

FISIOLOGIA E CITOGENÉTICA DE SEMENTES ENVELHECIDAS DE *Araucaria angustifolia*¹

BÁRBARA PEREIRA DANTAS FONTES²
LISETE CHAMMA DAVIDE³
ANTONIO CLAUDIO DAVIDE⁴

RESUMO – As perdas de vigor e viabilidade das sementes, com a evolução do seu processo deteriorativo, estão associadas ao processo do envelhecimento e podem estar relacionadas às alterações citogenéticas que conduzem a um comprometimento de sua integridade genética. Para verificar o efeito do envelhecimento acelerado sobre as características citogenéticas de sementes de araucária (*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze), estas foram submetidas ao envelhecimento artificial pela utilização de duas temperaturas (30°C e 40°C), por quatro períodos de exposição (0, 3, 6 e 9 dias). Para o armazenamento, sementes de araucária foram acondicionadas em sacos plásticos durante 0, 30, 60 e 90 dias, a 5°C. Tanto as sementes armazenadas quanto as envelhecidas foram colocadas para germinar e as suas radículas foram

fixadas em solução de álcool etílico - ácido acético (3:1). As lâminas microscópicas foram preparadas através da técnica do esmagamento e a coloração foi feita com reativo de Schiff. Os resultados revelaram redução na porcentagem de germinação e no índice de velocidade de germinação, tanto nas sementes armazenadas quanto nas envelhecidas artificialmente. O armazenamento e o envelhecimento artificial não influenciaram significativamente a taxa de divisão celular, porém aumentaram a frequência de anomalias, como: ocorrência de micronúcleos, núcleos fragmentados e anáfases com pontes. Essas alterações indicam que a perda de viabilidade e vigor das sementes de araucária, observada nessas condições, decorrem, dentre outros fatores, de quebras nas moléculas de DNA.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Citogenética, ciclo celular, anomalia cromossômica, quebra no DNA, sementes, envelhecimento, armazenamento, araucária, *Araucaria angustifolia*.

PHYSIOLOGY AND CYTOGENETICS OF AGED SEEDS OF *Araucaria angustifolia*

ABSTRACT – The vigour and viability losses of seeds with the evolution of their deteriorative process are associated with cytogenetical alterations which lead to an endangerment of their genetical integrity. To verify the effect of aging upon the cytogenetical characteristics of seeds from *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Ktze, these ones were submitted to artificial aging through the use of two temperatures abstract - (30°C and 40°C) for four periods of exposition (0, 3, 6 and 9 days). To storage, “araucária” seeds were placed in plastic bags for 0, 30, 60 and 90 days at 5°C. Both stored and aged seeds were placed to germinate and their radicles were fixed in ethyl alcohol - acetic acid

solution (3:1). The microscopic slides were made through the smear technique and root staining was done with Schiff's reactive. The results showed reduced germination percentage and germination velocity index, both in stored and artificially aged seeds. Both storage and artificial aging did not significantly influence cell division rate but increased anomaly frequencies such as: occurrence of micronucleoli, fragmented nuclei and anaphases with bridges. These alterations denote that loss of viability and vigour of “araucaria” seeds observed in these conditions are due, among other factors, to breaks in DNA molecules.

INDEX TERMS: Cytogenetic, cell cycle, chromosomal anomaly, DNA break, seeds, aged, storage, araucaria, *Araucaria angustifolia*.

1. Parte da dissertação do primeiro autor, apresentado à UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA), como parte das exigências para obtenção do grau de Mestre em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas.
2. Engenheiro Agrônomo, MSc., DBI/UFLA, Caixa Postal 37, 37.200-000, Lavras, MG
3. Bióloga, Dra., Professora Titular do DBI/UFLA. lcdavide@ufla.br

INTRODUÇÃO

A perpetuação das espécies florestais nos ecossistemas preservados é garantida pelas estratégias de bancos de sementes, para as espécies dos estágios sucessionais iniciais (pioneiras) e pelos bancos de plântulas, para aquelas pertencentes aos estágios mais tardios, como as espécies clímax exigentes de luz e as clímax tolerantes à sombra. Quando esses ecossistemas tendem a desaparecer, como as florestas de araucária, torna-se imprescindível o domínio das técnicas de armazenamento de sementes “ex situ” como base para manutenção de bancos de germoplasmas e programas de reposição florestal. Além disso, as sementes constituem importante fonte de material genético para o melhoramento de plantas.

O armazenamento de sementes a longo prazo é tecnicamente e economicamente viável para aquelas espécies que toleram a dessecação abaixo de 10% de umidade e o armazenamento a frio, mesmo em temperaturas abaixo de zero, isto é, para aquelas espécies cujas sementes são ortodoxas (Roberts, 1973c). As sementes de araucária, no entanto, são do tipo recalcitrante (Tompsett, 1984), ou seja, suas sementes não toleram a perda de umidade abaixo de 37% e nem o armazenamento a baixa temperatura. Nesse caso, o armazenamento torna-se possível apenas a curto prazo (6-12 meses) e, mesmo assim, com perdas na viabilidade e no vigor.

