; Pazuch et al., 2014). A dormência retarda ou impede a germinação de sementes viáveis, mesmo que as condições sejam apropriadas para a retomada do desenvolvimento do embrião (Abdo; Fabri, 2015). Existem vários mecanismos de dormência, mas uma das causas mais comuns é a impermeabilidade dos tegumentos das sementes à água e aos gases, como ocorre em espécies de *Ipomoea* (Azania et al., 2003). A dormência de sementes pode ser quebrada utilizando diversas técnicas de escarificação desenvolvidas para causar ruptura ou desgaste dos tegumentos da semente e permitir a hidratação e o início do processo de germinação, sem afetar a viabilidade da semente e a emergência das plântulas (Kimura; Islam, 2012). A escarificação ácida (ácido sulfúrico, ácido clorídrico), a escarificação por aquecimento (calor seco, areia aquecida, água quente), a escarificação por frio (congelamento-descongelamento) e a escarificação mecânica (lixa, tesouras, alicate) são os métodos mais utilizados para a quebra da dormência (Kimura; Islam, 2012). Sementes de diferentes espécies de *Ipomoea* respondem de forma distinta a esses métodos de superação de dormência, e a determinação do método mais eficaz para promover a quebra de dormência das sementes de cada espécie é essencial para permitir a germinação das sementes dessas espécies (Azania et al., 2003; Pazuch et al., 2014).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi testar o efeito de diferentes temperaturas de armazenamento e do desponte sobre a germinação de sementes de *I. cynanchifolia*, com vistas a desenvolver um procedimento de conservação para essa espécie.

Material e Métodos

Material vegetal

As sementes utilizadas nesse estudo foram coletadas durante expedições de coleta realizadas no escopo do projeto “Filling the gaps on Brazilian crop wild relatives in ex situ collections: germplasm collecting of wild Eleusine, *Ipomoea*, *Oryza* and *Solanum*” liderado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e coordenado pelo Fundo Global para a Diversidade Agrícola (Global Crop Diversity Trust). A amostra utilizada foi o acesso ISG 17 coletado em área do bioma Cerrado, na Fazenda Saco Grande localizada no município de Unaí, estado de Minas Gerais, coordenadas 15° 58' 50" S e 46° 50' 16" W e enviada ao Laboratório de Criobiologia Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Ao chegarem ao laboratório, as sementes já se encontravam debulhadas e foram armazenadas imediatamente em estufa a 25 °C até o momento da realização dos testes.

Métodos de preparo de amostras e condições de armazenamento

As sementes foram inspecionadas para detectar e descartar as vazias ou perfuradas. Após a inspeção, foram separadas sete amostras de sementes íntegras para a realização dos testes propostos. A primeira amostra, constituída por quatro repetições de 20 sementes, foi utilizada para determinar o teor de água das sementes pelo método de estufa 103 ± 2 °C/24h (Brasil, 2009), e o resultado foi expresso em percentuais médios com base na massa fresca das sementes. As outras seis amostras, cada uma com quatro repetições de 20 sementes, foram transferidas para criotubos devidamente identificados e armazenadas em estufa a 25 °C (controle), em freezer no laboratório (-18 °C) e em criotanque, submersas em nitrogênio

líquido (-196 °C), por sete dias. Em cada temperatura de armazenamento, foram acondicionadas duas amostras, sendo uma destinada ao tratamento de escarificação (ESC+) e outra para permanecer sem escarificação (ESC-). As sementes armazenadas a -18 °C e -196 °C foram descongeladas por mergulho dos criotubos em banho-maria com água esterilizada aquecida a 40 ± 2 °C, com agitação manual, por 2 - 3 min.

