

# QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Pinus elliotti* Engelm. SUBMETIDAS A DIFERENTES MÉTODOS DE ARMAZENAMENTO

Adriano Geraldo Fonseca<sup>1</sup>, José Jhones Matuda<sup>1</sup>, Jannaina Oliveira Almeida<sup>2</sup>,  
Ubirajara Russi Nunes<sup>3</sup>, Evandro Luiz Mendonça Machado<sup>4</sup>

(recebido: 4 de fevereiro de 2010; aceito: 28 de fevereiro de 2012)

**RESUMO:** Com a crescente demanda por produtos florestais, torna-se necessário ampliar o conhecimento sobre as espécies de maior importância econômica, especialmente no que se refere ao armazenamento de sementes. Entre os métodos de conservação existentes a criopreservação se apresenta como um dos mais baratos e eficientes. Neste trabalho, objetivou-se testar o comportamento fisiológico das sementes de *Pinus elliottii* Engelm. submetidas ao armazenamento em nitrogênio líquido; ambiente de laboratório e geladeira. O experimento foi conduzido no Laboratório de sementes da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, em Diamantina, Minas Gerais. As sementes foram adquiridas em junho de 2007, por doação da empresa Rigesa Ltda. Para a realização deste trabalho foram testados três tipos de armazenamento: 1) nitrogênio líquido à temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$ ; 2) ambiente de laboratório; 3) geladeira. Todos os tratamentos acima foram avaliados após um período de 0, 40, 80 e 120 dias de armazenamento. Os testes de vigor e germinação e velocidade de germinação foram montados em gerbox, com papel germitest e umedecidos com água destilada e mantidos em germinador BOD à  $25^{\circ}\text{C}$ . Também foram avaliadas as características comprimento de plântulas, massa verde e massa seca das plântulas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Constatou-se que houve perda da qualidade fisiológica das sementes de *P. elliottii* em todos os tratamentos. A criopreservação de sementes de *P. elliottii* pode ser utilizada como alternativa de armazenamento nos bancos de germoplasma.

Palavras-chave: Criopreservação, descongelamento, Pinaceae.

## PHYSIOLOGICAL QUALITY OF *Pinus elliotti* Engelm. SEEDS SUBJECTED TO DIFFERENTS STORAGE METHODS

**ABSTRACT:** Due to the growing demand for forest products, it is necessary to increase knowledge about the tree species of economic importance, especially in relation to seed storage. One method to study forest species is the storage of seeds. Cryopreservation is the cheapest and the most efficient method of seed preservation. The objective of this study was to test the behavior of *Pinus elliottii* Engelm. seeds stored on liquid nitrogen; laboratory environment and refrigerator. The experiment was conducted in the seed Laboratory of the Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valley. The seeds were donated by Rigesa Ltda on June 2007. Three types of storage were tested: 1) liquid nitrogen temperature of  $-196^{\circ}\text{C}$ , 2) laboratory environment, 3) refrigerator. All treatments were evaluated at 0, 40, 80 and 120 days of storage. The vigor, germination and germination rate tests were mounted on gerbox with blotters and moistened with distilled water and kept in BOD incubator chamber at  $25^{\circ}\text{C}$ . Seeds length, green mass and dry mass were also evaluated. The data were subjected to analysis of variance and means compared by Tukey test at 5% significance level. It was found that there was loss of quality of the *Pinus elliottii* seeds in all treatments. Cryopreservation of *P. elliottii* seeds can be used as an alternative of storage in genebanks

Key words: Cryopreservation, thawing, Pinaceae.

### 1 INTRODUÇÃO

A grande demanda por produtos florestais torna necessária a busca por espécies de fácil adaptação e de crescimento rápido. Nesse sentido, *Pinus* spp. destaca-se pela sua produtividade, adaptação e desenvolvimento e encontra seu maior potencial nas regiões temperadas

e tropicais do planeta. Para garantir uma alta produção e uma ótima adaptação da espécie a ser implantada em um determinado local, são necessários estudos para se saber a viabilidade de se introduzir essa espécie ou se será necessário o trabalho dos melhoristas para selecionar ou criar variedades tolerantes às condições locais, garantindo a produtividade e a qualidade da madeira (SHIMIZU, 2008).

