

Avaliação de amostras de espécies do
gênero *Copaifera* L. após armazenamento
a - 20 °C por períodos de 11 a 25 anos



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

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
365**

**Avaliação de amostras de espécies
do gênero *Copaifera* L. após
armazenamento a - 20 °C por
períodos de 11 a 25 anos**

*Antonieta Nassif Salomão
Izumé Rita Imaculada Santos
Solange Carvalho Barrios Roveri José*

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
Wagner Alexandre Lucena

Secretária-Executiva
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Membros
Bruno Machado Teles Walter; Daniela Aguiar de Souza; Eudes de Arruda Carvalho; Luiz Joaquim Castelo Branco Carvalho; Marcos Aparecido Gimenes; Solange Carvalho Barrios Roveri Jose; Márcio Martinello Sanches; Sérgio Eustáquio de Noronha

Supervisão editorial
Ana Flávia do N. Dias Côrtes

Revisão de texto
Izulmé Rita Imaculada

Normalização bibliográfica
Ana Flávia do N. Dias Côrtes - (CRB 1/1999)

Tratamento das ilustrações
Adilson Werneck

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Adilson Werneck

Foto da capa
Izulmé Rita Imaculada

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

Avaliação de amostras de espécies do gênero *Copaifera* L. após armazenamento a -20 °C por períodos de 11 a 25 anos / Antonieta Nassif Salomão; Izulmé Rita Imaculada Santos; Solange Carvalho Barrios Roveri José – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020.

33p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 365).

ISSN: 0102-0110
Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader
Modo de Acesso: World Wide Web

1. Conservação. 2. Germinação. I. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. II. Série.

615.321 – CDD 21

Ana Flávia do N. Dias Côrtes (CRB-1999)

© Embrapa, 2020

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados.....	12
Discussão	21
Conclusão.....	27
Referência Bibliográfica.....	27

Avaliação de amostras de espécies do gênero *Copaifera* L. após armazenamento a -20 °C por períodos de 11 a 25 anos.

Antonieta Nassif Salomão¹

Izulmé Rita Imaculada Santos²

Solange Carvalho Barrios Roveri José³

Resumo – Durante a conservação a -20 °C, sementes aleuro-lipídicas podem perder, gradativamente a germinabilidade e a viabilidade. Nesse trabalho, foi avaliado o efeito da exposição a -20 °C, por períodos que variaram de 11 a 25 anos, em sementes de 19 acessos de espécies do gênero *Copaifera* L., com teores de água de 5,6% a 10,5%. Após o congelamento, houve redução significativa ($P < 0,05$) na germinabilidade de três amostras e aumento significativo ($P < 0,05$) do percentual germinativo de uma amostra. Houve decréscimo, não significativo ($P < 0,05$), do potencial fisiológico em sementes de 11 amostras, após exposição a -20 °C, podendo ser, provavelmente, indício de deterioração do material. Em contraste, o armazenamento a -20 °C, acondicionando-se as sementes em embalagens trifoliadas, manteve a integridade física do material. Não foram verificados danos aparentes nas estruturas externas das sementes, as quais mantiveram suas características morfológicas e tampouco induziu anormalidades distintas daquelas observadas antes do congelamento, no desenvolvimento das fases pós-seminais. Aos 20 dias após semeio (DAS), verificou-se heterogeneidade no desenvolvimento das plântulas das 19 amostras, tanto antes quanto após o congelamento das sementes. As sementes das amostras de *C. depilis* e *Copaifera* spp. apresentaram maior armazenabilidade e as sementes da maioria das amostras de *C. langsdorffii*, *C. langsdorffii* var. *grandifolia*, *C. langsdorffii* var. *langsdorffii* e *C. oblongifolia*, tiveram a integridade biológica comprometida com perda gradual do potencial fisiológico, após congelamento. Para as espécies de *Copaifera* L., perenes, com sementes aleuro-oleaginosas e que não têm Bancos Ativos de Germoplasma, sugere a criopreservação a

¹ Engenheira Florestal, mestre em Manejo do Espaço Rural, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF.

² Bióloga, doutora em Fisiologia do Estresse Vegetal, pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF.

³ Agrônoma, doutora em Agronomia (Fitotecnia), pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília - DF.

-196 °C como método apropriado a conservação ex situ de seu germoplasma semente.

Termos para indexação: germinação, conservação, congelamento, semente.

Evaluation of samples of species of the genus *Copaifera* L. at - 20 °C. after periods of 11 to 25 years.

Abstract – During conservation at -20 ° C, aleuro-lipid seeds may gradually lose germination and viability. In this work, the effect of exposure to -20 ° C, for periods ranging from 11 to 25 years, on seeds of 19 accessions of species of the genus *Copaifera* L., with moisture contents of 5.6% to 10,5%. After freezing, there was a significant reduction ($P < 0.05$) in the germination of three samples and a significant increase ($P < 0.05$) in the germinative percentage of a sample. There was decrease, non-significant ($P < 0.05$), in the physiological potential of 11 samples, after exposure to -20 ° C, which may be an indication of material deterioration. In contrast, storage at -20 ° C, by packing the seeds in trifoliate bags, maintained the physical integrity of the material. There were no apparent damages in the external structures of the seeds, which maintained their morphological characteristics and did not induce abnormalities other than those observed before freezing, in the development of the post-seminal phases. At 20 days after sowing, there was heterogeneity in the seedling development of the 19 samples, both before and after freezing the seeds. The seeds of the samples of *C. depilis* and *Copaifera* spp. showed higher storability and the seeds of most samples of *C. langsdorffii*, *C. langsdorffii* var. *grandifolia*, *C. langsdorffii* var. *langsdorffii* and *C. oblongifolia*, had their biological integrity compromised with gradual loss of physiological potential, after freezing. For *Copaifera* L. species, perennial, with aleuro-oil seeds and that do not have Active Germplasm Banks, it suggests cryopreservation at -196 °C as an appropriate method for the ex situ conservation of its seed germplasm.

Index terms: germination, conservation, seed, freezing.

Introdução

As espécies do gênero *Copaifera* L. têm hábito arbustivo ou arbóreo e são amplamente utilizadas. O óleo-resina (diterpenos e sesquiterpenos) produzido por estas espécies tem usos medicinais (anti-inflamatório, cicatrizante, bactericida, fungicida, germicida e antitumoral) e químicos (produção de tintas, vernizes, fármacos e cosméticos). Essas espécies têm uso paisagístico e a madeira é empregada na confecção de múltiplos produtos (Santos et al., 2015; Costa; Queiroz, 2010, 2007; Noletto et al., 2010; Lima Neto et al., 2008; Vasconcelos et al., 2008; Vieira et al., 2008; Costa, 2007; Guerra et al., 2006). A extração do óleo é feita por meio da perfuração do tronco com trado ou com facão, deixando-se um recipiente abaixo da perfuração, no qual a resina é vertida. Esse processo pode levar à morte dos indivíduos e, conseqüentemente, à perda de genótipos valiosos. A conservação de germoplasma das espécies de *Copaifera* L. é necessária e importante para garantir seu uso em diversas áreas de pesquisa e produção comercial.

A presença de ácidos graxos insaturados, como ácido oleico e ácido linoleico, em sementes, interfere negativamente sobre sua longevidade em condições naturais e durante sua conservação *ex situ* (Balešević-Tubic et al., 2010; Zongo et al., 2007). Em sementes lipídicas armazenadas em baixas temperaturas, observa-se que há perdas de germinabilidade, viabilidade e vigor, provavelmente em decorrência, sobretudo, de rancidez oxidativa desses ácidos graxos (Chmielarz, 2009; Mbofung, 2012).

As sementes de espécies do gênero *Copaifera* L. caracterizam-se por terem em sua composição reservas proteicas e lipídicas, em distintas concentrações. De acordo com estudos sobre a presença e as concentrações de ácidos graxos insaturados em sementes de *Copaifera* spp. foram verificados 33,1% de ácido oleico em sementes de *C. langsdorffii* e em sementes de *Copaifera* sp. as concentrações de ácido oleico e ácido linoleico foram de 35,3% e 35,7%, respectivamente. Em sementes de *C. officinalis*. foram identificados os ácidos graxos linoleico, oleico, palmítico, esteárico, eicosênico e behênico (Lima Neto et al., 2008; Veiga Junior et al., 2007).