Métodos de descontaminação, escarificação e condições de germinação

A descontaminação das sementes constituiu-se em imergi-las em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl, 2,5 % de cloro ativo, v/v), contendo 1,0 ml de detergente de cozinha e 1,0 ml de Tween 20 por 15 min., sob agitação a 190 rpm em shaker horizontal. Após 15 min., as sementes foram levadas à cabine de fluxo laminar onde foram lavadas três vezes com água destilada esterilizada em autoclave, sob agitação manual, para a remoção dos produtos. Em seguida, foi feita a escarificação das sementes, a qual consistiu em fazer um corte no polo oposto ao hilo da semente usando um alicate de unha, esterilizado em autoclave (15 min, 121 °C, 1,5 atm). Sementes escarificadas (ESC+) e não escarificadas (ESC-) foram semeadas (quatro repetições de 20 sementes) em placas de Petri (9 mm de diâmetro) sobre dois discos de papel filtro e cobertas com outros dois discos de papel filtro umedecidos ao ponto de saturação com a adição de 5 ml de água destilada esterilizada em autoclave (15 min, 121 °C, 1,5 atm). Após o semeio, as placas foram mantidas em sala de crescimento com temperatura de incubação de 25 ± 2 °C e em presença de 12h de luz branca do tipo LED/12h de escuro. Foram feitas observações diárias durante 30 dias após o semeio (DAS) e contagens de germinação aos 3, 7, 15 e 30 DAS para os critérios botânico e tecnológico, de acordo com recomendação descrita na literatura (Moraes, 2016). Nas contagens, foram registrados o número de sementes em que houve protrusão radicular (critério botânico) e o número de indivíduos com presença de hipocótilo clorofilado e raiz principal (critério tecnológico).

Análise estatística

Os resultados de germinação, referentes ao número de indivíduos com presença de hipocótilo clorofilado e raiz principal (critério tecnológico), foram submetidos à análise de variância (Two-Way ANOVA), seguida de pós-

teste de Bonferroni ($P < 0,001$) usando o programa estatístico GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.).

Resultados e Discussão

O teor de água das sementes de *I. cynanchifolia*, no momento do armazenamento, foi de 7,8%, determinado pelo método de estufa (103 ± 2 °C/24h) e expresso com base na massa fresca das sementes (Brasil, 2009). Esse teor de água é compatível com o armazenamento em temperaturas sub-zero, portanto não foram feitos ajustes no teor de água das sementes antes do armazenamento em nitrogênio líquido.

Os percentuais de germinação de sementes não escarificadas foi menor, independente da temperatura de armazenamento, sendo que nesse caso o maior percentual (15%) foi obtido para as sementes armazenadas em nitrogênio líquido, a -196 °C, embora os resultados da análise estatística evidenciaram que não houve diferença significativa entre esse valor e aqueles obtidos para sementes armazenadas a 25 °C e a -18 °C (Figuras 1 e 2). A exposição de sementes a ciclos de resfriamento-aquecimento, provoca a formação de fraturas no tegumento, as quais aumentam a permeabilidade do tegumento à água e aos gases e, em consequência, as taxas de germinação (Kimura; Islam, 2012; Patanè; Gresta, 2006). Entretanto, relatos sobre o efeito do armazenamento em nitrogênio líquido sobre as taxas de germinação de sementes são contrastantes, existindo tanto relatos de melhoria quanto relatos de inexistência de efeito sobre as taxas de germinação de sementes congeladas (Kimura; Islam, 2012).

Os percentuais de germinação das sementes escarificadas foram mais altos e o processo germinativo foi mais uniforme, com baixa variação em função da temperatura de armazenamento, tendo variado de 97% a 100% (Figura 1). Esses resultados evidenciam a existência de dormência em sementes de *I. cynanchifolia* e corroboram aqueles obtidos em estudos anteriores que relataram que as sementes de várias espécies do gênero *Ipomoea* apresentam dormência causada por impermeabilidade do tegumento à água, atribuída à camada de células paliçádicas do tegumento externo (Azania et al., 2003; Chandler et al., 1977; Chaves et al., 2017; Egley, 1990; Hardcastle, 1978; Horak; Wax, 1991; Moaisi; Phillips, 1991;