<sup>1</sup>Engenheiro Florestal – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/UFVJM – Departamento de Engenharia Florestal/DEF – 39100-000 – Diamantina, MG, Brasil – drianogeraldo@yahoo.com.br, jjmatuda@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Engenheira Florestal, Mestre em Ciência Florestal – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/UFVJM – Departamento de Engenharia Florestal/DEF – 39100-000 – Diamantina, MG, Brasil – jannaina\_aniannaj@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Professor Doutor em Fitotecnia – Universidade Federal de Santa Maria – Departamento de Fitotecnia – Av. Roraima, nº 1000, Camobi – 97105-900 – Santa Maria, RS, Brasil – russinunes@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Engenheiro Florestal, Professor Doutor em Engenharia Florestal – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri/UFVJM – Departamento de Engenharia Florestal/DEF – 39100-000 – Diamantina, MG, Brasil – machadoelm@gmail.com

Originário do sudeste dos Estados Unidos, *Pinus* spp. é conhecido como “*slash pine*” ou “*american pitch pine*” e, segundo Kronka et al. (2005), crescem em solos arenosos, com altitude inferior a 990 m, caracterizando-se por apresentar um clima quente, com verão úmido e primavera de menor precipitação pluviométrica. Em razão do excelente crescimento em zonas de clima subtropical úmido, de acordo com Marchiori (2005) é largamente cultivado no sul do Brasil, onde encontra condições ideais de crescimento, desde o Rio Grande do Sul até o centro do Paraná e sul de São Paulo. Também pode ser cultivado em áreas de maior altitude (Serra da Mantiqueira, do Mar, Bocaina e dos Órgãos) requerendo chuvas uniformemente distribuídas durante o ano, invernos frios e sem déficit hídrico (KRONKA et al., 2005).

Uma maneira de se buscar alternativa e contribuir para um amplo conhecimento de determinada espécie é o estudo dos melhores métodos de armazenamento do seu material genético, representada pelas sementes da espécie a ser investigada. A necessidade de se manter um banco de germoplasma é decorrente do interesse em não se perder as características genéticas da espécie. O estudo de métodos de armazenagem é de grande importância para se conhecer o melhor modo de se estocar sementes por um longo período de tempo sem perder suas características fisiológicas e suas qualidades. A qualidade fisiológica da semente está diretamente associada com o seu poder germinativo, ou seja, com a capacidade do embrião iniciar o crescimento e, sob condições ambientais favoráveis, dar origem a uma plântula normal (TRESENA et al., 2009).

Dentre os métodos existentes, como conservação em geladeira e ambiente, a criopreservação em nitrogênio se mostra muito eficiente e de baixo custo. Segundo Pita et al. (1997) e Tresena et al. (2009), a criopreservação é uma técnica que permite manter o germoplasma por vários anos sob temperatura ultrarreduzida, em geral,  $-196^{\circ}\text{C}$ . Nessa temperatura, a movimentação de moléculas é muito reduzida e não há fase líquida na célula. Os riscos de perda do material biológico são menores e os custos mais baixos em relação aos da conservação “*in vitro*”. Quando é viável a criopreservação de sementes de determinada espécie à temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$ , essas podem ter uma longevidade de armazenamento considerada indefinida, pois às temperaturas abaixo de  $-130^{\circ}\text{C}$ , a atividade metabólica das sementes é mínima e pode ser considerada desprezível.

Por outro lado, a criopreservação resulta na exposição a fatores físicos, químicos e fisiológicos,

podendo ocasionar danos aos tecidos das sementes, em decorrência do armazenamento à baixa temperatura ( $-196^{\circ}\text{C}$ ). Algumas ameaças para a estabilidade genética podem surgir a partir de reações (formação de radicais livres, danos moleculares, pelas radiações ionizantes), as quais estão sujeitas as sementes em baixas temperaturas (PANIS; LAMBARDI, 2005). Em um banco de germoplasma a baixas temperaturas, não só o processo de criopreservação deve ser levado em consideração como também o método de descongelamento, pois quanto mais rápido ocorrer o descongelamento das sementes, melhor a preservação de suas características fisiológicas (MOLINA et al., 2006).

Mesmo sendo as espécies da família *Pinaceae* de grande importância tanto para o mercado madeireiro como paisagístico, informações sobre o processo de criopreservação de suas sementes ainda são escassos no meio científico (KRONKA et al., 2005).