Na literatura, há relatos sobre a armazenabilidade de sementes de *C. langsdorffii* e de *C. multijuga* em condições de baixas temperaturas e temperatura ambiente. Para *C. langsdorffii* foi observado que em câmara fria a 4°C, as sementes mantiveram-se viáveis por 36 meses (Polo, 1993). Enquanto, sementes de *C. multijuga*, acondicionadas em saco de papel e em vidro, tiveram a viabilidade reduzida para 75% e 45%, respectivamente, quando mantidas em ambiente de laboratório (temperatura média 27°C e umidade relativa 85%), por dois meses. Essas sementes quando acondicionadas em saco de papel e armazenadas em câmara fria (temperatura de 8°C e umidade relativa 55%) mantiveram o percentual de germinação de 85%, após quatro meses (Garcia; Lima, 2000).

Como as características químicas das sementes de *Copaifera* spp. não lhes conferem longevidade em temperatura ambiente, tampouco em baixas temperaturas, as condições apropriadas para sua conservação ex situ devem ser estabelecidas, preferencialmente, em temperaturas ultra baixas (-20 °C, -196 °C) e utilizando-se para seu acondicionamento, embalagens impermeáveis e herméticas. As embalagens que apresentam impermeabilidade e hermeticidade, asseguram maior proteção às sementes, porque reduzem consideravelmente, o efeito negativo da pressão de oxigênio, retardando a deterioração das sementes durante seu armazenamento (Morozesk, et al., 2014). Verifica-se que em bancos de germoplasma a -20 °C e acondicionando-se as sementes apropriadamente, ocorre senescência das mesmas, em maior intensidade em sementes lipídicas e que, o processo de deterioração pode ser manifestado pela perda progressiva de germinabilidade e pela formação de plântulas anormais, entre outros (Marcos-Filho, 2015).

Não há consenso sobre o tipo de dormência apresentado pelas sementes de *Copaifera* spp. Há autores que consideram a dormência transitória, devido à presença de inibidores da germinação nos tegumentos das sementes. Tais compostos tendem a reduzir suas concentrações como resultado do estágio de maturação das sementes. Há outros autores que atribuem a dormência em sementes de *Copaifera* spp. a impermeabilidade dos tegumentos à absorção de água e às trocas gasosas em decorrência de suas características morfo-anatômicas. A impermeabilidade tegumentar pode

acentuar-se quando as sementes atingem sua maturação fisiológica (Lima et al., 2020; Pereira et al., 2013; Noletto et al., 2010; Guerra et al., 2006). A escarificação química é um dos métodos mais utilizados para a superação de dormência tegumentar em sementes de espécies arbóreas autóctones (Brancalion et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da exposição a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, por períodos que variaram de 11 a 25 anos, em sementes de três amostras de *C. depilis* Dwyer, seis amostras de *C. langsdorffii* Desf., duas amostras de *C. langsdorffii* Desf. var. *grandifolia* Benth, quatro amostras de *C. langsdorffii* Desf. var. *langsdorffii*, duas amostras de *C. oblongifolia* Mart. ex Hayne e duas de *Copaifera* sp.

Material e Métodos

Esse trabalho foi conduzido no Laboratório de Sementes da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília – DF. As informações sobre as 19 amostras de espécies do gênero *Copaifera* L. contidas nas fichas de coleta do Herbário Cen (Embrapa..., 2019) como coletor, número da amostra de cada espécie e sua procedência, assim como, o período de exposição a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ estão descritos na Tabela 1.

Logo após o recebimento do material no Laboratório de Sementes, foi determinado o teor de água das sementes pelo método estufa a $103 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 24\text{h}$ (Brasil, 2009), com três repetições de número variado de sementes. Os resultados foram expressos em percentuais médios com base da massa fresca das sementes. Devido ao número restrito de sementes por amostra, estas não foram dessecadas antes do armazenamento, sendo, portanto, armazenadas com os teores de água iniciais.

O restante das sementes de cada uma das 19 amostras foi dividido em três subamostras. A primeira subamostra foi utilizada para o teste de germinação inicial. Precedendo a esse teste, as sementes foram escarificadas

quimicamente com ácido sulfúrico, PA, por 15 min. de exposição. Após o descarte do ácido, as sementes foram imersas em solução de detergente neutro à concentração de 2% (v/v) por 10 min., seguindo-se com enxágues em água corrente até completa remoção do detergente. Esse processo foi repetido até que não houvesse mais resíduos de ácido nas sementes. Em seguida, as sementes foram pré-embebidas, permanecendo em água por 40 min. à temperatura ambiente. Após a pré-embebição foi conduzido o teste de germinação com quatro repetições de número variado de sementes, substrato rolo de papel, à temperatura de incubação de 25 °C, considerando-se como semente germinada aquela em que houve formação de plântula com suas estruturas essenciais bem desenvolvidas, firmes e saudáveis.

A segunda e a terceira subamostras de cada uma das amostras, com os teores de água iniciais variando de 5,6% a 10,5%, foram acondicionadas em embalagens trifoliadas (poliéster, alumínio e polietileno), as quais foram seladas, conferindo-lhes assim, vedação hermética. A identificação de cada amostra foi colocada dentro e fora da embalagem. O material foi armazenado em freezer à temperatura de -20 °C, por períodos de 11 a 25 anos (Tabela 1).

Ao final de cada período de armazenamento (Tabela 1), uma subamostra foi retirada do freezer e mantida à temperatura ambiente de laboratório por cinco horas para que se descongelassem. Em seguida, foram conduzidos o procedimento para a escarificação das sementes e o teste de germinação final, conforme descrito anteriormente. A terceira subamostra de cada amostra foi incorporada à Colbase.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de número variado de sementes por amostra. Os resultados de germinação foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguindo-se com comparação das médias pelo teste de Bonferroni ($P < 0,05$). O programa utilizado para a análise estatística foi GraphPad Prism (©2017 Graph Pad Software Inc).

Tabela 1. Coletor, espécie, procedência e período de armazenamento a -20 °C de 19 amostras de espécies do gênero *Copaifera* L.

Coletor / espécie	Procedência ⁽¹⁾	Armazenamento -20 °C (anos)
Santos, A.A. et al. 118 <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	Colinas do Sul - GO. Região abaixo da antiga foz do Rio Tocantinzinho. Descendo, a partir daquele ponto, no vale original do Rio Tocantins. Área de influência da AHE Serra da Mesa.	21
Silva, G.P. et al. 13718 <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	Barra do Ouro - TO. Estrada Barra do Ouro - Itacajá, km 20 (via Tripa Seca). 07°51'34" S 47°41'28" O.	11
Walter, B.M.T. et al 4322 <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	Colinas do Sul - GO. Estrada Colinas - Vila Borba. Cerca de 8 km de Colinas, em estradas de Fazendas à esquerda 14° 05' 14" S 48° 04' 50" O.	20
Santos, A.A. et al. 2069 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Unai - MG. Saída sul de Palmital, em direção à fazenda Mata Velha, margem esquerda do Rio Preto. Área de influência do AHE Queimado. 16° 11' 55" S 47° 14' 53" O	16
Santos, A.A. et al. 3017 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Palmeirante - TO. Assentamento PA Remanso. 07° 52' 57" S 47° 56' 58" O.	11
Santos, A.A. et al. 3087 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Babaçulândia - TO. Saída para Filadélfia, após o posto policial, à direita, depois do lixão. 07° 12' 42" S 47° 45' 46" O.	11
Silva, G.P. et al. 4164 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Colinas do Sul - GO. Cerrado à margem direita do rio Tocantinzinho. 13° 55' 32" S 48° 15' 45" O. Furnas	20
Silva, G.P. et al. 13616 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Itapiratins - TO. Estrada Itapiratins - Itacajá, km 10 (entrada à direita). Cerca de 300 m arcados a partir da balsa sobre o rio Tocantins. 08° 25' 29" S 48° 02' 19" O	11
Silva, G.P. et al. 13662 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Carolina - MA. Estrada Goiatins - Carolina, km 1,5. 07° 42' 36" S 47° 18' 02" O.	11
Silva, G.P. et al. 5069 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>grandifolia</i> Benth.	Minaçu - GO. Próximo à área de "empréstimo". Área de influência indireta Hidrelétrica de Cana Brava 13° 23' 54" S 48° 09' 10" O.	18

Tabela 1. Coletor, espécie, procedência e período de armazenamento a -20 °C de 19 amostras de espécies do gênero *Copaifera* L. (cont.)