As perdas de viabilidade e do vigor das sementes são causadas por alterações citológicas, como a desestruturação dos sistemas de membranas, podendo chegar a outras alterações, como aquelas de natureza metabólica, genética e fisiológica (Abdul-Baki e Anderson, 1972; Roberts, 1973a). Essas alterações ocorrem de maneira acelerada nas sementes recalcitrantes, como as de araucária.

Entre os eventos que compõem o processo de deterioração e que envolvem o material genético, estão as quebras no DNA, causando redução na capacidade de síntese de proteínas (Ghosh, Adhikary e Banerjee, 1981), danos no metabolismo de DNA (Roberts, 1973b; Cheach e Osborn, 1978; McGee, 1983; Coello e Vázquez-Ramos, 1996), além de danos cromossômicos durante o envelhecimento (Abdalla e Roberts, 1968, 1969; Roberts, 1973b; Villiers, 1974; Murata, Ross e Tsuchiya, 1981).

Com relação à araucária [*Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze], até o momento não se têm informações sobre a ocorrência de alterações citogenéticas associadas à perda de vigor e viabilidade

das sementes envelhecidas. Dessa forma, com este trabalho teve-se como objetivo avaliar o ciclo celular de sementes de araucária submetidas ao envelhecimento artificial e ao armazenamento a curto prazo.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Citogenética do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras - Minas Gerais.

O lote de sementes de araucária foi coletado na região de Curitiba - PR, situada a 49°16' de longitude W e a 25°25' de latitude S a uma altitude de 923m. As sementes foram, logo após a coleta, acondicionadas em sacos de aniagem e transportadas via rodoviária até Lavras-MG.

Para o teste de germinação, realizado para determinar a viabilidade, foram utilizadas 100 sementes por tratamento (4 repetições × 25 sementes), que foram colocadas em caixas plásticas (43×28,5×7,5cm) contendo areia esterilizada, previamente umedecida com água destilada. As sementes foram colocadas para germinar em germinador tipo Mangelsdorf®, sendo utilizadas temperatura de 25°C e luz constante. Foram consideradas germinadas as sementes que emitiram radícula, pois estas tinham que ser retiradas para análise citogenética, logo após a emissão. A avaliação do teste foi feita através de uma primeira contagem aos 7 dias de instalação do experimento e depois a cada 3 dias durante aproximadamente 50 dias. Os resultados foram expressos em porcentagem média.

O índice de velocidade de germinação (IVG), para determinar o vigor das sementes, foi realizado conjuntamente com o teste de germinação. Por causa da necessidade de retirada das pontas das raízes para realização da análise citogenética, adaptou-se o cálculo do índice de velocidade de germinação (Maguirre, 1962), considerando-se o número de sementes com emissão de radícula. Com os dados das contagens, procedeu-se ao cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG) para cada tratamento, conforme Maguirre (1962):

$IVG = G_1/N_1 + G_2/N_2 + \dots + G_n/N_n$ em que,
 G_1, G_2 e G_n = número de raízes germinadas no 1º, 2º e último dia de contagem.

N_1, N_2, N_n = número de dias que as sementes levaram para germinar, até o enésimo dia de contagem.

Para verificar o efeito do envelhecimento sobre as características citogenéticas nas sementes de araucária, as mesmas foram submetidas ao

envelhecimento artificial e ao armazenamento. O envelhecimento artificial foi realizado utilizando-se dois germinadores tipo Mangelsdorf®, com umidade relativa de aproximadamente 100% e duas combinações de temperatura (30°C e 40°C), por três períodos de exposição (3, 6 e 9 dias). Para o armazenamento, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos durante 30, 60 e 90 dias, a 5°C. Após os períodos de envelhecimento, as sementes foram colocadas para germinar em germinadores regulados a 25°C e as radículas germinadas, com aproximadamente 0,5cm de comprimento, foram fixadas em solução de etanol-ácido acético (3:1) à temperatura ambiente, por 24h e, após esse período, foram transferidas para álcool etílico 70%, onde permaneceram armazenadas a 4°C, até o uso. Para confecção das lâminas, as radículas foram lavadas em água destilada por 30 minutos e depois hidrolisadas em HCl 1N a 60°C, por 10 minutos. Após esse período, foi feita a interrupção da hidrólise com água gelada e as radículas foram coradas com reativo de Schiff, por 30 minutos. A confecção das lâminas foi feita pelo método do esmagamento, e a região meristemática foi excisada e macerada em ácido acético 45%. As lamínulas foram removidas pelo método do gelo seco e as lâminas foram montadas com resina sintética.

Foram analisadas 5 lâminas por repetição e cada tratamento continha 4 repetições, totalizando 20 lâminas, sendo avaliadas 2000 células/tratamento. Foi obtido o índice mitótico (n° total de células em divisão/ n° total de células analisadas x 100) e verificada a ocorrência de anomalias nas diferentes fases da mitose.