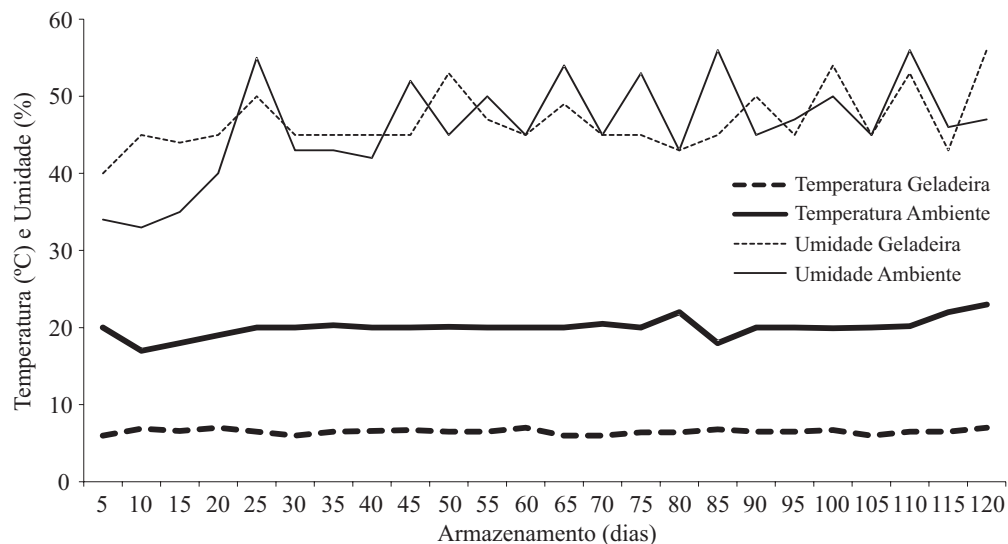
Tendo como base enriquecer o conhecimento científico, conduziu-se este trabalho, com o objetivo de avaliar o comportamento fisiológico das sementes de *Pinus elliotti* Engelm. submetidas a diversos métodos de armazenamento, entre eles o da criopreservação.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes no Campus JK da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, em Diamantina, MG (latitude  $18^{\circ}12' \text{ S}$ , longitude  $43^{\circ}34' \text{ W}$ , altitude 1280 m.s.n.m., clima Cwb de Köppen, com precipitação média anual 1404,7 mm e temperatura média anual  $18,1^{\circ}\text{C}$ ). Sendo este realizado durante o período de 1<sup>o</sup> de julho de 2007 a 11 de novembro de 2007.

As sementes foram adquiridas por doação da empresa Rigesa Ltda., sendo o lote do ano de 2006, de um Pomar de Sementes Clonal, localizado no município de Três Barras, SC (latitude  $26^{\circ}07' \text{ S}$ , longitude  $50^{\circ}19' \text{ W}$ , altitude de 770 m.s.n.m.), o qual apresenta clima, segundo a classificação de Köppen, do tipo Cfb, com precipitação média anual de 1429,3 mm, temperatura média anual de  $19,27^{\circ}\text{C}$ .

As sementes foram acondicionadas em recipientes de polietileno, lacradas, e submetidas aos seguintes tratamentos de armazenamento: (a) nitrogênio líquido (NL) à temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$ ; (b) geladeira à temperatura média de  $6,5^{\circ}\text{C}$  e (c) ambiente de laboratório à temperatura média de  $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ . Esses tratamentos foram realizados por 0, 40, 80 e 120 dias (Figura 1).



**Figura 1** – Dados da temperatura e umidade em geladeira e ambiente de laboratório durante o armazenamento de sementes de *Pinus elliotti* Engelm.

**Figure 1** – Data on temperature and humidity in the refrigerator and lab environment during storage of *Pinus elliottii* Engelm. seeds.