Ogunwenmo; Ugborogho, 1999; Pazuch et al., 2014; Stoller; Wax, 1974). A dormência tegumentar não é específica de espécies de *Ipomoea*, e ocorre também em sementes de outras espécies de plantas exóticas ou nativas, como por exemplo *Distimake aegyptus* (L.) Simões & Staples (corda de viola), *Delonix regia* (Hook.) Raf. (flamboyant), *Hymenaea* spp (jatobá), *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. (leucena), *Bowdichia virgiloides* Kunth (sucupira-preta) e *Tectona grandis* L. f. (teca) (Albuquerque et al., 2007; Costa et al., 2017; Moraes, 2016; Soares et al., 2017; Souza et al., 2007; Zwirtes et al., 2013). A impermeabilidade dos tegumentos impede a absorção de água e por consequência o início da germinação, a qual só será possível após a ruptura ou desgaste do tegumento utilizando algum dos vários métodos de escarificação conhecidos para a superação de dormência (Kimura; Islam, 2012). A escarificação mecânica usando lixa, descascadores ou instrumentos cortantes (alicate, tesouras, bisturi) para a realização de cortes, perfurações ou desgaste do tegumento, é um método eficiente para a superação de dormência, tendo sido utilizado para a quebra de dormência de sementes de *I. sinensis*, resultando em aumento nas taxas de germinação (Moaisi; Phillips, 1991). Efeito semelhante da escarificação mecânica foi obtido para sementes de *I. obscura*, *I. aquática*, *I. hederifolia* e *I. involucrata* (Ogunwenmo; Ugborogho, 1999). No presente trabalho, a escarificação mecânica, que consistiu na realização de desponete na extremidade oposta ao hilo com alicate de ponta fina, foi eficiente para quebrar a dormência de sementes de *I. cynanchifolia*, sendo que os percentuais de germinação das sementes escarificadas (ESC+) foram significativamente superiores aos obtidos para sementes não escarificadas (ESC-), como mostram as Figuras 1 e 3. Por outro lado, não houve diferença estatística significativa entre os percentuais de germinação obtidos para sementes armazenadas nas três diferentes temperaturas, os quais foram 98% (25 °C), 97% (-18 °C) e 100% (-196 °C) (Figura 1).

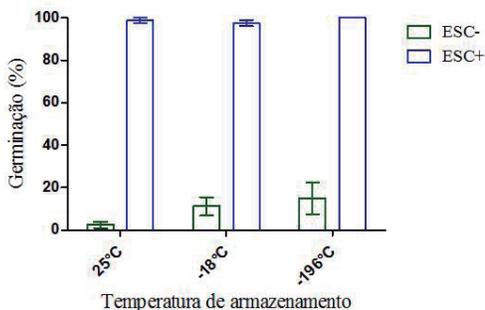


Figura 1. Percentuais de germinação de sementes de *Ipomoea cynanchifolia* Meisn., com (ESC+) e sem (ESC-) escarificação, após armazenamento em diferentes temperaturas.

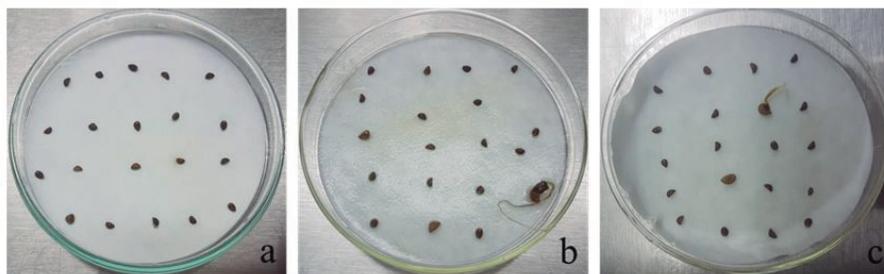


Figura 2. Germinação de sementes não escarificadas (ESC-) de *Ipomoea cynanchifolia* Meisn. armazenadas em freezer em estufa a 25 °C (a), em freezer a -18 °C (b) e em nitrogênio líquido a -196 °C (c), aos 15 DAS.