As fotomicrografias foram realizadas em microscópio de luz (Olympus BX50), utilizando-se filme preto e branco de ASA 100. A revelação foi feita em D-76 (Kodak) e as cópias em papel Kodabrome Print RCF3.

Para análise do experimento de envelhecimento artificial, foi realizada análise de variância em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 6 tratamentos e 4 repetições. Uma vez detectada diferença significativa entre os tratamentos, modelos de regressão múltipla foram ajustados, tendo como variáveis regressoras o número de dias de envelhecimento e a temperatura, tendo-se o cuidado de verificar se os desvios de regressão eram significativos, para testar a falta de ajustamento. Foram construídos gráficos de superfície de resposta para melhor visualização do modelo ajustado.

Para a análise do experimento de armazenamento foi realizada análise de variância em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos e 4 repetições. Para observar o efeito dos períodos, foi realizada regressão utilizando equação linear.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade das sementes, antes da aplicação dos tratamentos de envelhecimento e armazenamento, foi de 38%. Esse dado é importante, uma vez que a viabilidade das sementes dessa espécie é dependente de alta umidade, e a mesma é perdida quando sua umidade é inferior a 38% (Eira et al., 1994). Assim, podemos afirmar que, com relação ao grau de umidade, as sementes apresentavam-se em boas condições para a realização dos testes.

A análise dos dados demonstrou que houve diferença significativa entre os períodos de armazenamento utilizados (0, 30, 60 e 90 dias) sobre a germinação e o índice de velocidade de germinação das sementes de araucária (Tabela 1).

TABELA 1 - Resumo das análises de variância para os valores de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de araucária submetidas ao armazenamento a 5°C, em diferentes períodos. UFLA, Lavras, 1998.

F.V.	G.L	Quadrado Médio	
		Germinação	IVG
Período	3	53,062**	0,520**

Resíduo	12	3,812	0,020
C.V. (%)		12,156	14,975

(**) - significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

As Figuras 1 e 2 mostram uma tendência de queda linear para a porcentagem de germinação e IVG com o aumento do período de armazenamento nas sementes armazenadas a 5°C por 0, 30, 60 e 90 dias. Aos 30 dias, a germinação foi de 78%, caindo para 56% aos 60 dias e chegando com apenas 48% de germinação aos 90 dias. O IVG caiu para 1,12 aos 30;

0,89 aos 60 e 0,51 aos 90 dias de armazenamento, indicando a ocorrência de perda de vigor das sementes durante o processo de armazenamento. Isso se deve ao fato de as sementes dessa espécie serem recalcitrantes, o que leva a uma rápida perda de viabilidade, mesmo quando armazenadas a curto prazo, como observado por Eira et al. (1994).

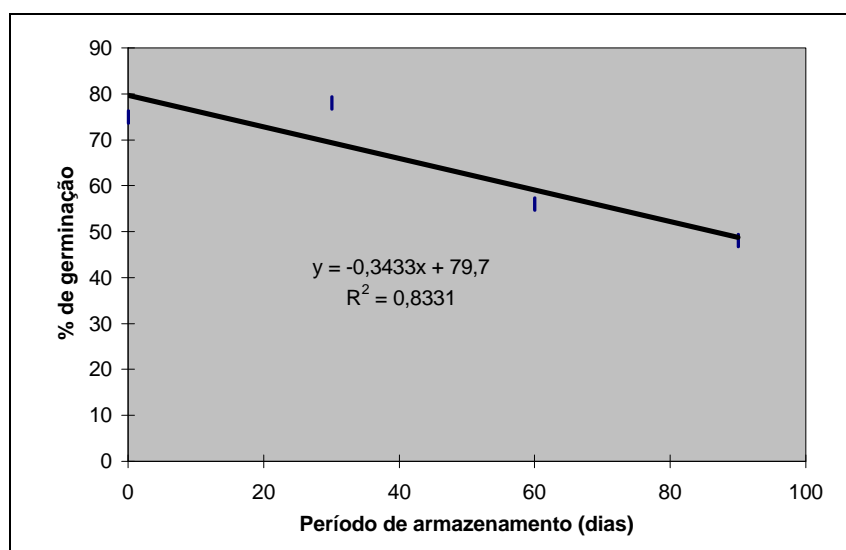


FIGURA 1 - Efeito dos períodos de armazenamento sobre a germinação de sementes de araucária. UFLA, Lavras, 1998.