Coletor / espécie	Procedência ⁽¹⁾	Armazenamento -20 °C (anos)
Silva, G.P. et al. 5218 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>grandifolia</i> Benth.	Minaçu - GO. Estrada Minaçu - balsa do Rubão km 11. Área de influência indireta Hidrelétrica de Cana Brava 13° 36' 36"S 48° 11' 11"O.	18
Santos, H.G.P. et al. 463 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	Niquelândia - GO. Estrada de acesso a Indianópolis, 18 Km após a entrada para a estrada de terra. 14°19' 41"S 48°35'22"O.	23
Silva, G.P. et al. 2333 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	Ipameri - GO. Fazenda Santo Antônio do Fundão, margem direita do Ribeirão Santo Antônio, cerca de 800 m do rio Corumbá. 17o 32' 00"S 49o 31' 00' O. Furnas	25
Silva, S.P.C. et al. 648 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	Ipameri – GO - Estrada de acesso à Fazenda das Pedras, em frente à sede da fazenda.	22
Walter, B.M.T. et al. 4372 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	Colinas do Sul - GO. Estrada de terra Colinas - Vila Borba. Km 15, na Fazenda das Palmeiras. 14o 04' 00"S 48o04' 00"O.	20
Silva, G.P. et al. 4212 <i>Copaifera oblongifolia</i> Mart. ex Hayne	Niquelândia – GO - Estrada vicinal de acesso ao lago, na margem esquerda da Bagagem (João Coragem) a cerca de 50 m do asfalto.	20
Silva, G.P. et al. 5175 <i>Copaifera oblongifolia</i> Mart. ex Hayne	Cavalcante - GO. Balsa Serra Branca para a vila Veneno, km 2. Área de influência indireta Hidrelétrica de Cana Brava. 13° 34' 06"S 48° 05' 50"O.	18
Silva, G.P. et al. 13609 <i>Copaifera</i> sp.,	Porto velho - RO. Esquerda do rio Madeira, canteiro de obras do AHE Jirau. 09° 15' 51" S 64° 39' 39"O	18
Silva, G.P. et al. 13651 <i>Copaifera</i> sp.	Goiatins - TO. Estrada Itacajá - Goiatins, km 40. 08° 05' 41"S 47° 37' 59"O.	11

⁽¹⁾ A descrição da procedência de cada amostra corresponde às informações contidas na ficha de coleta do Herbário Cen (Embrapa, ... 2019).

Resultados

Os resultados obtidos sobre a germinabilidade antes e após o congelamento das sementes por distintos períodos estão apresentados na Tabela 2. Em três amostras de *Copaifera* L. houve decréscimo significativo ($P < 0,05$) dos percentuais germinativos das sementes. Houve aumento significativo ($P < 0,05$) do percentual germinativo em uma amostra. Nas demais amostras, as variações dos percentuais germinativos após exposição a -20 °C não diferiram significativamente (Tabela 2).

Para a espécie *C. depilis*, apenas na amostra Walter, B.M.T. et al. 4322, com 20 anos de armazenamento e teor de água de 7,6%, houve aumento significativo ($P < 0,05$) do percentual germinativo de 78% (inicial) para 91% (final). A amostra Santos, A. A. et al. 118, com 7,7% de umidade, após 21 anos de armazenamento, manteve 100% de germinação, enquanto que Silva, G.P. et al. 13718, com 5,6% de umidade e armazenada por 11 anos, os percentuais germinativos inicial (98%) e final (96%) não diferiram significativamente [Tabela 2]. Os percentuais médios de germinação de sementes dessas três amostras foram de 91% (inicial) e de 96% (final) [Figura 1].

Nas seis amostras de *C. langsdorffii* houve decréscimo significativo ($P < 0,05$) do percentual germinativo em Santos, A. A. et al. 3087 de 100% para 65% (Tabela 2). Essa amostra foi armazenada por 11 anos com teor de água de 9,5% (Tabelas 1 e 2). Foram verificadas reduções não significativas ($P < 0,05$) em quatro amostras de *C. langsdorffii*, armazenadas por períodos de 11 e 20 anos e aumento não significativo ($P < 0,05$) em Santos, A. A. et al. 2069, de 64% (inicial) para 80% (final), armazenada por 16 anos [Tabela 2]. Os percentuais médios de germinação foram de 73% (inicial) e 62% (final) [Figura 1].

Ambas as amostras de *C. langsdorffii* var. *grandifolia* tiveram perda de germinabilidade, sendo apenas significativa ($P < 0,05$) para a amostra Silva, G. P. 5069 de 90% (inicial) e 74% (final), armazenada por 18 anos com teor de água de 10,5% (Tabela 2). Os percentuais médios de germinação da

C. langsdorffii var. *grandifolia* de 90% (inicial) e 75% (final) [Figura 1].

Das quatro amostras de *C. langsdorffii* var. *langsdorffii*, somente Santos, H.G.P. et al. 463 com teor de água de 7,1%, manteve o percentual germinativo de 95%, após 23 anos de congelamento. Na amostra Silva, S.P.C. et al. 648, após 22 anos de exposição a -20 °C, houve redução significativa ($P < 0,05$) do poder germinativo de 80% para 40% (Tabela 2). O decréscimo de germinabilidade das amostras armazenadas por 25 (Silva, G. P. et al. 2333) e 20 anos (Walter, B.M.T. et al. 4372) não foi significativo ($P < 0,05$) [Tabela 2]. Essa variedade de *Copaifera langsdorffii* apresentou os percentuais médios de germinação de 76% (inicial) e 54% (final) [Figura 1].

Os períodos de armazenamento das amostras de *C. oblongifolia* foram de 20 anos (Silva, G. P. et al. 4212) e 18 anos (Silva, G.P. et al. 5175), tendo suas sementes 8,9% e 8,4% de umidade, respectivamente. Houve decréscimo não significativo ($P < 0,05$) dos percentuais de germinativos das sementes dessas amostras (Tabela 2). Os percentuais de germinação de Silva, G.P. et al. 4212, foram de 98% (inicial) e 90% (final) e em sementes de Silva, G. P. et al. 5175, foram de 90% (inicial) para 89% (final) [Tabela 2]. Os percentuais médios das sementes dessas amostras foram de 94% (inicial) e de 90% (final) [Figura 1].

Em sementes de *Copaifera* sp. (Silva, G. P. et al. 13609) com 7,0% de umidade e armazenadas por 18 anos, houve aumento não significativo ($P < 0,05$) do percentual de germinativo de 50% (inicial) para 86% (final) [Tabela 2]. Na amostra Silva, G. P. et al. 13651, com 5,8% de umidade e 11 anos de armazenamento, os percentuais germinativos foram de 98% (inicial) e de 91% (final) [Tabela 2]. Conforme apresentado na Figura 1, os percentuais médios de germinação dessas duas espécies de *Copaifera* L. foram de 74% (inicial) e de 89% (final) [Figura 1].

Tabela 2. Coletor/espécie, teor de água, germinabilidade de sementes de 19 amostras de *Copaifera* spp. antes e após a exposição a -20 °C, por períodos de 11 a 25 anos.