Antes do armazenamento e após esse aos 40, 80 e 120 dias, foram realizadas as seguintes avaliações:

a) *Teste de germinação – G*: 200 sementes (subdivididas em quatro repetições) foram dispostas sobre duas folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada na proporção de três vezes a sua massa sem hidratação, no interior dos gerbox, envolvidas em sacos de polietileno, com o objetivo de evitar a perda de água para o meio. Os gerbox, contendo as sementes foram conduzidos ao germinador tipo BOD à temperatura de 25°C (BRASIL, 2009). As avaliações foram realizadas em duas contagens: a primeira contagem (sete dias após o início do teste) e a segunda contagem (contagem final, após 21 dias após o início do teste) das sementes germinadas, fornecendo dados expressos em percentagem de plântulas normais.

b) *Vigor – V*: calculado a partir da percentagem de plântulas normais na primeira contagem e a germinação pela percentagem de plântulas normais na contagem final aos 21 dias.

c) *Índice de Velocidade de Germinação – IVG*: obtido a partir da fórmula:  $IVE = \sum (ni/ti)$ , onde: ni = número de plântulas germinadas no tempo ti (MARCOS FILHO et al., 1987).

d) *Umidade – U*: realizado por meio do método da estufa, regulada a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  por 24 horas (BRASIL, 2009), para cada tratamento em cada tempo de descongelamento (0, 40, 80, 120 dias).

e) *Comprimento de Plântulas – CP*: utilizaram-se 40 sementes (subdivididas em quatro repetições), as quais foram avaliadas no final de cada teste, mesurando-se o comprimento das plântulas normais e obtendo-se o valor médio, expresso em centímetros (NAKAGAWA, 1999).

f) *Massa Verde de Plântula – MV*: realizada juntamente com o comprimento de plântulas, no final de cada teste, consistiu na pesagem em balança de precisão de 0,0001 g e o valor obtido pela soma de cada repetição foi dividido pelo número de plântulas utilizadas. Os resultados foram expressos em mg/plântula (NAKAGAWA, 1999).

g) *Massa Seca de Plântula – MS*: realizada juntamente com o teste de comprimento de plântulas, no final de cada teste, consistiu da secagem das plântulas em estufa a 85°C por 48 horas. Em seguida, as plântulas foram pesadas em balança de precisão de 0,0001 g e o valor obtido pela soma de cada repetição foi dividido pelo número de plântulas utilizadas. Os resultados foram expressos em mg/plântula (NAKAGAWA, 1999).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em fatorial, com quatro tratamentos. A comparação das médias foi realizada pelo teste Tukey em nível de 5% de probabilidade, por meio do programa computacional Sisvar, versão 3.0. As variáveis que expressam proporções foram transformadas previamente pela função  $\text{arco-seno} \sqrt{\%/100}$  (SANTANA; RANAL, 2004), mas nas tabelas são apresentadas as médias sem transformação.

Em razão da ausência de informações a cerca da melhor forma de descongelamento, elaborou-se um bioensaio a fim de verificar qual o melhor método para efetua-lo. Para tanto quatro amostras de 10g das sementes criopreservadas em nitrogênio líquido foram submetidas aos seguintes tratamentos de descongelamento: (i) temperatura ambiente por seis horas; (ii) banho-maria (imersão em água) à 37°C por cinco minutos; (iii) freezer por três horas seguido de temperatura ambiente por três horas; (iv) microondas a 150 W por cinco minutos e (v) testemunha (sementes sem tratamento criogênico). Posteriormente, foram testados estatisticamente os seguintes parâmetros: germinação, vigor, índice de velocidade de germinação, comprimento de plântulas, massa verde e seca (Tabela 1).

**Tabela 1** – Valores médios da germinação (G), vigor (V), índice de velocidade de germinação (IVG), em porcentagem, do comprimento de plântulas (CP), em centímetros, da massa verde (MV), massa seca (MS), em gramas de sementes de *Pinus elliotti* Engelm. submetidas ao congelamento em nitrogênio líquido e diferentes métodos de descongelamento. (ns = não significativo).

**Table 1** – Mean values of germination (G), the vigor (V), the i germination index speed (IVE), fresh weight (MV) of dry matter (DM) in grasses and seedling length (CP), in centimeters, of *Pinus elliotti* Engelm. seeds subjected to freezing in liquid nitrogen and different methods of thawing. (ns = non significant).