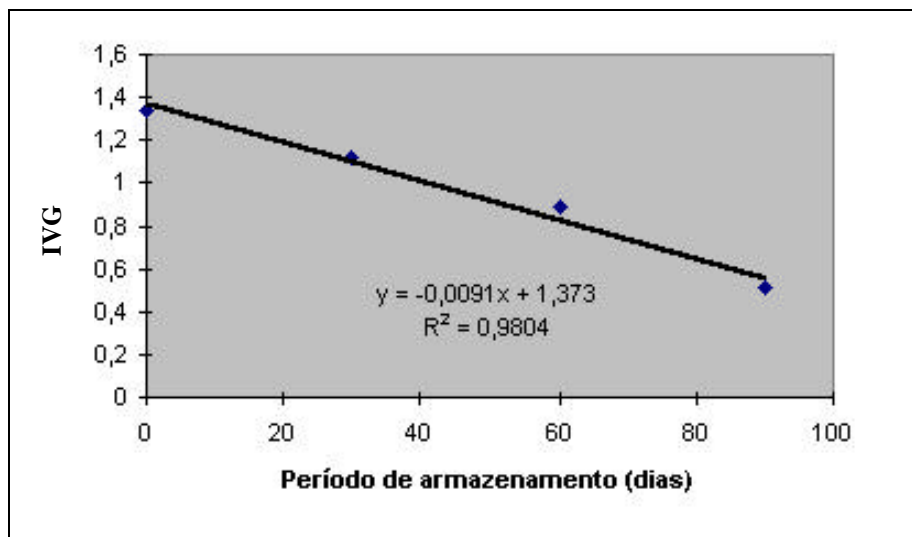


FIGURA 2 - Efeito dos períodos de armazenamento sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) em sementes de araucária. UFLA, Lavras, 1998.

Ferreira e Handro (1979) relataram que sementes de *Araucaria angustifolia* estocadas a 4°C mostraram menor germinabilidade e velocidade de germinação que sementes estocadas a temperatura ambiente (15-25°C) por diferentes tempos e com diferentes conteúdo de água.

Ramos (1987), em estudos sobre o efeito da embebição e secagem em sementes de *Araucaria angustifolia* armazenadas de 1 a 6 meses a 4°C e 96% de umidade relativa, também observou perda de viabilidade e vigor nas sementes dessa espécie durante o armazenamento.

A análise dos dados mostrou que houve diferença significativa entre os tratamentos de envelhecimento utilizados sobre a germinação e vigor das sementes de araucária (Tabela 2).

Nesta mesma tabela, observou-se que o critério de avaliação dos efeitos do envelhecimento pode ser detectado pela simples protusão da radícula, indicando que o efeito do envelhecimento pode estar atuando na germinação radicial.

O índice de velocidade de germinação (IVG) mostrou-se altamente significativo nas sementes envelhecidas, indicando uma queda de vigor relacionada ao envelhecimento das sementes. Esse dado é importante quando se deseja testar a capacidade de as sementes estabelecerem-se em condições de campo, uma vez que o IVG está diretamente relacionado com o vigor das sementes.

Verifica-se, no gráfico de superfície de resposta (Figuras 3 e 4), que a diminuição significativa na porcentagem de germinação e no vigor ocorreu principalmente quando as sementes foram envelhecidas a 40°C.

As médias (Tabela 3) demonstram que não houve grande variação quanto à porcentagem e velocidade de germinação, com o aumento do período de envelhecimento nas sementes submetidas a 30°C. A germinação foi de 73% para 3 dias de envelhecimento, 76% aos 6 dias e 77% aos 9 dias, ao passo que o IVG mostrou uma pequena variação de 1,34; 1,17; 1,27 e 1,10 para os períodos de 0, 3, 6 e 9 dias, respectivamente.

As sementes de araucária germinam numa ampla faixa de temperatura, a mínima entre 3 e 5°C, e a máxima entre 37 e 39°C, e a faixa ótima abrange se dá entre 12 e 30°C (Prage, 1964; Ferreira e Handro, 1979). Por esse motivo, foram utilizadas as temperaturas de 30°C, por ser mais adequada para estimular a germinação, e de 40°C, por ser mais indicada para promover o envelhecimento de sementes na maioria das espécies.

Os efeitos do tratamento de envelhecimento sobre a germinabilidade são claramente mostrados nas sementes submetidas a 40°C. As médias de germinação e IVG decresceram com o aumento do período de envelhecimento a essa temperatura. As sementes apresentaram queda de 75% para 53% na germinação e de 1,34 para 1,04 no IVG, aos 3 dias de

envelhecimento, caindo para 31% aos 6 dias e o IVG para 0,44, até chegar à perda total de viabilidade aos 9 dias de envelhecimento (Tabela 3). Isso indica que a perda de viabilidade foi acelerada com o aumento do

período e da temperatura, uma resposta que tem sido amplamente relatada para outras espécies (Matthews, 1981).

TABELA 2 - Resumo das análises de variância para os valores de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) de sementes de araucária submetidas ao envelhecimento a 30°C e 40°C em diferentes períodos. UFLA, Lavras, 1998.