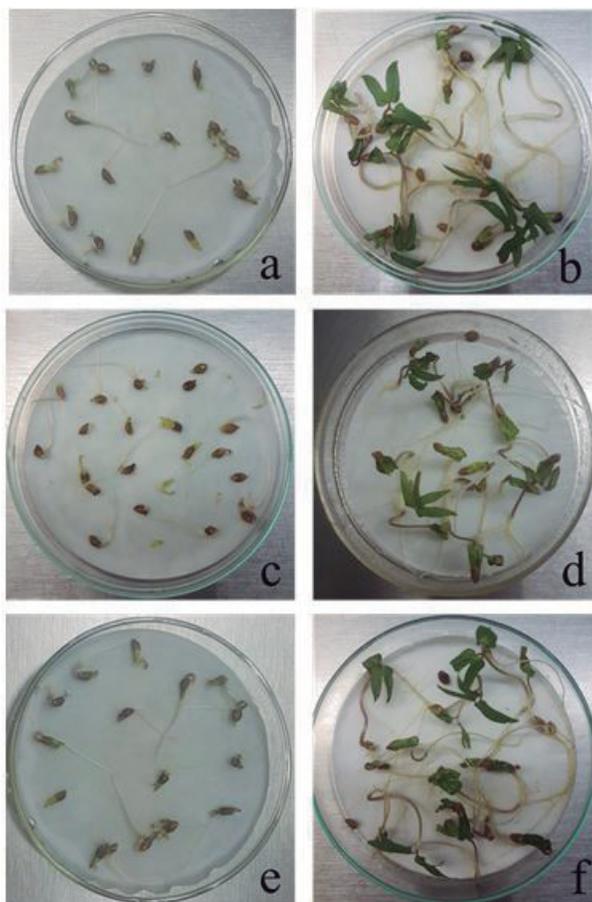


Figura 3. Germinação de sementes escarificadas (ESC+) de *Ipomoea cynanchifolia* Meisn. Sementes armazenadas em estufa tipo B.O.D. a 25 °C aos 3 DAS (a) e aos 15 DAS 9 (b); em freezer a -18 °C aos 3 DAS (c) e aos 15 DAS (d) e sementes armazenadas em nitrogênio líquido a -196 °C aos 3 DAS (e) e aos 15 DAS (f).

Em condições naturais, a dormência é considerada uma estratégia adaptativa que permite a sobrevivência das sementes em bancos de sementes do solo por longos períodos após a dispersão até que as condições do ambiente sejam favoráveis à ocorrência da germinação e estabelecimento das plântulas, levando à distribuição da germinação das sementes no tempo e no espaço (Chandler et al., 1977; Costa et al., 2010; Pazuch et al., 2014).

Nesse cenário, a quebra da dormência imposta pela impermeabilidade da testa ocorre pela ação de diversos fatores ambientais. McKeon e Mott (1982) relataram que a dormência de sementes de *Stylosanthes humilis* e *Stylosanthes humata* é quebrada pelas altas temperaturas comuns durante a estação quente e seca do norte da Austrália. A abrasão mecânica causada por partículas do solo, a decomposição da testa por microrganismos, o baixo pH do solo e o calor de queimadas espontâneas são outros fatores ambientais que contribuem para a superação da dormência de sementes de muitas espécies (Briggs; Morris, 2008). Fora do ambiente natural, a dormência dificulta a realização de procedimentos e estudos que dependem da germinação, como, por exemplo, a produção de mudas em viveiros para propagação das espécies. Nesses casos, determinação do tipo de dormência e a utilização de métodos eficazes para a superação da dormência são essenciais para permitir a germinação da semente (Costa et al., 2017; Zwirter et al., 2013).

Tais aspectos foram evidenciados neste trabalho em que a escarificação mecânica por desponte promoveu o processo germinativo das sementes de *I. cynanchifolia*, resultando em maiores percentuais de germinação para as sementes escarificadas, independentemente da temperatura de armazenamento (Figura 1). Porém, a interação entre o desponte e o armazenamento em nitrogênio líquido (-196 °C) resultou em melhor desempenho germinativo (Figura 3). Os indivíduos formados por essas sementes apresentaram hipocótilo clorofilado, cotilédones obdeltóides com base côncavo-convexa, menor aderência destes ao tegumento e raiz bem desenvolvida (Figura 3b, d, f).

Conclusão

Os métodos para avaliar a germinabilidade de sementes de *I. cynanchifolia* são a descontaminação das sementes com solução de detergente, hipoclorito de sódio e Tween 20, escarificação mecânica por desponte feito com alicate para cutícula, semeio em placa de Petri entre discos de papel filtro umedecido, incubação à temperatura de 25 ± 2 °C, com contagens aos 3, 7, 15 e 30 DAS, e avaliação do potencial germinativo das sementes com base na presença de hipocótilo clorofilado e de cotilédones obdeltóides com base côncavo-convexa, aparentes ou parcialmente aderidos ao tegumento, e presença de raiz.