Coletor / espécie	Teor de água (%)	Germinabilidade inicial (%)	Germinabilidade final (%)
Santos, A.A. et al. 118 <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	7,7	100	100
Silva, G.P. et al. 13718 <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	5,6	98	96
Walter, B.M.T. et al 4322 <i>Copaifera depilis</i> Dwyer	7,6	78* (P < 0,05)	91
Santos, A.A. et al. 2069 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	8,0	64	80
Santos, A.A. et al. 3017 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	7,3	65	45
Santos, A.A. et al. 3087 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	9,5	100** (P < 0,05)	65
Silva, G.P. et al 4164 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	8,2	47	30
Silva, G.P. et al. 13616 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.,	7,7	78	70
Silva, G.P. et al. 13662 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.,	7,9	85	84
Silva, G.P. et al. 5069 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>grandifolia</i> Benth.,	10,5	90*(P<0,05)	74
Silva, G.P. et al. 5218 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>grandifolia</i> Benth	9,9	89	75
Santos, H.G.P. et al. 463 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	7,1	95	95
Silva, G.P. et al 2333 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i> ,	7,1	88	60
Silva, S.P.C. et al. 648 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	8,3	80* (P < 0,05)	40
Walter, B.M.T. et al. 4372 <i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. var. <i>langsdorffii</i>	8,6	42	20
Silva, G.P. et al. 4212 <i>Copaifera oblongifolia</i> Mart. ex Hayne	8,9	98	90
Silva, G.P. et al. 5175 <i>Copaifera oblongifolia</i> Mart. ex Hayne	8,4	90	89
Silva, G.P. et al. 13609 <i>Copaifera</i> sp.	7,0	50	86
Silva, G.P. et al. 13651 <i>Copaifera</i> sp.	5,8	98	91

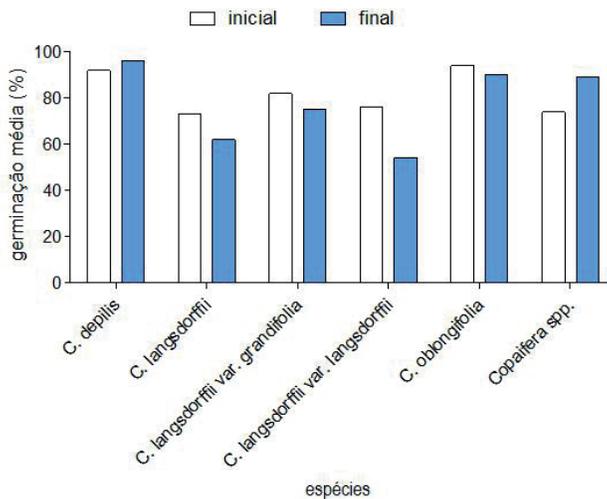
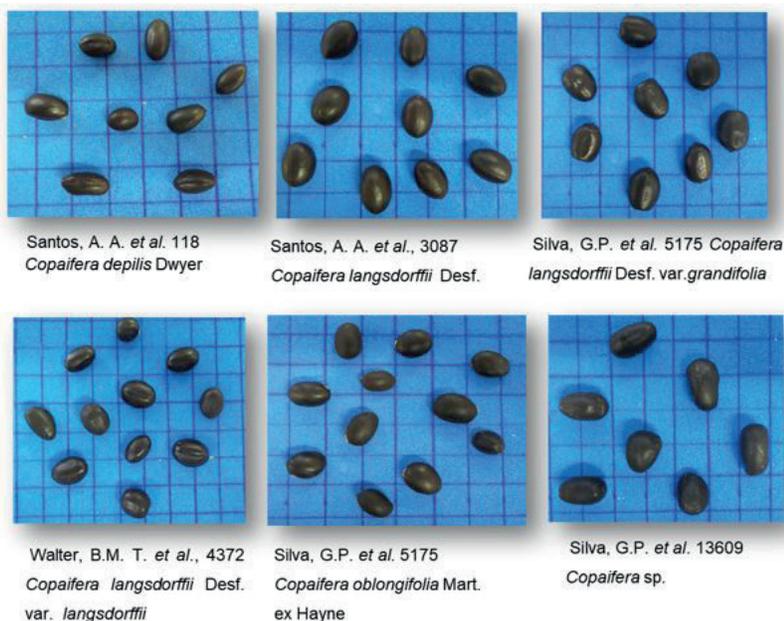


Figura 1. Percentuais médios de germinação de sementes de 19 amostras de *Copaifera* spp. antes e após a exposição a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, por períodos de 11 a 25 anos.

Os resultados sobre o efeito da exposição a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ sobre a integridade física de sementes e plântulas das amostras de *Copaifera* L. encontram-se ilustradas nas Figuras 2, 3, 4, 5 e 6. As condições de armazenamento (temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e embalagens impermeáveis e hermeticamente fechadas) não induziram danos, visualmente identificáveis, nas estruturas externas das sementes (Figura 2). As sementes das 19 amostras mantiveram suas características morfológicas, após o congelamento, como tegumento liso e de coloração negra brilhante.

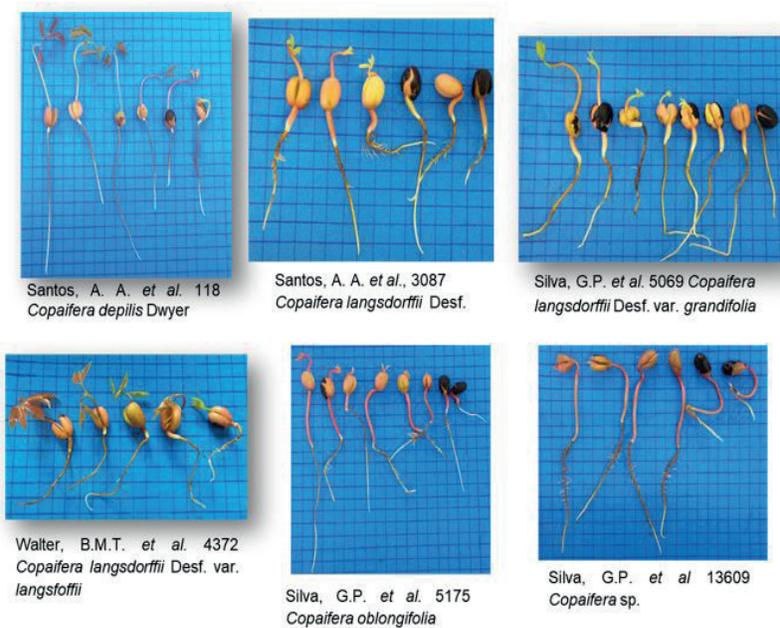
O padrão de produção de plântulas foi igual antes e após a exposição das sementes a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Aos 20 dias após semeio (DAS), verificou-se heterogeneidade de desenvolvimento de plântulas para as 19 amostras avaliadas (Figura 3). As amostras de *C. depilis* (Santos, A. A. et al. 118) e *C. langsdorffii* Desf. var. *langsdorffii* (Walter, B. M. T. et al. 4372) tiveram desenvolvimento mais rápido e sincrônico, com o crescimento da radícula principal acompanhado pelo crescimento da parte aérea (Figura 3). As amostras de *Copaifera* sp., como Silva, G.P. et al. 13609 (Figura 3), tiveram

desenvolvimento mais lento, ou seja, aos 20 DAS, o crescimento radicular não foi acompanhado pelo crescimento da parte aérea das plântulas. As plântulas normais apresentaram estruturas firmes, sadias e bem diferenciadas. Tipicamente, as plântulas apresentaram raiz primária pivotante marrom com a extremidade esbranquiçada e raízes secundárias curtas, brancas tornando-se marrons quando desenvolvidas. Observou-se presença de coleto diferenciado e com coloração branca amarelada, hipocótilo e epicótilo de coloração branca a rosada, com variação em tamanho, conforme exemplificado por *Copaifera depilis* (Santos, A.A. et al. 118) e *Copaifera* sp. (Silva, G.P. et al. 13609) na Figura 3. Os cotilédones apresentaram coloração variando de amarelado em *C. langsdorffii* (Santos, A. A. et al. 3087) e *C. langsdorffii* var. *grandifolia* (Silva, G.P. et al. 5069) a róseo avermelhado nas demais espécies (Figura 3). A presença de 2 - 3 pares de eófilos, folíolos verdeengo-avermelhados foi observada em *C. depilis*, *C. langsdorffii* Desf. var. *langsdorffii* e *C. oblongifolia* (Figura 3) e folíolos esverdeados foram detectados em *Copaifera langsdorffii*, *Copaifera langsdorffii* Desf. var. *grandifolia* e *Copaifera* sp. (Figura 3).