F.V.	G.L	Quadrado Médio	
		Germinação	IVG
Tratamento	(5)	86,242**	0,429**
Regressão	3	143,344**	0,686**
Desvio	2	0,567 ^{ns}	0,044 ^{ns}
Erro	18	2,875	-
Total	23	-	-

** - significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

^{NS} - não-significativo

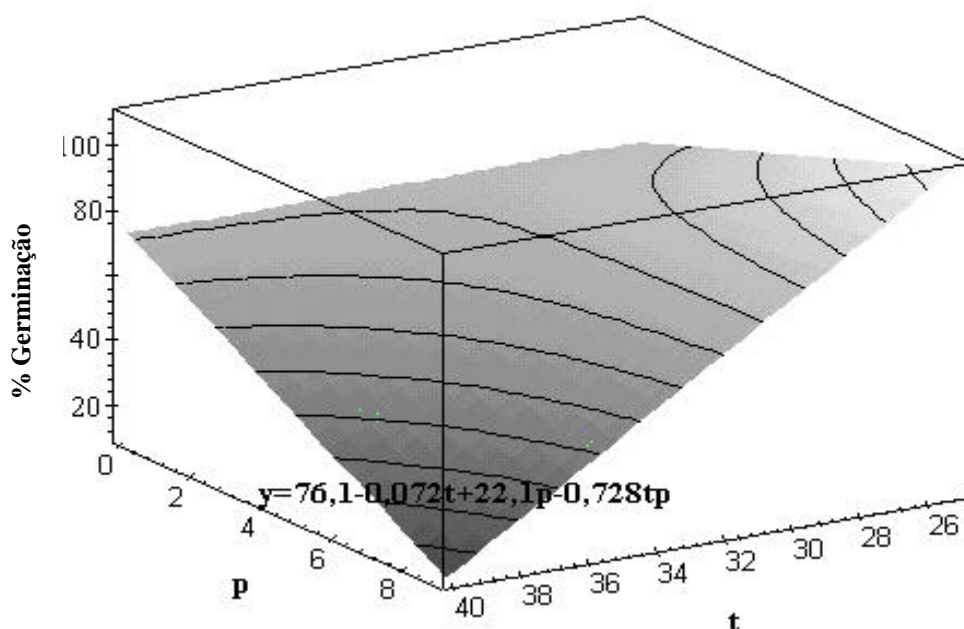


FIGURA 3 - Superfície de resposta para modelo de regressão múltipla envolvendo os períodos (p) de envelhecimento (0, 3, 6 e 9 dias), temperaturas (t) (30°C e 40°C) e germinação na ordenada. UFLA, Lavras, 1998.

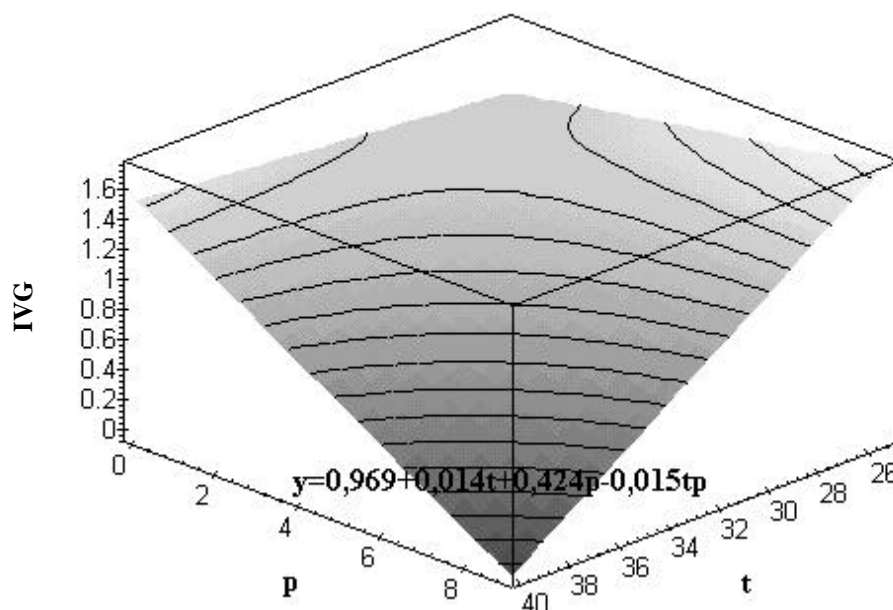


FIGURA 4 - Superfície de resposta para modelo de regressão múltipla envolvendo os períodos (p) de envelhecimento (0, 3, 6 e 9 dias), temperaturas (t) (30°C e 40°C) e o índice de velocidade de germinação (IVG) na ordenada. UFLA, Lavras, 1998.

TABELA 3 - Efeito do envelhecimento e da temperatura na porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e ocorrência de anomalias celulares em sementes de araucária.

Tratamento	Período de envelhecimento (dias)	Germinação (%)	IVG	% média de anomalias em relação à testemunha
Testemunha	0	75	1,34	100
Envelhecimento artificial a 30°C	3	73	1,17	176
	6	76	1,27	254
	9	77	1,10	480
Envelhecimento artificial a 40°C	3	53	1,04	1015
	6	31	0,44	1729
	9	0	-	-
Armazenamento a 5°C	30	78	1,12	259
	60	56	0,89	377
	90	48	0,51	563

Quando se compara a variação das médias dos tratamentos, verifica-se que a menor média de índice de velocidade de germinação ocorreu quando as sementes foram envelhecidas a 40°C, no período de 6 dias, coincidindo também com a menor porcentagem de germinação.