Agradecimentos

Os autores expressam seus agradecimentos a Ismael Silva Gomes, Juarez Amaral e Marcelo Brilhante de Medeiros pela disponibilização das sementes de *Ipomoea cynanchifolia* e Rosângela Caldas Mundim, técnica do Laboratório de Criobiologia Vegetal, sem a qual a realização desse trabalho não seria possível.

Referência Bibliográfica

ABDO, M. T. V. N.; FABRI, E. G. Transferência de tecnologia: guia prático para quebra de dormência de sementes de espécies florestais nativas. **Pesquisa e Tecnologia**, v. 12, n. 2, 2015.

ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; ALMEIDA, I. F.; CLEMENTE, A. C. S. Método para a superação da dormência em sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgiloides* Kunth.). **Ciência Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1716-1721, 2007. DOI: 10.1590/S1413-70542007000600017.

AZANIA, A. A. P. M.; AZANIA, C. A. M.; PAVANI, M. C. M. D.; CUNHA, M. C. S. Métodos de superação de dormência em sementes de *Ipomoea* e *Merremia*. **Planta Daninha**, v. 21, n. 2, p. 203-209, 2003. DOI: 10.1590/S0100-83582003000200005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 339 p.

BRIGGS, C. L.; MORRIS, E. C. Seed-coat dormancy in *Grevillea linearifolia*: little change in permeability to an apoplastic tracer after treatment with smoke and heat. **Annals of Botany**, v. 101, p. 623-632, 2008. DOI: 10.1093/aob/mcn006.

CHANDLER, J. M.; MUNSON, R. L.; VAUGHAN, C. E. Purple moonflower: emergence, growth, reproduction. **Weed Science**, v. 25, p. 163-167, 1977. DOI: 10.1017/S0043174500033178.

CHAVES, I. S.; SILVA, N. C. Q.; RIBEIRO, D. M. Effect of the seed coat on dormancy ena Germination in *Stylosanthes humilis* H. B. K. seeds. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 2, p. 114-122, 2017. DOI: 10.1590/2317-1545v39n2167773.

COSTA, P. A.; LIMA, A. L. S.; ZANELLA, F.; FREITAS, H. Quebra de dormência em sementes de *Adenantha pavonina* L. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 1, p. 83-88, 2010.

COSTA, C. H. M. da; DIARIS, K. B.; GUIMARÃES, T. M. Métodos de escarificação para superação de dormência de sementes de jatobá. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 30, n. 1, p. 44-52, 2017.

DINATO, N. B.; SANTOS, I. R. I.; LEONARDECZ, E.; BURSON, B. L.; QUARÍN, C. L.; PAULA, A. F. de; FAVERO, A. P. Storage of bahiagrass pollen at different temperatures. **Crop Science**, v. 58, n. 6, p. 2391-2398, 2018. DOI: 10.2135/CROPSCI2018.03.0164.

EGLEY, G. H. High temperature effects on germination and survival of seeds in soil. **Weed Science**, v. 38, p. 429-435, 1990.

GROTH, D. Caracterização morfológica de sementes de espécies invasoras da família Convolvulaceae Juss. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 1-13, 2001.

HARDCASTLE, W. S. The influence of temperature and acid scarification duration on *Ipomoea obscura* Hassk. Seed germination. **Weed Research**, v. 18, p. 89-91, 1978. DOI: 10.1111/j.1365-3180.1978.tb01141.x.

HORAK, M. J.; WAX, L. M. Germination and seedling development of bigroot Morningglory (*Ipomoea pandurata*). **Weed Science**, v. 39, p. 390-396, 1991.

KIM, S. Y.; DE DATTA, S. K.; MERCADO, B. L. The effect of chemical and heat treatment on Germination of *Commelina benghalensis* L. aerial seeds. **Weed Research**, v. 30, p. 109-116, 1990. DOI: 10.1111/j.1365-3180.1990.tb01693.x.

KIMURA, E.; ISLAM, M. A. Seed scarification methods and their use in forage legumes. **Research Journal of Seed Science**, v. 5, n. 2, p. 38-50, 2012. DOI: 10.3923/rjss.2012.38.50.

McKEON, G. M.; MOTT, J. J. The effect of temperature on the field softening of hard seed of *Stylosanthes humilis* and *S. humata* in a dry monsoonal climate. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 33, p. 75-85, 1982. Publish. csiro.au/paper/AR9820075.htm.

MOAISI, K.; PHILLIPS, M. C. Breaking seed dormancy in some common arable weeds. **Bull. Agric. Botswana**, v. 9, p. 70-76, 1991.

MORAES, F. G. D. de. **Morfologia de plântulas de Convolvulaceae Juss. e sua importância taxonômica**. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em

Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE.

OGUNWENMO, K.; UGBOROGHO, R. E. Effects of chemical and mechanical scarification on seeds germination of five species of *Ipomoea* (Convolvulaceae).

Boletim da Sociedade Broteriana, v. 69, p. 147-162, 1999.

OLIVEIRA, D. V. de; SANTOS, I. R. I.; MARTINS, I. S.; SALOMÃO, A. N. Cryopreservation of shoot tips of "Brazilian Ginseng" (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) by vitrification. **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 11, 2019. DOI: 10.5539/JAS.V11N11P146.

PANDRANGI, S.; ELWELL, M. W.; ANANTHESWARAN, R. C.; LABORDE, L. F. Efficacy of sulphuric acid scarification and disinfectant treatment in eliminating *Escherichia coli* O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting. **Journal of Food Science**, v. 68, p. 613-617, 2003. DOI: 10.1111/J.1365-2621.2003.TB05719.X.

PATANÈ, C.; GRESTA, F. Germination of *Astragalus hamosus* and *Medicago orbicularis* as affected by seed-coat dormancy breaking techniques. **Journal of Arid Environment**, v. 67, p. 165-173, 2006. DOI: 10.1016/J.JARIDENV.2006.02.001.

PAZUCH, D; TREZZI, M. M.; DIESEL, F.; BARANCELLI, M. V. J.; BATISTEL, S. C.; PASINI, R. Superação de dormência em sementes de três espécies de *Ipomoea*. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 192-199, 2014. DOI: 10.1590/0103-8478CR20120665.

SALOMÃO, A. N.; SANTOS, I. R. I.; JOSÉ, S. C. B. R.; SILVA, J. P. da; LAVIOLA, B. G. Methods to assess the viability of cryopreserved *Jatropha curcas* L. seed germplasm. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 391-398, 2016. DOI: 10.1590/1983-084X/15_175.

SANTOS, I. R. I.; SALOMAO, A. N. In vitro germination of zygotic embryos excised from cryopreserved endocarps of queen palm (*Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman). **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 53, p. 418-424, 2017. DOI: 10.1007/S11627-017-9840-7.

SANTOS, I. R. I.; SALOMAO, A. N. Viability assessment of *Genipa americana* L. (Rubiaceae) embryonic axes after cryopreservation using in vitro culture. **International Journal of Agronomy**, 2016. DOI: 10.1155/2016/7392710.

SILVA, D. B. da; WETZEL, M. M. V. da S.; SALOMÃO, A. N.; FAIAD, M. G. R. **Conservação de germoplasma semente a longo prazo**. In: NASS, L. L. (Ed.). Recursos genéticos vegetais. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. p. 441-471.

SOARES, G. O. de S.; LEITE, R. C.; SILVA JÚNIOR, G. D. da; REIS, A. da S.; SOARES, J. L. de S.; LEITE, M. R. P. Methods for overcoming dormancy in teak diaspores. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 47, n. 4, p. 384-389, 2017.

SOUZA, E. R. B. de; ZAGO, R.; GARCIA, J.; FARIAS, J. G.; CARVALHO, E. M. dos S.; BARROSO, M. R. Efeito de métodos de escarificação do tegumento em sementes de *Leucaena diversifolia* L. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 3, p. 142-146, 2007.

STOLLER, E. W.; WAX, L. M. Dormancy changes and fate of some annual weed seeds in the soil. **Weed Science**, v. 22, p. 151-155, 1974. DOI: 10.1017/S0043174500036754.

WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B.; BIANCHETTI, L. de B. **Princípios da coleta de germoplasma**. In: WALTER, B. M. T.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 139-177.

ZWIRTES, A. L.; BARONIO, C. A.; CANTARELLI, E. B.; RIGON, J. P. G.; CAPUANI, S. Métodos de superação de dormência em sementes de flamboyant. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 76, p. 463-467, 2013. DOI: 10.4336/2013.PFB.33.76.568.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*



CGPE: 15677