Fotos: Antonieta Nassif Salomão

Figura 2. Sementes de espécies do gênero *Copaifera* L. (escala 1 cm).

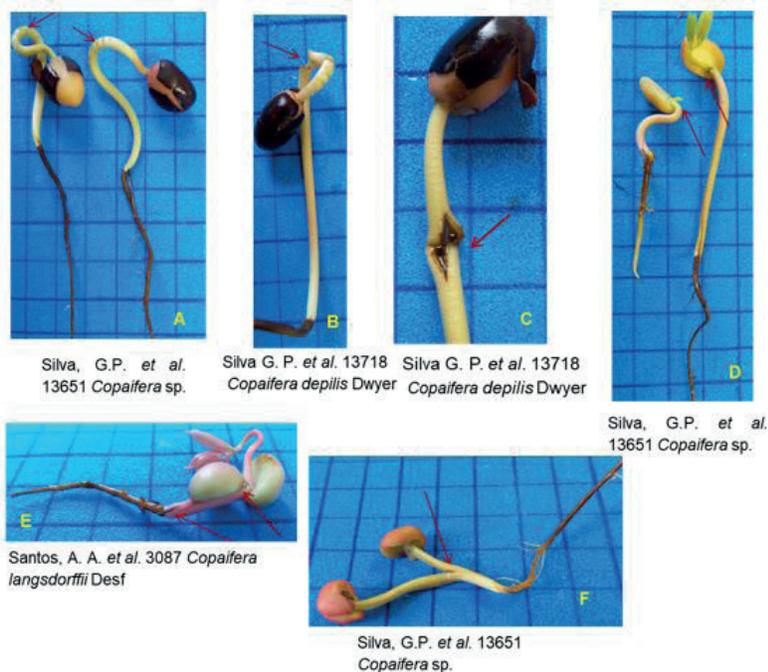


Fotos: Antonieta Nassif Salomão

Figura 3. Fases pós-seminais (20 DAS) de espécies do gênero *Copaifera* L. (escala 1 cm).

Os tipos de anormalidades observadas nas estruturas hipocótilo, epicótilo e sistema radicular e a deterioração de sementes por contaminação fúngica foram os mesmos durante as fases pós-seminais de sementes antes e após o congelamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, aos 20 DAS.

As anormalidades mais comuns do hipocótilo foram o trincamento e a rugosidade (Figura 4A), com comprometimento do tecido de condução (Figura 4B) e foco de infecção (Figura 4C). As demais anormalidades foram hipocótilo com a área de inserção entre os cotilédones e o epicótilo com foco de infecção (Figura 4D); hipocótilo bifurcado com desenvolvimento unilateral do epicótilo ou sem desenvolvimento do epicótilo, Figuras 4E e 4F, respectivamente.



Fotos: Antonieta Nassif Salomão

Figura 4. Anormalidades observadas no hipocótilo durante o desenvolvimento pós-seminal (20 DAS) de espécies do gênero *Copaifera* L.: (A) hipocótilo trincado e rugoso; (B) hipocótilo trincado e rugoso comprometendo o tecido de condução; (C) hipocótilo trincado e com foco de infecção; (D) hipocótilo trincado e com a área de inserção entre os cotilédones e o epicótilo com foco de infecção; (E) hipocótilo bifurcado com desenvolvimento unilateral do epicótilo; (F) hipocótilo bifurcado sem desenvolvimento do epicótilo (escala 1 cm).

As anormalidades do sistema radicular durante o desenvolvimento pós-seminal caracterizaram-se por bifurcação desde o hipocótilo seguindo-se até a radícula e uma das radículas em laço (Figura 5A); radícula bifurcada, atrofiada (Figura 5B, 5C); sistema radicular com formato tendendo a fasciculado (Figura 5D); radícula principal em laço, envolvendo ou não o hipocótilo (Figura 5E, 5F, 5G).

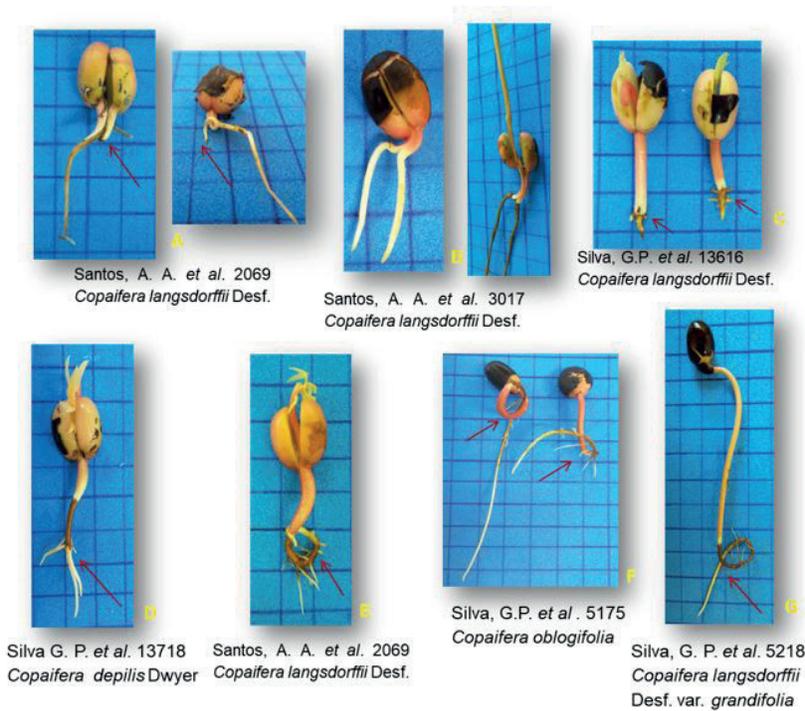
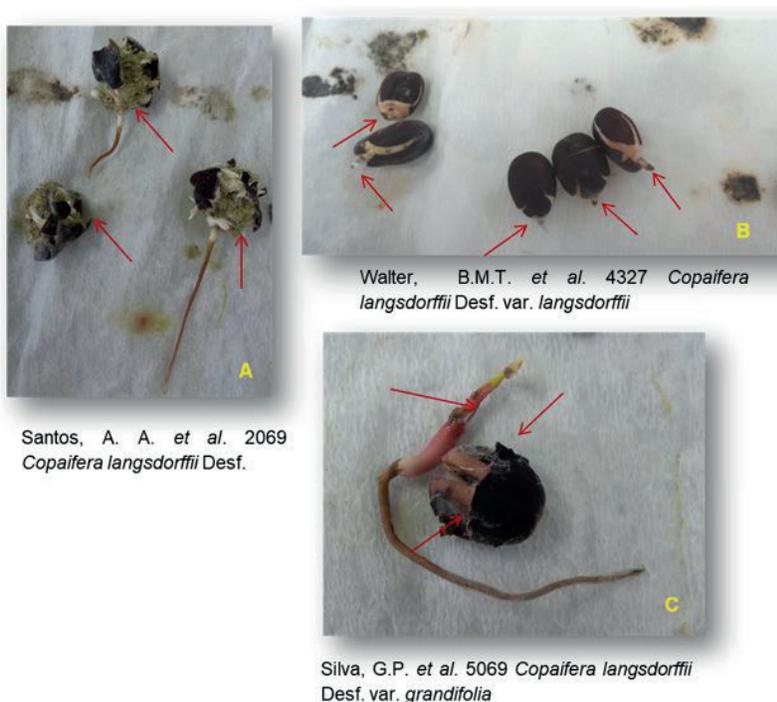


Figura 5. Anormalidades observadas no sistema radicular durante o desenvolvimento pós-seminal (20 DAS) de espécies do gênero *Copaifera* L.: (A) hipocótilo bifurcado e uma das radículas em laço; (B) radícula bifurcada; (C) radícula atrofiada; (D) sistema radicular com formato tendendo a fasciculado; (E, F, G) radícula principal em laço (escala 1 cm).