É interessante observar que o envelhecimento a 40°C, por 3 dias, parece simular o armazenamento por 60 dias, a 5°C. Esse dado é importante quando se deseja estimar o potencial de armazenamento de um lote de sementes. Foi observado também que a combinação de temperatura a 40°C e umidade de 100%, por um período de 6 dias, foi eficiente para promover o envelhecimento das sementes. Isso é importante, uma vez que ainda não há uma recomendação específica para promover o envelhecimento dessa espécie.

Ramos (1987) afirmou que a alta temperatura (42° ± 2°C) promoveu, em sementes de *A. angustifolia*, um decréscimo no poder e na velocidade de germinação; devido ao fato de essa temperatura estar dentro da faixa indicada para promover o envelhecimento de sementes, dependendo do período. Esse resultado concorda com Delouche e Baskin (1973) e Marcos Filho, Cícero e Silva (1987), os quais afirmaram que, em geral, as condições são satisfatórias para promover o envelhecimento artificial 90-100% UR, temperatura entre 40-45°C e período de exposição que variam de algumas horas a alguns dias, dependendo da espécie.

Embora tenham ocorrido mudanças significativas na germinação e no vigor das sementes de araucária armazenadas a 5°C por 0, 30, 60 e 90 dias não foi observada diferença significativa em relação aos índices mitóticos entre os períodos de armazenamento.

Nas sementes submetidas ao envelhecimento artificial, isto é, às temperaturas de 30°C e 40°C, períodos de 0, 3, 6 e 9 dias, também não houve efeito significativo para os tratamentos sobre o índice

mitótico, embora tenha ocorrido diminuição significativa tanto da germinação quanto do vigor das sementes submetidas ao envelhecimento a 40°C.

Apesar de não terem sido observados efeitos sobre a frequência de células em divisão, pode-se observar, tanto para o armazenamento como para o envelhecimento artificial, sobretudo a 40°C, um aumento na frequência de células anormais, o qual foi proporcional ao tempo de envelhecimento. Nas sementes armazenadas a 5°C, o número de células anormais por raiz analisada aumentou, em média, 2,6; 4,2 e 5,6 vezes nos três períodos de armazenamento, respectivamente, em relação à testemunha. O envelhecimento a 30°C com 3, 6 e 9 dias causou, respectivamente, 1,8; 2,5 e 4,8 vezes mais alterações que as observadas na testemunha. Somente as sementes mantidas por 3 e 6 dias a 40°C sobreviveram. Nestas, o número de células anormais foi, respectivamente, 10,2 e 17,3 vezes maior do que ocorreu nas sementes testemunhas. Com relação aos tipos de alterações, foram encontrados micronúcleos, núcleos fragmentados e pontes nas anáfases e nas telófases (Figura 5, 1a-d). Nas testemunhas, 71,82% das alterações foram anáfases com pontes, 25,45%, micronúcleos e