Métodos de descongelamento	G	V	IVG	CP	MV	MS
(i) Ambiente	65 <sup>ns</sup>	33 <sup>ns</sup>	50,28 <sup>ns</sup>	5,98 <sup>ns</sup>	1,04 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>
(ii) Banho Maria	69 <sup>ns</sup>	32 <sup>ns</sup>	51,79 <sup>ns</sup>	4,66 <sup>ns</sup>	0,95 <sup>ns</sup>	0,31 <sup>ns</sup>
(iii) Freezer	65 <sup>ns</sup>	34 <sup>ns</sup>	53,04 <sup>ns</sup>	5,92 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	0,33 <sup>ns</sup>
(iv) Microondas	72 <sup>ns</sup>	39 <sup>ns</sup>	58,27 <sup>ns</sup>	5,68 <sup>ns</sup>	0,96 <sup>ns</sup>	0,34 <sup>ns</sup>
(v) Testemunha	66 <sup>ns</sup>	36 <sup>ns</sup>	53,62 <sup>ns</sup>	5,00 <sup>ns</sup>	0,88 <sup>ns</sup>	0,28 <sup>ns</sup>
CV (%)	18	36	30	28	17	11

Para todos os tratamentos avaliados, não houve diferenças estatisticamente entre os tratamentos de descongelamento. Dessa forma, foi selecionado como método para descongelamento neste experimento o microondas, pela sua praticidade e rapidez.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de água nas sementes no momento de instalação do experimento foi de 8,97%, de acordo com o teste de umidade (Tabela 2). Esse valor, segundo Diniz et al. (1999), é aceitável, pois o valor máximo tolerável

de umidade para criopreservação seria de 9%, em base úmida. Diversos autores (BAJAJ, 1995; SANTOS, 2001; TOWILL, 2000, 2002) consideram que o ponto mais crítico na criopreservação de sementes ortodoxas é definir o teor de água ideal antes da imersão em nitrogênio líquido. Caso os teores sejam muito baixos, podem levar à desidratação excessiva e a morte das células. Enquanto que os elevados, levariam à formação de cristais de gelo no interior das células, resultando na ruptura do sistema de membranas celulares, à perda da permeabilidade seletiva das células, da compartimentalização celular, culminando no colapso e morte.

Verificou-se, no entanto, que após o armazenamento houve uma flutuação no teor de umidade das sementes (Tabela 2). O armazenamento em geladeira e no ambiente tiveram um aumento de 10,0% e 0,8%, respectivamente, para os primeiros 40 dias. Enquanto que o método de criopreservação (NL) apresentou uma redução de 4,3%, para o mesmo período. Já, para os períodos subsequentes houve uma estabilização dos valores de umidade para todos os tratamentos em torno dos 7,6% de umidade. Essa oscilação no teor de umidade, durante o armazenamento, também fora descrita por Pita et al. (1997), estudando o comportamento de sete espécies de pinos nativos espanhóis e por Lima et al. (2008), trabalhando com 19 espécies arbóreas nativas do Brasil Central.

Apesar das diferenças e flutuações nos teores de umidade, o teste de geminação (Tabela 2) indicou que os tratamentos apresentaram a mesma tendência, sendo que o armazenamento em geladeira foi significativamente inferior aos demais, aos 80 dias. O mesmo padrão foi observado tanto para o teste de vigor, como para o índice de velocidade de germinação (Tabela 2), sendo que, neste último, não houveram diferenças significativas.

Os demais testes realizados (Tabela 3), massa verde, massa seca e comprimento de plântula indicaram o mesmo comportamento dos testes anteriormente apresentado. Guimarães et al. (2006) observaram que, na medida em que as sementes envelhecem, perdem gradativamente o seu poder germinativo e, geralmente, originam plântulas pouco desenvolvidas. Entretanto, nota-se que apesar da visível perda da germinação, dentre os tratamentos testados, o que apresenta melhor resultado é o da criopreservação (NL).

Os resultados observados indicam uma redução considerável na germinação das sementes após o armazenamento tanto em condições naturais, como para os métodos aqui testados (geladeira e NL). As possíveis causas, já documentadas podem estar relacionadas a

**Tabela 2** – Valores médios\* de umidade, germinação, vigor, índice de velocidade de germinação de sementes de *Pinus elliotti* Engelm., após armazenamento em geladeira, ambiente e nitrogênio líquido por 0, 40, 80 e 120 dias.*Table 2* – Mean values of humidity, germination, vigor and speed of germination of *Pinus elliotti* Engelm. seeds, after storage in refrigeration, environment and liquid nitrogen conditions for 0, 40, 80 and 120 days.

Parâmetro	Dias			
	0	40	80	120
<b>Umidade (%)</b>				
Geladeira	8,97	9,86	7,72	7,43
Ambiente	8,97	9,68	7,68	7,87
Nitrogênio	8,97	4,66	7,62	7,51
Média	8,97	8,06	7,67	7,60
<b>Germinação (%)</b>				
Geladeira	66,50Aa	67,50Aa	29,50Bb	24,50Ba
Ambiente	66,50ABa	79,50Aa	44,00BCa	27,50Ca
Nitrogênio	66,50Aa	63,00Aa	66,00Aa	34,00Ba
Média	66,50A	70,00A	46,50B	28,66C
CV(%)	18,34			
<b>Vigor (%)</b>				
Geladeira	36,25Ba	65,50Aa	11,00BCb	3,00Ab
Ambiente	36,25Ba	69,50Aa	14,50BCab	3,50Ab
Nitrogênio	36,25Aa	63,00Aa	38,00Aa	5,00Ab
Média	36,25B	66,00A	21,16B	3,83A
CV(%)	31,28			
<b>Índice de velocidade de germinação</b>				
Geladeira	10,14Ba	16,56Aa	6,46Ba	8,88Ba
Ambiente	10,14ABa	16,41Aa	7,82Ba	12,04ABa
Nitrogênio	10,14ABa	15,52Aa	10,38ABa	9,77Ba
Média	10,14B	16,16A	8,22B	10,23B
CV(%)	24,95			

\*Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na mesma linha e minúsculas na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*Means followed by same uppercase letters in the same row and column letters do not differ by Tukey test at 5% probability.

fatores como envelhecimento natural (FERREIRA et al., 2004); variações na temperatura e umidade, no ambiente de armazenamento (Figura 1) e no teor de umidade das sementes (DEGAN et al., 2001); sementes ricas em óleo (HARRINGTON, 1972) e a presença de alguns fungos em sementes, que causam patogenicidade e prejudicam a qualidade fisiológica e, conseqüentemente, perda de sua viabilidade e longevidade (SANTOS, 2001).

Alguns dos fatores anteriormente apontados como possíveis causadores da degradação das sementes, merecem

atenção especial e podem ter sido os responsáveis pela perda do poder germinativo das sementes de *Pinus elliotti*. As oscilações nos teores de umidade podem ter iniciado o processo de deterioração e favorecer a colonização de fungos. A ocorrência de fungos nas sementes durante o experimento foi observada, porém não mensurada, o que pode ter afetado o crescimento das plântulas. Fato comprovado analisando os resultados da Tabela 3, onde a queda no comprimento das plântulas ocorreu em todos os tratamentos no decorrer do armazenamento.



**Tabela 3** – Valores médios\* de massa verde, massa seca e comprimento de plântulas de *Pinus elliotti* Engelm., após armazenamento em geladeira, ambiente e nitrogênio líquido por 0, 40, 80 e 120 dias.

*Table 3* – Mean values of green mass, dry weight and length of seedlings of *Pinus elliottii* Engelm., after refrigeration storage environment and liquid nitrogen for 0, 40, 80 and 120 days.

Parâmetro	Dias			
	0	40	80	120
Massa verde (%)				
Geladeira	0,87ABa	1,14Aba	0,78Bb	0,76Ba
Ambiente	0,87Ba	1,34Aa	0,90Bb	0,73Ba
Nitrogênio	0,87Ba	1,00Bb	1,33Aa	0,83Ba
Média	0,87BC	1,16A	1,00B	0,78C
CV(%)	14,60			
Massa seca (%)				
Geladeira	0,28Aa	0,31Aa	0,32Aa	0,33Aa
Ambiente	0,28Aa	0,32Aa	0,32Aa	0,30Aa
Nitrogênio	0,28Aa	0,29Aa	0,33Aa	0,35Aa
Média	0,28B	0,30AB	0,32AB	0,33A
CV(%)	13,11			
Comprimento de plântula (cm)				
Geladeira	5,00ABa	6,20Aab	2,87Cb	3,38BCa
Ambiente	5,00Ba	7,30Aa	3,32Bb	3,19Ba
Nitrogênio	5,00Ba	5,33Bb	7,58Aa	3,63Ba
Média	5,00B	6,28A	4,59B	3,40C
CV(%)	22,19			

\*Médias seguidas de letras iguais maiúsculas na mesma linha e minúsculas na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

\*Means followed by same uppercase letters in the same row and column letters do not differ by Tukey test at 5% probability.

As espécies do gênero *Pinus* possuem aproximadamente metade (48%) de suas reservas constituída por lipídeos (KRONKA et al., 2005). Esse elevado teor de óleos na composição química resulta em uma menor estabilidade das moléculas, as quais se degradam com maior velocidade, culminando em uma perda de viabilidade (BEWLEY; BLACK, 1994).

#### 4 CONCLUSÕES

Houve perda da qualidade fisiológica das sementes de *Pinus elliotti* Engelm. em todos os tratamentos ao longo do armazenamento. A crioconservação de sementes de *P. elliotti*. pode ser utilizada como alternativa de armazenamento nos bancos de germoplasma.

#### 5 AGRADECIMENTOS

À Empresa RIGESA LTDA pela doação das sementes para a realização deste trabalho.

#### 6 REFERÊNCIAS

- BAJAJ, Y. P. S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organ culture for the conservation of germplasm and biodiversity. In: \_\_\_\_\_. **Cryopreservation of plant germplasm I**. Berlin: Springer, 1995. p. 3-28. (Biotechnology in Agriculture and Forestry, 32).
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Plenum, 1994. 445 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 399 p.
- DEGAN, P.; AGUIAR, I. B.; SABER, R.; PERECIN, D.; PINTO, L. R. Influência de método de secagem de sementes de Ipê branco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v. 5, n. 3, p. 492-496, 2001.

- DINIZ, P. S. C.; MATA, M. E. R. M. C.; BRAGA, M. E. D. Influência das técnicas de descongelamento na qualidade fisiológica nas sementes de milho crioconservadas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 1, n. 1, p. 1-12, 1999.
- FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, D.; OLIVEIRA, A. F.; GERMAQUE, R. C. R. Qualidade fisiológica de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. envelhecidas artificialmente. **Revista de Ciência Agrícola**, Maceió, v. 35, n. 1, p. 82-86, 2004.
- GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, A. R. Aspectos fisiológicos de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 27, n. 232, p. 40-50, maio/jun. 2006.
- HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: KOLOWISKI, T.T. (Ed.). **Seed biology**. New York: Academic, 1972. p. 145-245.
- KRONKA, F. J. N.; BERTOLANI, F.; PONCE, R. H. **A cultura do Pinus no Brasil**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2005. 160 p.
- LIMA, V. V. F.; VIEIRA, D. L. M.; SEVILHA, A. C.; SALOMÃO, A. N. Germinação de espécies arbóreas de floresta estacional decidual do vale do rio Paranã em Goiás após três tipos de armazenamento por até 15 meses. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 8, n. 3, p. 89-97, 2008.
- MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das gimnospermas**. Santa Maria: UFSM, 2005. 158 p.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S. M.; SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230 p.
- MOLINA, T. F.; TILLMANN, M. A. A.; DODE, L. B.; VIÉGAS, J. Crioconservação em sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 72-81, 2006.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação de plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 21-22.
- PANIS, B.; LAMBARDI, M. **Status of cryopreservation technologies in plants: crops and forest trees**. Turin: The Role of Biotechnology, 2005. 15 p.
- PITA, J. M.; SANZ, V.; ESCUDERO, A. Seed cryopreservation of seven Spanish native pine species. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v. 47, n. 4, p. 416-421, 1997.
- SANTANA, D. G.; RANAL, M. A. **Análise da germinação: um enfoque estatístico**. Brasília: UnB, 2004. 248 p.
- SANTOS, I. R. I. Criopreservação de germoplasma vegetal. **Biociência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 20, p. 60-65, 2001.
- SHIMIZU, J. Y. **Pinus na silvicultura brasileira**. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2008. 223 p.
- TOWILL, L. E. Cryopreservation of plant germplasm. In: TOWILL, L. E.; BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Cryopreservation of plant germplasm II**. Berlin: Springer, 2002. p. 4-21. (Biotechnology in Agriculture and Forestry, 50).
- TOWILL, L. E. Germplasm preservation. In: TRIGIANO, R. N.; GRAY, D. J. (Ed.). **Plant tissue culture concepts and laboratory exercises**. Boca Raton: CRC, 2000. p. 337-353.
- TRESENA, N. L.; MATA, M. E. R. C.; DUARTE, M. E. M.; MORAES, A. M.; DIAS, V. S. Qualidade fisiológica da semente de ipê rosa (*Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo) submetidas à crioconservação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 11, p. 87-92, 2009.