Durante o desenvolvimento pós-seminal foi observada contaminação fúngica nos cotilédones deteriorados. Em algumas sementes foram observados focos de contaminação nos cotilédones, porém com radícula principal sadia (Figura 6A); na extremidade da radícula principal, enegrecida pela contaminação (Figura 6B) e na extremidade da radícula principal, e cotilédones deteriorados desde a inserção hipocótilo-epicótilo até eófilos (Figura 6C).



Fotos: Antonieta Nassif Salomão

Figura 6. Contaminação fúngica observada durante o desenvolvimento pós-seminal (20 DAS) de espécies do gênero *Copaifera* L.: (A) cotilédones deteriorados, porém com radícula principal sadia; (B) extremidade da radícula principal enegrecida com foco de contaminação; (C) extremidade da radícula principal com contaminação fúngica, cotilédones deteriorado e desde a inserção hipocótilo-epicótilo até eófilos com foco de contaminação (escala 1 cm).

Discussão

Uma complexa interação entre múltiplos fatores é responsável tanto pela perda progressiva de germinabilidade de sementes, quanto pela

manutenção de sua integridade biológica durante o armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Porém, sementes de uma mesma espécie podem expressar distintamente, o efeito desses fatores após sua exposição em temperaturas ultra baixas, como a temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Nesse trabalho, a temperatura de armazenamento de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e o acondicionamento das sementes em embalagens que garantiram a impermeabilidade e a hermeticidade foram adequadas para manter a integridade física das sementes de *Copaifera* spp. (Figura 2). Entretanto, perdas de germinabilidade significativas ($P < 0,05$), foram observadas em sementes de *C. langsdorffii* (Santos, A. A. et al. 3017), com 9,5% de umidade, de 100% para 65% e em sementes de *C. langsdorffii* var. *grandifolia* (Silva, G. P. et al. 5069), com 10,5% de umidade, de 90% para 74%. Provavelmente, para dessas amostras, o teor de água foi o fator que mais influenciou para a perda de germinabilidade de suas sementes (Tabela 2).

Porém, a amostra de *C. langsdorffii* var. *langsdorffii* (Silva, S. P. C. et al. 648), com teor de água de 8,3%, ou seja, inferior a 10,5% e 9,5%, apresentou decréscimo significativo ($P < 0,05$) do percentual germinativo de 80% para 40%, após armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, (Tabela 2). Nesse caso, possivelmente, outro fator atuou para que houvesse o decréscimo do percentual germinativo dessas sementes. Atribui-se às sementes que possuem ácidos graxos insaturados em sua constituição, como as de *Copaifera* spp., a maior probabilidade de que ocorram alterações metabólicas durante seu armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, acelerando o processo de senescência e comprometendo sua integridade, conforme verificado em outras sementes lipídicas (Crane et al., 2003). A perda da compartimentação de membranas, detectada por meio de vazamentos de solutos (íons, açúcares e proteínas) durante a fase de embebição e causada pela peroxidação lipídica, resulta em redução do desempenho germinativo de sementes, produção de plântulas anormais e redução do crescimento das plântulas. Por outro lado, como os eventos responsáveis pela senescência se processam gradativamente e, nem todos eles ocorrem ao mesmo tempo, é possível que os sinais de deterioração sejam imperceptíveis durante a avaliação da germinabilidade. Sementes de *Salix nigra* Marshall (salgueiro) mantiveram a germinabilidade até 16 anos de armazenamento, porém, a

partir do décimo ano de armazenamento intensificou-se o vazamento de solutos, correspondendo à perda da compartimentação de membrana, ou seja, ao envelhecimento do material (López-Fernández et al., 2018). Embora não se tenha mensurado a integridade de membranas em sementes de *Copaifera* L., observou-se decréscimo do potencial fisiológico, expresso pelo percentual germinativo, de algumas amostras após o armazenamento, independente do período em que permaneceram em temperatura subzero de -20°C e de seus teores de água (Tabela 2, Figura 1). Esse comprometimento do potencial fisiológico das sementes foi observado, mesmo que sem diferença significativa ($P < 0,05$), em onze amostras de *Copaifera* spp. (Tabela 2). A exemplo disso, tem-se as amostras de *C. langsdorffii*, Santos, A. A. et al. 3017, armazenada por 11 e Silva, G. P. et al. 4164, armazenada por 20 anos, que apresentaram reduções dos percentuais germinativos de 64% para 45% e de 47% para 30%, respectivamente (Tabela 2). Para as amostras de *C. langsdorffii* var. *langsdorffii*, Silva, G. P. et al. 2333, após 25 anos a -20°C e Walter, B. M. T et al. 4372, armazenada por 20 anos, as perdas dos percentuais germinativos foram de 88% para 60% e de 42% para 30%, respectivamente (Tabela 2). O decréscimo da germinabilidade verificado quando da monitoração de germoplasma semente, pode ser um indicativo de sua deterioração gradativa.

Esse evento torna-se mais relevante ao se trabalhar com germoplasma semente de espécies perenes, não domesticadas e que não possuem Bancos Ativos de Germoplasma para que se conduza sua regeneração, como ocorre com as espécies de *Copaifera* L. Para sementes de ca. 200 espécies nativas, a conservação em bancos convencionais de germoplasma não foi o método mais apropriado para sua conservação. Ao se avaliar sementes dessas espécies melhores respostas foram obtidas após seu armazenamento em condições criogênicas à temperatura de -196°C (Santos et al., 2013). Isso se deve porque a -196°C , efetivamente se detém o processo de deterioração, uma vez que o metabolismo basal das sementes é praticamente inexistente.

O intervalo de tempo entre as avaliações da germinabilidade do material durante sua conservação varia de acordo com a espécie, a estrutura

da semente e a qualidade fisiológica com a qual foi armazenada (Probert et al., 2009). No Jardim Botânico Nacional da Bélgica, ao se avaliar sementes de 250 espécies silvestres, armazenadas à temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, por períodos entre um e 26 anos e acondicionadas em embalagem trifoliada obteve-se um percentual médio de germinação de 59% e os baixos valores de germinação para algumas espécies foram atribuídos a seus táxons, às condições de armazenamento e a outros fatores (Godefroid et al., 2010). Comparando-se esses resultados com os obtidos nesse trabalho, em que as sementes de *Copaifera* spp. estiveram armazenadas por períodos de 11 a 25 anos, nas mesmas condições de temperatura ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) e embalagem (trifoliada), tem-se que sementes das três amostras de *C. depilis* e das duas amostras de *Copaifera* spp. mostraram maior armazenabilidade que as sementes das demais espécies (Tabela 2). Sementes dessas amostras tiveram percentuais médios finais de germinação superiores aos iniciais, em *C. depilis* os valores foram de 91% (inicial) e 96% (final) e *Copaifera* spp. os percentuais germinativos médios foram de 74% (inicial) e 88% (final) [Figura 2]. Considerando-se o desempenho germinativo individual, após congelamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, Santos, A. A. et al. 2069, *C. langsdorffii*, teve aumento não significativa ($P < 0,05$) de percentual germinativo de 64% para 80% e a amostra Santos, H.G.P. et al. 463, *C. langsdorffii* Desf var. *langsdorffii*, manteve o percentual germinativo de 95%.