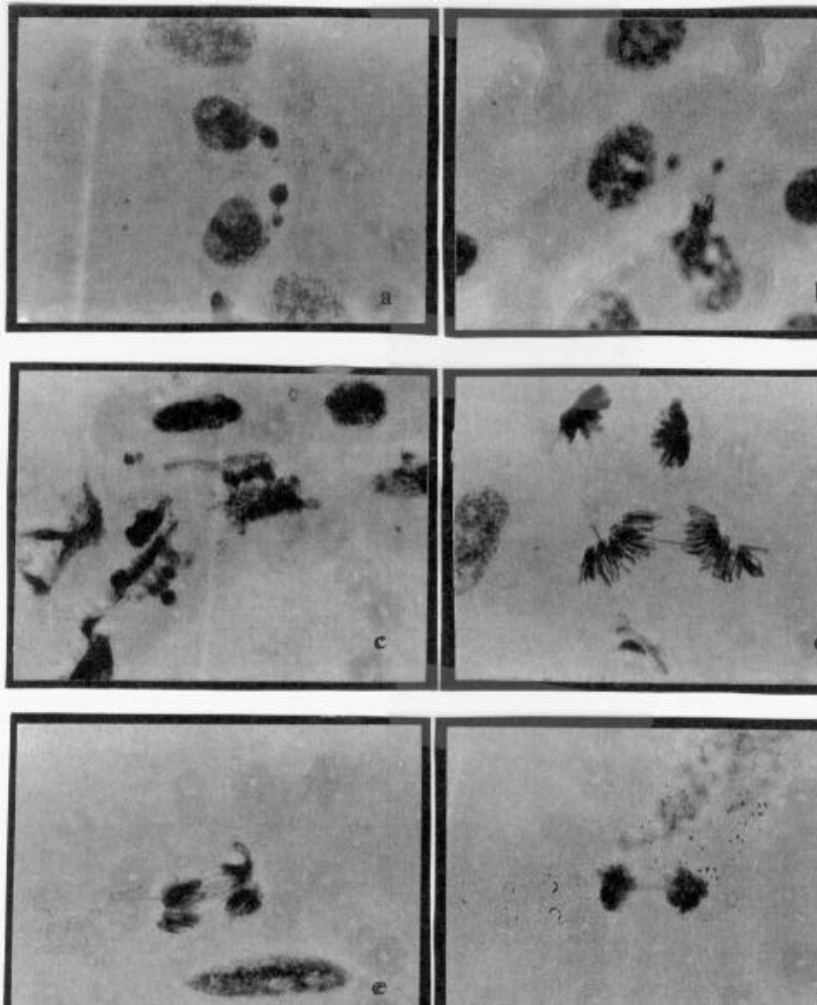


FIGURA 5 - Anomalias em células meristemáticas de raízes de araucária submetidas ao armazenamento e envelhecimento artificial. 1a e b - micronúcleos; 1c - núcleos fragmentados; 1d - anáfase com ponte; 1e - anáfase com várias pontes; 1f- telófase com ponte. Aumento total: 1000 X. UFLA, Lavras, 1998.

Comparando-se os dados de anomalias com os de porcentagem de germinação e do índice de velocidade de germinação, verifica-se uma relação entre a diminuição destes com o aumento na frequência de células anormais, tanto nas sementes armazenadas quanto nas envelhecidas a 30°C e 40°C (Tabela 2).

Murata, Ross e Tsuchiya (1981), em estudos sobre mudanças genéticas durante o envelhecimento de sementes de cevada submetidas a altas temperaturas, mostraram que a frequência de anáfases aberrantes aumentou com o aumento do tempo e condições de envelhecimento. Essas aberrações também foram relacionadas com a perda de germinabilidade, que foi acelerada com o aumento da temperatura de 21°C para 32°C e 38°C.

O aparecimento de anomalias cromossômicas, devido ao uso de altas temperaturas e umidades para a indução do envelhecimento, já havia sido observado em várias espécies (Abdalla e Roberts, 1968; Roberts, 1973b; Villiers, 1974; Murata, Ross e Tsuchiya, 1981). Segundo Abdalla e Roberts (1968), isso se deve ao acúmulo de mudanças nucleares, o que resulta em quebras cromossômicas que, em um nível crítico, tornam as sementes incapazes de germinar.

É interessante notar que as três alterações observadas neste trabalho, isto é, núcleos fragmentados, micronúcleos, pontes e fragmentos nas anáfases e telófases, são decorrentes de quebras de DNA. As pontes, fragmentos e micronúcleos são conseqüências da ocorrência de deficiências e inversões de segmentos provocados pelas quebras. Além disso, as quebras expõem o DNA à ação de exonucleases e endonucleases (Cheah e Osborn, 1978), aumentando ainda mais a perda de material genético. Também foi demonstrado que a síntese de DNA e a atividade das enzimas DNA polimerase e ligase tornam-se reduzidas em sementes de milho deterioradas, inibindo ou atrasando os mecanismos de reparo do DNA (Vázquez-Ramos et al., 1988; Vázquez, Montiel e Vázquez-Ramos, 1991; Coello e Vázquez-Ramos, 1996). Com isso, haveria uma transmissão defeituosa de informação do núcleo para o

citoplasma, levando a uma perda de vigor ou perda de viabilidade (Vázquez, Montiel e Vázquez-Ramos, 1991).

O envelhecimento teria, portanto, como uma de suas principais causas, as quebras do DNA e as alterações no metabolismo do DNA. Paralelamente a isso, haveria uma crescente redução da capacidade operacional dos mecanismos de sua restauração, especificamente a velocidade com que atua e a fidelidade com que reproduz a estrutura afetada (Warner e Price, 1989). Isso explicaria a queda da porcentagem e velocidade de germinação das sementes de araucária e o aumento de células anormais que se verifica à medida que as sementes se deterioraram.

Apesar de não ter sido constatada alteração significativa no índice mitótico, na taxa de germinação e vigor das sementes quando submetidas a 30°C, foi observado um aumento progressivo de anomalias nessas sementes. Desta forma, recomenda-se o acompanhamento do desenvolvimento das plântulas produzidas a partir dessas sementes, a fim de se avaliar as implicações dessas anomalias nas futuras plântulas.

CONCLUSÃO

Ocorreram perdas semelhantes de vigor e viabilidade das sementes de araucária submetidas ao armazenamento a 5°C e ao envelhecimento artificial a 40°C. Essas características não foram afetadas pelo envelhecimento a 30°C. Em todas as condições a que foram submetidas as sementes de araucária, não se observaram alterações na frequência de células em divisão, observando-se, no entanto, a ocorrência de um grande número de anomalias no ciclo celular, as quais foram ainda mais frequentes quando o envelhecimento foi feito a 40°C. As anomalias encontradas (micronúcleos, núcleos fragmentados e pontes e fragmentos nas anáfases e telófases) demonstraram que a perda de vigor e viabilidade das sementes de araucária envelhecidas deve-se a quebras nas moléculas de DNA.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLA, F.H.; ROBERTS, E.H. Effects of temperature, moisture, and oxygen on the induction of chromosome damage in seeds of barley, broad beans, and pea during storage. **Annals of Botany**, New York, v.32, p.119-136, 1968.
- ABDALLA, F.H., ROBERTS, E.H. The effects of temperature and, moisture, on the induction of genetic damage in seeds of barley, broad beans, and pea during storage. **Annals of Botany**, New York, v.33, p.153-167, 1969.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOSLOWSKI, T.T. **Seed Biology**. New York: Academic, 1972. v.1, 416p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: DNPV-DISEM, 1992. 365p.
- CHEACH, K. S.; OSBORN, D. DNA lesions occur with loss of viability in embryos of ageing sye seed. **Nature**, London, v.272, n.5654, p.593-599, Apr. 1978.
- COELLO, P.; VÁZQUEZ-RAMOS, M. Maize DNA polymerase 2 (an a-type enzyme) suffers mayor damage after seed deterioration. **Seed Science Research**, Wallingford, v.6, n.1, p.1-7, Mar. 1996.
- DELOUCHE, J. C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relativestorability of seeds lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.2, p.427-452, 1973.
- EIRA, M.S.; SALOMÃO, A.N.; CUNHA, R.; CARRARA, D.K.; MELLO, M.C. Efeito do teor de água sobre a germinação de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze.- Araucariaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.16, n.1, p.71-75, 1994.
- FERREIRA, A-G; HANDRO, W. Aspects of germination in *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, V.2, n.1, p. 7-13, 1979.
- GHOSH, B.; ADHIKARY, J.; BANERJEE, N.C. Changes of some metabolites in rice seeds during ageing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.9, n.1, p.468-473, 1981.
- GUTIÉRREZ, M. G.; CRUZ, F.; MORENO, J.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, V. A.; VÁZQUEZ-RAMOS, J.M. Natural and artificial seed ageing in maize: germination and DNA synthesis. **Seed Science Research**, Wallingford, v.3, n.4, p.279-285, Dec. 1993.
- MAGUIRRE, J.D. Speed of germination - aid seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.2, p.176-177, Mar./Apr. 1962.
- MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. da. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.
- MATTHEWS, S. Evolution of techniques for germination and vigor studies. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.9, p.543-51, 1981.
- McGEE, D.C. Symposiun: deterioration mechanisms in seeds. Introduction. **Phytopatology**, St. Paul, v.73, n.2, p.314-317, 1983.
- MURATA, M.; ROSS, E.E.; TSUCHIYA, T. Chromosome damage induced by artificial seed aging in barley. I. Germinability and frequency of aberrant anaphases at first mitosis. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v.23, n.2, p.267-280, 1981.
- PRAGE, P.W. Estudo de conservação do poder germinativo das sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. **Anuário Brasileiro de Economia Florestal**, Rio de Janeiro, v.16, p.41-53, 1964.
- RAMOS, A. **Deterioração de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Ktze. em envelhecimento natural e artificial e sua influência na produção de mudas**. Curitiba: UFP, 1987. (Tese - Doutorado em Engenharia Florestal).
- ROBERTS, E.H. Loss of seed viability: chromosomal and genetic aspects. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.3, p.515-27, 1973a.
- ROBERTS, E.H. Loss of viability: utrastructural and physiological aspects. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.3, p.529-545, 1973b.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, p.499-514, 1973c.
- TOMPSETT, P. B. Desiccation studies in relation to the storage of *Araucaria* seed. **Annals of Applied Botany**, Webesbourne, v.105, n.3, p.581-586, 1984.
- VÁZQUEZ, E.; MONTIEL, F.; VÁZQUEZ-RAMOS, J.M. DNA ligase activity in deteriorated maize embryo axes during germination: a model relating defects in DNA metabolism in seed to loss of

- germinability. **Seed Science Research**, Willingford, v.1, p.269-273, 1991.
- VÁZQUEZ-RAMOS, J.M.; LOPEZ, S.; VÁZQUEZ, E.; MURILLO, E. DNA integrity and DNA polymerase activity in deteriorated maize embryo axes. **Journal of Plant Physiology**, London, v.133, p.600-604, 1988.
- VILLIERS, T.A. Seed aging: chromosome stability and extended viability of seed stored fully imbibed. **Plant Physiology**, Osney Mead, v.53, p.875-878, 1974.
- WARNER, H.R., PRICE, A.R. Involvement of DNA repair in cancer and aging. **Journal of Gerontology: Biological Sciences**, v.44, n.6, p.45-54, 1989.