Entre os danos moleculares que ocorrem em sementes durante o armazenamento, a peroxidação dos ácidos graxos e a glicação de proteínas são os principais eventos bioquímicos envolvidos na deterioração associada ao envelhecimento do material (López-Fernández et al., 2018). Sementes de espécies do gênero *Copaifera* L. possuem como principais compostos de reserva lipídeos e proteínas (Gurgel, 2009). Houve uma tendência das amostras da espécie *C. langsdorffii* e de suas variedades, *C. langsdorffii* var. *grandifolia* e *C. langsdorffii* var. *langsdorffii*, exceto as amostras Santos, A. A. et al. 2069 e Santos, H.G.P. et al. 463, apresentarem maior perda de germinabilidade, após armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Tabela 2). É provável que, para essas sementes os eventos bioquímicos tenham sido mais acentuados, devido à maior concentração de ácidos graxos e proteínas. Agregam-se a estes

fatores, os teores de água com os quais as sementes foram armazenadas, que variaram de 5,8% a 10,5% (Tabela 2). O teor de água ótimo, crítico ou letal para o armazenamento de sementes, independe de seu comportamento fisiológico para fins de conservação e varia entre espécies e genótipos de uma mesma espécie. Considera-se como teor de água crítico aquele em que inicia-se a perda progressiva do percentual germinativo e como teor de água letal aquele em que há a perda total de viabilidade das sementes (Tanaka et al., 2016). Exemplo do efeito do teor de água sobre genótipos de uma mesma espécie foi evidenciado em sementes de *C. langsdorffii*, amostra Santos, A.A. et al. 3017 com 7,3% de umidade e amostra Santos, A.A. et al. 3087 com 9,5% de umidade. A perda de germinabilidade, para sementes dessas amostras foi de 65% para 45% (Santos, A.A. et al. 3017) e de 100% para 65% (Santos, A.A. et al. 3087). Em contraste, para as duas amostras de *C. langsdorffii* var. *langsdorffii* com 7.1% de umidade, Santos, H.G.P. et al. 463 manteve o percentual germinativo inicial de 95% e em Silva, G.P. et al. 2333 a redução do percentual germinativo foi de 88% para 60% (Tabela 2).

Há contradições sobre o tipo de dormência em sementes de *Copaifera* spp. (Pereira et al., 2014; Souza et al., 2015; Santana et al., 2016; Morais et al., 2019). Porém, sementes de muitas espécies da família Fabaceae têm dormência imposta pela impermeabilidade do tegumento ou a presença de inibidores ou ainda, por restrição mecânica (Cardoso, 2009; Tavares et al., 2015). Provavelmente, o aumento do percentual germinativo de sementes de *Copaifera depillis* (Walter, B.M.T. et al. 4322), *Copaifera langsdorffii* (Santos, A.A. et al. 2069) e *Copaifera* sp. (Silva, G.P. et al. 13609) pode ser atribuído à heterogeneidade das sementes quanto à intensidade da dormência. Conforme observado por Lima et al. (2020), em sementes de *Copaifera langsdorffii* a impermeabilidade tegumentar tanto à absorção de água quanto às trocas gasosas fica mais acentuada quando as sementes atingem o ponto de maturação fisiológica. O tempo e as condições de armazenamento podem interferir na intensidade da dormência (Brancaion et al., 2011). Provavelmente, em semente com dormência menos pronunciada houve uma melhor resposta ao tratamento com ácido sulfúrico, o que favoreceu o processo de embebição e, conseqüentemente, seu desempenho

germinativo. Os teores de água com os quais as sementes dessas amostras foram congeladas, de 7,0% a 8,0%, podem ser outro fator que contribuiu para o aumento ou a manutenção da germinabilidade das mesmas, uma vez que as sementes com altas concentrações de ácidos graxos requerem um maior controle do teor de água para seu congelamento em temperaturas subzero (Zongo et al., 2007).

O padrão germinativo é uma característica importante, uma vez que auxilia em estudos sobre sistemática, na identificação de táxons e na determinação dos critérios para considerar plântulas normais e anormais (Alves et al., 2013, Gurgel, 2009). Além disso, alterações do padrão germinativo, como alterações na velocidade de germinação e no desenvolvimento das plântulas, podem indicar perda do potencial fisiológico das sementes, o que é um indício do envelhecimento das mesmas (Marcos-Filho, 2015). O armazenamento a -20 °C não afetou negativamente o padrão germinativo das sementes de *Copaifera* spp., tampouco induziu outros tipos de anormalidades nas fases pós-seminais. A formação de plântulas é heterogênea e assincronica em espécies de plantas não domesticadas. Em condições de laboratório, o tempo requerido para a formação de plântulas de *C. langsdorffii* e *C. oblongifolia* é de 20 DAS (Guerra et al., 2006; Fernandes et al., 2019). Para *C. multijuga* em condições de viveiro o período é em média de 28 DAS (Camargo et al., 2008). Para as 19 amostras de *Copaifera* L. a formação de plântula foi heterogênea e manteve-se igual antes e após o armazenamento a -20 °C, em torno de 20 DAS. As anormalidades comuns às plântulas de espécies de *Copaifera* L., antes e após armazenamento, foram hipocótilo com trincamento e rugosidade, hipocótilo bifurcado, radícula bifurcada, atrofiada, radícula principal em laço, contaminação ou foco de infecção em distintas estruturas da plântula (Figuras 4, 5, 6). Essas anormalidades foram igualmente descritas por Santana et al. (2016) para plântulas originadas de sementes de *C. langsdorffii* com distintos potenciais fisiológicos.

Conclusão

O efeito das condições de armazenamento, temperatura de -20 °C e acondicionamento das sementes em embalagens trifoliadas, mantiveram a integridade física das sementes e não induziram danos aparentes, tampouco anormalidades distintas das observadas antes do armazenamento nas fases pós-seminais.

Sementes da maioria das amostras de *C. langsdorffii*, *C. langsdorffii* var. *grandifolia*, *C. langsdorffii* var. *langsdorffii* e *C. oblongifolia*, não mantiveram sua integridade biológica, observando-se perda gradual de seu potencial fisiológico, após exposição a -20 °C, por períodos variando de 11 a 25 anos. As sementes das amostras de *C. depilis* e *Copaifera* spp. apresentaram maior armazenabilidade. Para as espécies de *Copaifera* L., que são perenes e com sementes aleuro-oleaginosas e não têm Bancos Ativos de Germoplasma, sugere a criopreservação a -196 °C como método apropriado a conservação ex situ de seu germoplasma semente.

Referência Bibliográfica

ALVES, M. C. J. L.; LIMA, P. B.; LIMA, L. F.; ZICKEL, C. S. Descrição morfológica para identificação das plântulas de nove espécies lenhosas de uma floresta de restinga. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 3, p. 374-383, 2013.

BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S.; TATIĆ, M.; ĐORĐEVIĆ, V.; NIKOLIĆ, Z.; DUKIĆ, V. Seed viability of oil crops depending on storage conditions. **Helia**, v. 33, n. 52, p. 153-160, 2010.

BRANCALION, P. H. S.; MONDO, V. H. V.; NOVEMBRE, A. D. da L. C. Escarificação química para superação da dormência de sementes de saguaraji-vermelho (*Colubrina glandulosa* Perk. - Rhamnaceae). **Revista Árvore**, v. 35, n.1, p. 119–124. 2011.

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

CAMARGO, J. L. C.; FERRAZ, I. D. K.; MESQUITA, M. R.; SANTOS, B. A.; BRUM, H. D. **Guia de propágulos e plântulas da Amazônia**. Manaus: INPA, 2008. p.58-59.

CARDOSO, V. J. M. Conceito e classificação da dormência em sementes. **Oecologia Brasiliensis**, n. 13, v.4, p. 619-631, 2009.

CHMIELARZ, P. Cryopreservation of dormant orthodox seeds of forest trees: Mazzard cherry (*Prunus avium* L.). **Annals of Forest Science**, n. 66, v.4, p. 405-409. 2009.

COSTA, J. A. S.; QUEIROZ, L. P. de. Lectotypifications and nomenclatural notes in *Copaifera* L. (Leguminosae-Caesalpinioideae-Detarieae). **Kew Bulletin**, v. 65, p. 475-478, 2010.

COSTA, J. A. S. **Estudos taxonômicos, biossistemáticos e filogenéticos em *Copaifera* L. (Leguminosae- Detarieae) com ênfase nas espécies do Brasil extra-amazônico**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana. 2007. 249 p. il.

COSTA, J. A. S.; QUEIROZ, L. P. de. *Copaifera sabulicola* (Leguminosae), uma nova espécie do cerrado brasileiro. **Rodriguesia**, v. 58, p. 393-396, 2007.

CRANE, J.; MILLER, A. L.; VAN ROEKEL, J. W.; WALTERS, C. Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of *Cuphea* seed. **Planta**, v. 217, p. 699–708. 2003.

EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. **Herbário-CEN**. Disponível em:<<http://www.embrapa.br/recursos-geneticos-e-biotecnologia/pesquisa-e-desenvolvimento/bases-de-dados/herbario-cen>>. Acesso em: 20 dez. 2019.

FERNANDES, E. G.; VALÉRIOS, H. M.; DUARTE, K. L. R.; CAPUCHINHO, L. M. de N.; FAGUNDES, M. Fungi associated with *Copaifera oblogifolia* (Fabaceae) seeds: occurrence and possible effects on seed germination. **Acta Botanica Brasílica**, v.33, n.1, p. 179-182. 2019.

GARCIA, L. C.; LIMA, D. de. Comportamento de sementes de *Copaifera multijuga* durante o armazenamento. **Acta Amazônica**, v. 30, n. 3, p. 369-375, 2000.

GODEFROID, S.; VYVER, A. V. de; VANDERBORGHT, T. Germination capacity and viability of threatened species collections in seed bank. **Biodiversity Conservation**, n. 19, p. 1365-1383, 2010.

GUERRA, M. E. de C.; MEDEIROS FILHO, S.; GALLÃO, M. I. Morfologia de sementes, de plântulas e da germinação de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae Caesalpinioideae). **Cerne**, v. 12, n. 4, p. 322-328, 2006.

GURGEL, E. S. C. **Morfoanatomia, perfil químico e atividade alelopática de três espécies de *Copaifera* L. (Leguminosae Caesalpinioideae) nativas da Amazônia.** (Tese de doutorado). Universidade Federal do Amazonas. 2009. 107 p. il.

LIMA, J. A. de; OLIVEIRA, M. C. de; SANTANA, D. G. de; LUZ, J. M. Q. Maturação e inibidores de germinação na emergência de plântulas de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf. Caesalpinaceae). Disponível em: < www.abhorticultura.com.br>. Acesso em: 26 jul. 2020.

LIMA NETO, J. de S.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. R. Constituintes químicos de frutos de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1078-1080, 2008.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, M. P.; MOYANO, L.; CORREA, M. D.; VASILE, F.; BURRIEZA, H. P.; Maldonado, S. Deterioration of willow seeds during storage. **Science Reports**, n. 8, 17207, 2018.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p.363-374, 2015.

MBOFUNG, G. C. Y. **Effects of maturity group, seed composition and storage conditions on the quality and storability of soybean (*Glycine max* L. Merrill) seed.** Dissertation, Iowa State University. 2012.

MORAIS, W. T. de; NEVES, A. G. da S.; SILVA, L. C. da; VIEIRA, F. de A. Emergência de plântulas da *Copaifera cearensis* após métodos de superação de dormência. Disponível em: < http://www.editorarealize.com.br/revistas/conidis/trabalhos/TRABALHO_EV133_MD4_SA36_ID513_30102019190758.pdf>. Acesso em: 23 dez. 2019.

MOROZESK, M.; BONOMO, M. M.; DUARTE, I. D.; ZANI, L. B.; CORTE, V. B. Longevidade de sementes nativas da Floresta Atlântica. **Natureza on line**, v. 12, n. 4, p. 185-194, 2014.

NOLETO, L. G.; PEREIRA, M. de F. R.; AMARAL, L. I. V. do. Alterações estruturais e fisiológicas em sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf.- Leguminosae-Caesalpinioideae submetidas ao tratamento com hipoclorito de sódio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p.45-52, 2010.

PEREIRA, S. R.; LAURA, V. A.; SOUZA, A. L. T. de. Superação de dormência de sementes como estratégia para recuperação florestal de pastagem tropical. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 2, p. 148-156. 2013.

PEREIRA, W. V. S.; FARIA, J. M. R.; TONETTI, O. A. O; SILVA, E. A. A. Loss of desiccation tolerance in *Copaifera langsdorffii* Desf. seeds during germination. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74, n.2, p. 501-508. 2014.

POLO, M. **Germinação, crescimento e cumarinas em *Copaifera langsdorffii* Desf.** 1993. 159 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP. Disponível em: <<http://www.repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/315071>>. Acesso em: 8 dez. 2019.

PROBERT, R. J.; DAWS, M. I.; HAY, F. R. Ecological correlates of *ex situ* seed longevity: a comparative study on 195 species. **Annals of Botany**, v. 104, p. 57-69, 2009.

SANTANA, D. G. de; LOBO, G. A.; SALOMÃO, A. N.; PEREIRA, V. J. Robustness of germination analysis methods for *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae) seeds. **Bioscience Journal**, v.32, n. 1, p. 160-171, 2016.

SANTOS, I. M. dos; COSTA, J. A. S.; COSTA, C. B. N. CALADO, D. Predação de sementes por insetos em três espécies simpátricas de *Copaifera* L. (Fabaceae) **Biotemas**, v. 28, n. 2, p. 87-95, 2015.

SANTOS, I. R. I.; SALOMÃO, A. N.; VARGAS, D. P.; SILVA, D. P. C. da; NOGUEIRA, G. F.; CARVALHO, M. A. de F.; PAIVA, R. Situación actual y perspectivas de la investigación em crioconservación de recursos fitogenéticos em Brasil. In: GONZÁLES-ARNAO, M.T.; ENGELMANN, F. (ed.). **Crioconservación de plantas en América Latina y el Caribe**. San José. IICA, 2013. p. 75-92.

SOUZA, M. L.; SILVA, D. R. P.; FANTECELLE, L. B.; LEMOS FILHO, J. P. de. Key factors affecting seed germination of *Copaifera langsdorffii*, a Neotropical tree. **Acta Botanica Brasilica**, v. 29, n. 4, p. 473-477, 2015.

TANAKA, D. V.; OLIVEIRA, L. M. de; LIESCH, P. P.; ENGEL, M. L. Slow and fast drying in seeds of *Ocotea puberula* (Rich.) Ness. **Revista Árvore**, v.40, n.6, p.1059-1065, 2016.

TAVARES, D. V. L.; MARTINS, N. P.; BARROS, W. S.; SOUZA, L. C. D. de. Metodologia de quebra de dormência em sementes de sucupira-branca. **Revista Conexão Eletrônica**, v. 12, n. 1, p. 96-104, 2015.

VASCONCELOS, K. R. F.; VEIGA JUNIOR, V. F. da; ROCHA, W.C.; Bandeira, M. F. C. L. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. Revista Brasileira de Farmacognosia **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18 (Supl.), p.733-738, 2008.

VEIGA JUNIOR, V. F.; ANDRADE JUNIOR, M. A.; FERRAZ, I. D. K.; CHRISTO, H. B.; PINTO, A.C. Constituintes das sementes de *Copaifera officinalis* L. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 123-126, 2007.

VIEIRA, R. C.; BOMBARDIERE, E.; OLIVEIRA, J. J.; LINO-JÚNIO, R. S.; BRITO, L.A.B.; JUNQUEIRA-KIPNIS, A.P. Influência do óleo de *Copaifera langsdorffii* no reparo de ferida cirúrgica em presença de corpo estranho. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 8, p.358-366, 2008.

ZONGO, C.; SAINTPIERRE-BONACCIO, D.; MCGILL, C. R.; BOURAÏMA-MADJËBI, S.; HNAWIA, E.; FOGLIANI, B. **Lipid contents and fatty acids composition of seed storage reserves of eight species used for re-vegetation in New Caledonia and their implication for long term conservation**. 2007. Disponível em:< <https://www.researchgate.net/publication/281667050>>. Acesso em: 20 dez 2019.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL