



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE TECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA AGRÍCOLA
COPEAG - COORD. DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENG. AGRÍCOLA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

Dissertação de Mestrado

**CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE IPÊ AMARELO
(*Tabebuia chrysotrica* (Mart. ex. DC.) Standl.) E DE
IPÊ ROSA (*Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo**

NUBÊNIA DE LIMA TRESENA

**Campina Grande
Paraíba**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA**

DISSERTAÇÃO

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PROCESSAMENTO E
ARMAZENAMENTO DE PRODUTOS AGRÍCOLAS**

**CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE IPÊ AMARELO
(*Tabebuia chrysotrica* (Mart. ex. DC.) Standl.) E DE
IPÊ ROSA (*Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo)**

Nubênia de Lima Tresena

**Campina Grande – Paraíba
JULHO - 2004**

UFCG/INSTITUTO

Nubênia de Lima Tresena

**CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE IPÊ AMARELO
(*Tabebuia caryotrica* (Mart. ex. D. C) Standl.) E SEMENTES DE IPÊ
ROSA (*Tabebuia heptaphylla* (vellozo) Toledo).**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Federal de Campina Grande, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre.

Área de concentração: Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas

Orientadores:

Prof. Dr. Mário Eduardo Rangel Moreira
Cavalcanti Mata

Prof. Dra. Maria Elita Martins Duarte

**CAMPINA GRANDE – PB
JULHO - 2004**



Publicação

Dados Internacionais de Catalogação na
(Biblioteca da Central -UFCC)

T796c

Tresena, Nubênia de Lima.

Crioconservação de sementes de ipê amarelo (*Tabebuia crysotrica* (Mart. Ex. D. C.) Standl.) e sementes de ipê rosa (*Tabebuia heptaphylla* (vellozo) Toledo. / Nubênia de Lima Tresena. -- Campina Grande, 2004.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) –
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de
Ciências e Tecnologia.

Referências.

Orientadores: Prof. Dr. Mário Eduardo Rangel Moreira
Cavalcanti Mata, Prof^a. Dr^a. Maria Elita Martins Duarte.

1. Crioconservação. 2. Ipê amarelo. 3. Ipê rosa. 4.
Conteúdo de água limite. I. Título.

CDU-631.53.02(043)



PARECER FINAL DO JULGAMENTO DA DISSERTAÇÃO DA MESTRANDA

NUBÊNIA DE LIMA TRESENA

CRIOCONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE IPÊ AMARELO (*Tabebuia chrysothrica* (Mart. Ex. D.C.) Standl) E IPÊ ROSA (*Tabebuia heptaphylla* (Vellozo) Toledo)

BANCA EXAMINADORA

PARECER

Mário Eduardo R.M. Cavalcanti Mata
Dr. Mário Eduardo R.M. Cavalcanti Mata-Orientador

APROVADO

Maria Elita Duarte Braga
Dra. Maria Elita Duarte Braga-Orientadora

APROVADO

Humberto Silva
Dr. Humberto Silva-Examinador

APROVADO

Francisco de Assis Santos e Silva
Dr. Francisco de Assis Santos e Silva-Examinador

APROVADO

JULHO - 2004

A Deus,

A meu pai Adalberto Tresena, a minha irmã Núbia Verônica de Lima Tresena e aos meus sobrinhos Filipe e Déborah por todo apoio e amor e em especial a minha mãe Maria das Neves de Lima Tresena por suas orações e compreensão acerca de minha ausência. Por sempre ter acreditado em mim e em meu potencial, sem ela este trabalho não seria possível.

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Campina Grande, que proporcionou a realização dessa pós-graduação em Engenharia Agrícola como também aos meus orientadores Dr. Mário Eduardo R. M. Cavalcanti Mata e Dra. Maria Elita Martins Duarte pelo apoio, na elaboração deste trabalho.

A todos os professores, funcionários e alunos que fazem parte do Laboratório de Armazenamento e Processamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Campina Grande

A secretária do DEAg/UFCG, na pessoa de Rivanilda Diniz Sobreiro de Almeida, por sua presteza e constante ajuda.

Aos amigos que fiz durante o desenvolvimento deste trabalho: Elvira, Maria, Ranilda, Diniz, Acácio, Joaquim, Ednalva, Bartolomeu, Nilene, Silvana, Luciano, Jeane, Marcelo, Sckaymenn, Yvson, Grangeiro, sheila entre outros em que dividimos momentos de dificuldades e de companheirismo.

Ao Centro Nacional de Pesquisa de Algodão Embrapa/CNPA-Campina Grande, PB pela realização de parte deste trabalho em especial a Mário Brito do Nascimento que nunca se negou a ajudar-me e por sua amizade sempre que precisei.

A Rogério Leandro por todo seu carinho, paciência, apoio e atenção incondicional que foram imprescindíveis, minha eterna gratidão.

A Ailton Melo de Moraes, por sua imensa generosidade e disponibilidade sempre que precisei. Ailton, meu muito obrigada.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1 Descrição Geral, Importância e Origem da Espécie.....	6
2.1.1 Ipê	6
2.1.2 Ipê amarelo	6
2.1.3 Ipê rosa	7
2.2 Qualidade Fisiológica das Sementes	8
2.2.1 Germinação e vigor.....	8
2.2.2 Conteúdo de água.....	13
2.2.3 Crioconservação	17
3 – MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Conteúdo de água limite para crioconservação	22
3.2 Teste de germinação	24
3.3 Teste de vigor	24
3.4 Crioconservação das sementes	25
3.5 Análise dos dados estatísticos	26
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 Conteúdo de água limite para crioconservação	27
4.2 Crioconservação	28
5 – CONCLUSÕES	41
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS		Página
1	Árvore de Ipê Amarelo	6
2	Árvore de Ipê Rosa	8
3	Sementes de Ipê Amarelo	21
4	Sementes de Ipê Rosa	21
5	Recipientes criogênicos	22
6	Dessecador para secagem de sementes de Ipê	23
7	Recipiente para umedecimento das sementes	24
8	Germinador para as sementes	24
9	Crioconservação de sementes em botijões criogênicos	25

LISTA DE TABELAS

TABELA		Página
1	Valores do desdobramento da interação umidade versus temperatura para variável viabilidade das duas espécies de Ipê (amarelo e rosa) crioconservadas pelo período de cinco dias	28
2	Análise de variância da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, após a crioconservação em nitrogênio líquido a -196°C , por cinco dias	29
3	Valores médios da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, após a crioconservação em nitrogênio líquido a -196°C , por cinco dias	30
4	Valores médios da germinação e vigor do desdobramento da interação Variedade versus Conteúdo de Água para a variável viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê crioconservadas por cinco dias.	32
5	Valores médios da germinação e vigor do desdobramento da interação Espécie versus Temperatura para a variável Viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê crioconservadas por cinco dias.	34
6	Valores médios da germinação e vigor segundo o desdobramento da interação Conteúdo de Água versus Temperatura para a variável Viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê crioconservadas por cinco dias	35
7	Valores médios da germinação e vigor do desdobramento da interação Período versus Temperatura de Crioconservação para a variável Viabilidade das sementes com Conteúdos de Água de 4% e 6% de b.u. para o Ipê Amarelo e o Ipê Rosa, respectivamente, submetidas a crioconservação em vapor (-170°C) e imersão (-196°C) por quatro períodos (0, 30, 60 e 90 dias)	37
8	Análise de variância da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, crioconservadas no vapor (-176°C) e na imersão (-196°C) em nitrogênio líquido durante 0, 30, 60 e 90 dias.....	38
9	Valores médios da crioconservação sobre a viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, crioconservadas no vapor (-176°C) e na imersão (-196°C) em nitrogênio líquido durante 0, 30, 60 e 90 dias	40

RESUMO

A utilização descontrolada dos recursos naturais tem provocado conseqüências negativas, comprometendo o potencial genético de muitas espécies. A região do Trópico Semi - Árido do Nordeste brasileiro apresenta um elevado índice de desertificação e em conseqüência disso várias espécies encontram-se praticamente extintas principalmente aquelas de alto valor econômico que possui madeira resistente utilizada em construções e também na medicina popular. Entre elas destaca-se o Ipê, que praticamente desapareceu dessa região. A semente de ipê apresenta uma baixa longevidade natural o que tem se constituído um grande obstáculo em programas de reflorestamento e de preservação da espécie em bancos de germoplasma. A Crioconservação consiste em submeter às sementes a temperaturas criogênicas entre -140 e -196 °C com o objetivo de preservar a sua qualidade fisiológica, por tempo indeterminado. Contudo, nem todas as espécies toleram a crioconservação, o que evidencia a necessidade de pesquisas constantes no desenvolvimento de protocolos que viabilizem as técnicas de crioconservação das espécies. Em razão disso, o presente trabalho teve como objetivo: 1) determinar o Conteúdo de Água Limite para Crioconservação (CALC) das sementes de Ipê e 2) estudar a qualidade fisiológica de duas espécies de Ipê (Rosa e Amarelo) submetidas a 2 técnicas de crioconservação (a) imersão em N_2L a -196 °C; (b) conservação em vapor do N_2L -170 °C e 4 período de armazenagem (0, 30, 60 e 90 dias). O delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado sendo que, para a determinação do CALC foi utilizado o esquema fatorial 2 (Variedades) x 5 (Conteúdos de água) com 4 repetições de 100 sementes e a crioconservação com esquema fatorial 2 (Variedades) x 2 (Temperaturas de crioconservação) x 3 (Períodos de armazenagem) com 4 repetições de 100 sementes. Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias dos fatores foram comparados entre si utilizando-se o teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Para esta finalidade utilizou-se o programa computacional ASSISTAT 6.5. De acordo com os dados obtidos concluiu-se que: (a) O Conteúdo de Água Limite para Crioconservação - CALC foi de 4% b.u. para o Ipê Amarelo e 6% b.u. para o Ipê Rosa; (b) os dois métodos de crioconservação, ou seja, tanto a imersão em nitrogênio líquido -196 °C como o vapor do nitrogênio a -176 °C se mostraram eficazes para a conservação desse material biológico.

PALAVRAS -CHAVE: crioconservação, ipê amarelo, ipê rosa, conteúdo de água limite

ABSTRACT

The uncontrolled utilization of the natural resources has provoked negative consequences, committing the genetic potential of many species. The Semi-Arid Tropic region of the Brazilian Northeast presents a big desert index and, consequently to the action of the autropia, many species are almost extinct, mainly those which have a great economic value and that possess resistant wood that is used in constructions and in the popular medicine. Among them, the Ipê, which almost disappeared from this region, stands out. Their seeds present a little longevity, what has become a big obstacle in programs of reforestation and preservation of the species in germoplasm banks. The cryoconservation consists in submitting the seeds to cryogenics temperatures between -140 and -196 °C to preserve the physiological quality of the seeds for an uncertain time. However, all the species don't tolerate the cryoconservation. This evidences the need of constant researches on the development of protocols that make possible the techniques of cryoconservation of the species. In reason of that, this work had as objectives: 1) to determine the Limit Water Content for the Cryoconservation (LWCC) of the Ipê seeds and 2) to study the physiological quality of two species of Ipê (pink and yellow), that were submitted to 2 cryoconservation techniques (a) immersion in N_2L at -196 °C; (b) conservation in N_2L vapor -170 °C and 3 storage periods (0, 30, 60 and 90 days). The used statistic delineation was entirely casual. The factorial scheme 2 (varieties) x 5 (wet content), with 4 repetitions of 100 seeds and the cryoconservation with factorial scheme 2 (varieties) x 2 (cryoconservation temperatures) x 3 (storage periods) with 4 repetitions of 100 seeds were used to the LWCC determination. The obtained data were submitted to the variance analysis and the factors averages were compared to each other. Turkey's test, at 5% of probability and the operational program ASSISTAT 6.5 were utilized. According to the obtained data, it can be concluded that: (a) The Limit Water Content, for the cryoconservation (LWCC), was 4% w.b to the yellow Ipê and 6% w.b to the pink Ipê. (b) Both methods of cryoconservation, so much the immersion in liquid nitrogen as the seeds which were submitted to the nitrogen vapor at -176 °C were effective for the conservation of this biological material.

KEY-WORDS: cryoconservation, yellow Ipê, pink Ipê, limit water content

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento da biologia de plantas nativas é de fundamental importância, uma vez que várias destas espécies são potencialmente aptas à recuperação de áreas degradadas e programas de conservação (MONTEIRO & RAMOS, 1997). Estudos sobre a reprodução de espécies vegetais são, portanto, essenciais para atender as necessidades econômicas, sociais e ambientais, fundamentais para garantir o desenvolvimento sustentado, principalmente em países como o Brasil, cuja rica biodiversidade vem sendo explorada sem manejo adequado (GOMES & FERNANDES, 2002).

Devido às devastações arbóreas, ocorridas em países em desenvolvimento, diversas entidades nacionais e internacionais criaram programas de modo a recompor as áreas desmatadas mediante as ações de reflorestamento (DANIDA, 1998; WHITMORE, 1994; MILLER et al., 1995). No entanto, de acordo com NOGUEIRA et al. (1986) essa devastação florestal para a extração de madeira, visa o atendimento das necessidades do país e da expansão da agricultura, observando um comprometimento do potencial genético de muitas espécies.

Tal fato tem sido observado no trópico semi-árido do nordeste brasileiro, que se caracteriza por apresentar áreas extremamente críticas, onde os aspectos edafo-climáticos (semi-aridez) associados com elementos da natureza política, econômica e social, contribuem para a redução do seu potencial biológico.

Segundo LOPES & MINEIRO (1995) a micro região dos cariris velhos é a que sofre o maior índice de desertificação do nosso país, pondo em risco a extinção de várias espécies vegetais, principalmente, as que possuem madeiras resistentes usadas na construção civil e na fabricação de móveis, bem como na medicina popular. Neste contexto, tem-se constatado que várias espécies nativas, praticamente desapareceram nessa região, entre as quais se destaca o Ipê (*Tabebuia, sp.*).

Para dar suporte aos processos de reflorestamento de áreas degradadas, a conservação de sementes e outros métodos *ex situ* tem sido essenciais para contribuir com a preservação da biodiversidade de muitas espécies nativas, de alto valor madeireiro, ou

outras características que estão vulneráveis nos diferentes tipos de florestas tropicais (FAO, 1989;)

A conservação da biodiversidade agrícola tem como objetivo principal resguardar o patrimônio genético atualmente existente, e assegurar para o futuro, a possibilidade de alternativas e soluções para problemas, que a agricultura possa vir a enfrentar referente às pragas, enfermidades e secas, diminuição da produtividade, entre outras. Até o momento o banco de sementes tem sido essencial para conseguir esse objetivo, entretanto, diante das dificuldades e problemas existentes para conservar essa biodiversidade, novas tecnologias devem ser investigadas para melhorar o seu funcionamento (BONNER, 1990).

De acordo com Solbrig, citado por MALUF et al. (2000) durante o ciclo de vida de uma planta, um dos estádios mais delicados é o que envolve a germinação das sementes, devendo ocorrer em certas épocas do ano. Segundo o mesmo autor, existem restrições quanto a data de semeadura e, muitas vezes é necessário o armazenamento das sementes por longos períodos. Desta forma, o estudo do armazenamento, longevidade e germinação das sementes de espécies nativas é de suma importância para implantação definitiva dos programas de recuperação de áreas com vegetação degradada ou mesmo, para dar suporte ao paisagismo urbano.

Levando-se em conta que o objetivo básico do armazenamento é manter o nível da qualidade fisiológica das sementes, devem-se considerar os fatores que afetam a longevidade durante o período de armazenamento, bem como as melhores condições para tal procedimento (PEREZ et al., 1999).

No Brasil, a predominância de temperaturas do ar elevadas e umidades relativas do ar também elevadas, são condições desfavoráveis para a manutenção da qualidade fisiológica de muitas espécies de sementes, sendo o armazenamento a baixas temperaturas uma das alternativas viáveis na conservação das sementes de espécies arbóreas.

A cada 5,5 °C de decréscimo de temperatura aumenta o dobro no potencial de armazenamento, no intervalo de 0 a 45°C. Já para a umidade o potencial de

armazenamento dobra a cada 1% de decréscimo, na faixa de 4 a 14% base úmida (DANIDA, 1998). No caso das sementes ortodoxas tem-se o exemplo das sementes do gênero *Tabebuia* onde as melhores condições de armazenamento é o clima frio e seco.

A classificação do comportamento fisiológico das sementes baseia-se em sua tolerância à desidratação e em sua resposta ao armazenamento, geralmente sob baixas temperaturas (ROBERTS, 1973). As sementes denominadas ortodoxas podem ser secas a baixos níveis de umidade sem que nenhum dano fisiológico ocorra (ELLIS et al., 1990). Essas sementes podem ser conservadas em longo prazo com baixo grau de umidade e em temperatura abaixo de zero, em bancos de germoplasma. Já as intermediárias só podem ser conservadas em médio prazo e as recalcitrantes em curto prazo (ROBERTS, 1973; ELLIS et al., 1990/91). A identificação correta da categoria a que a semente de uma espécie pertence é fundamental para o estabelecimento da metodologia de conservação a ser empregada no banco de germoplasma.

Segundo ALMEIDA & CAVALCANTI MATA (1997) embora algumas sementes sejam tolerantes a dessecação existem sementes que podem não tolerar o uso de ultra-baixas temperaturas, desta forma torna-se necessário o estudo de protocolos que definam as potencialidades dessas sementes a criopreservação. De acordo com os mesmos autores, o conteúdo de água mais adequado a criopreservação, também é um fator a ser investigado, pois existem relatos na literatura onde a criopreservação de sementes com diferentes conteúdos de água tiveram efeitos significativos. Este fato exige que, dentro dos protocolos de criopreservação de sementes, sejam realizados estudos de determinação do Conteúdo de Água Limite para a Criopreservação.

Apesar da grande quantidade de bancos genéticos existentes *ex situ* de espécies agrícolas, a existência desses bancos para espécies nativas é muito pequena (YEATMAN, 1987; FAO, 1989; TOMPSET, 1994; PRANCE & SMITH, 1997). Pois segundo ASTLEY (1991) e HEYWOOD (1992), pouco mais de 2% das espécies nativas são encontradas em bancos de sementes.

A destruição ambiental pode alcançar proporções, onde muitas espécies podem ser extintas, pondo em risco, para as gerações futuras, a diversidade da vida na Terra. Cientistas brasileiros trabalham incessantemente para resgatar a biodiversidade dos nossos

campos e matas, utilizando os Bancos Genéticos onde amostras são congeladas em pequenos frascos.

Desde a década de 80 tem-se estudado a possibilidade de se utilizar a criopreservação como alternativa aos métodos tradicionais de armazenamento de sementes. Na criopreservação, as sementes são armazenadas em temperaturas inferiores a -130°C , mediante a sua imersão em nitrogênio líquido a -196°C . Nestas condições os processos de deterioração e o seu metabolismo são detidos. Com isso assegura-se teoricamente a conservação por tempo indefinido (STANWOOD, 1984).

A criopreservação tem se mostrado como uma das alternativas mais promissoras para conservar as sementes, devido sua simplicidade e eficiência bem como, essa tecnologia, tem se verificado ser de baixo custo (Engelmann & Takagi, citados por ALMEIDA & PITA VILLAMIL, 2000)

É possível manter ou prolongar a viabilidade das sementes, quando armazenadas em condições controladas de temperatura e suprimento de oxigênio. Isto porque há redução ou interrupção dos mecanismos deletérios à semente, sobre tudo, produção de metabólitos essenciais, decomposição de macromoléculas e acúmulos de metabólitos tóxicos (STANWOOD, 1985).

As espécies do gênero *Tabebuia* produzem grandes quantidades de sementes, as quais são dispersas por anemocoria. No entanto, estas sementes, não apresentam características morfofisiológicas que lhe confirmam longevidade (KANO et al., 1978, KAGEYAMA & MARQUES, 1981).

A curta viabilidade de sementes de Ipê pode ser atribuída ao maior teor de lipídios que os compostos amiláceos e protéicos, em sua composição química (FREITAS, 1978). Segundo HARRINGTON (1972) devido à instabilidade química dos lipídios as sementes lipídicas se deterioram mais rapidamente que aquelas amiláceas ou protéicas.

Ainda em relação ao conteúdo de lipídios, VERTUCCI (1989), ressalta que sementes ricas em lipídios parecem ser mais susceptíveis a criopreservação, se bem que

não está clara a existência de uma correlação entre as sensibilidades das sementes à criopreservação com seu conteúdo de lipídios (IRIONDO et al. 1992).

A criopreservação, além de apresentar a vantagem de baixos custos de manutenção, suspende o envelhecimento do material biológico (Ospina citado por ALMEIDA & PITA VILLAMIL, 2000). Por esta razão a criopreservação é indicada para reduzir o risco da perda genética, mantendo o estado fisiológico das sementes (ENGELMANN, 2000).

Vários estudos têm mostrado a possibilidade de submeter às sementes em nitrogênio líquido sem que estas sejam danificadas (Stanwood; Pita Villamil & Perez Ruiz; Ospina citados por ALMEIDA & VILLAMIL, 2000). A literatura se refere também às sementes submetidas a zero absoluto, sem que estas sofram qualquer dano (Becquered & Lipman citado por STANWOOD, 1987). Entretanto, para se fazer da criopreservação de sementes uma técnica rotineira de laboratório, deve-se avaliar a susceptibilidade de danos que pode vir a causar nas sementes quando exposta em nitrogênio líquido (ENGELMANN, 2000 LU et al., 2000; NORMAH et al., 2000; QUAT & DANIEL, 2000; NINO et al., 2000).

Assim, com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo:

- Determinar o Conteúdo de Água Limite para Criopreservação (CALC) das sementes de ipê amarelo e ipê rosa.
- Estudar a qualidade fisiológica das 2 espécies de Ipê (amarelo e rosa) submetidas a 2 temperaturas de criopreservação e 3 períodos de armazenagem
 - Congelamento
 - Imersão N₂L a -196°C
 - No Vapor do N₂L a - 170°C
 - Período de armazenagem
 - testemunha
 - 30 dias
 - 60 dias
 - 90 dias

Após cada período de crioconservação as sementes de ipê amarelo e rosa eram descongeladas em temperatura ambiente (23 a 25°C) durante 3 horas e após esse período eram submetidas aos testes de germinação e vigor.

3.5. Análise dos dados estatísticos

Para a determinação do conteúdo limite para a crioconservação (CALC) foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Sendo para determinação do CALC o esquema fatorial utilizado foi 2 (Variedades) x 5 (Conteúdos de água) com 4 repetições de 100 sementes e na crioconservação o esquema fatorial 2 (Variedades) x 2 (Temperaturas de crioconservação) x 3 (Períodos de armazenagem) com 4 repetições de 100 sementes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação entre médias pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa computacional Assistat (SILVA, 1996).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Conteúdo de água limite para crioconservação (CALC)

A viabilidade das espécies de Ipê Amarelo e Ipê Rosa depois de submetidas aos conteúdos de água descritos e as temperaturas, ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e imersão (-196°C), encontra-se na Tabela 1. Observa-se nessa tabela que para a espécie amarela, os melhores índices de germinação e vigor (1ª contagem e matéria seca) são verificados quando seu conteúdo de água encontra-se a 4% b.u., havendo uma maior germinação dessa espécie na temperatura ambiente em relação à imersão.

Ainda em relação à viabilidade dessa espécie observa-se um decréscimo tanto na germinação como no vigor (1ª contagem e matéria seca) à medida que se aumenta o conteúdo de água, indicando que há 12% b.u. não se observou nenhuma germinação dessa espécie quando submetida à imersão (-196°C).

Segundo TELLA et al. (1976) quanto mais alto o conteúdo de água, mais alta a deterioração das sementes. O baixo conteúdo de água da semente constitui, sem dúvida, condição essencial para um bom armazenamento na maioria das sementes. Onde cada espécie possui um nível crítico de conteúdo de água na qual não ocorre germinação (BORGES et al.; 1991).

Para a espécie Rosa observa-se que sua melhor germinação e vigor (1ª contagem e matéria seca) encontram-se quando seu conteúdo de água está em torno de 8%, tanto para a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) como para a imersão em nitrogênio líquido (-196°C). Igualmente a espécie Amarela, a viabilidade da espécie Rosa é maior quando submetida à temperatura ambiente em relação à imersão. Para a espécie Rosa observa-se ainda uma igualdade estatística das porcentagens da germinação e vigor para os conteúdos de água de 4% e 12% de b.u.

Tabela 1. Valores de germinação e vigor segundo o desdobramento da interação umidade versus temperatura para variável viabilidade das duas espécies de Ipê (amarelo e rosa) criopreservadas pelo período de cinco dias.

Ipê Amarelo						
Germinação			Vigor			
			1ª Contagem		Matéria seca	
T.U.%	Ambiente	Imersão	Ambiente	Imersão	Ambiente	Imersão
4	87aA	82aB	87aA	82aB	1,68aA	1,58aB
6	43cA	43bA	43cA	43bA	0,85cA	0,86bA
8	45bA	7cB	45bA	7cB	0,86cA	0,14cB
10	46bA	6cB	46bA	6cB	0,90bA	0,12cB
12	29dA	0dB	29dA	0dB	0,58dA	0,0dB

Ipê Rosa						
Germinação			Vigor			
			1ª Contagem		Matéria seca	
T.U.%	Ambiente	Imersão	Ambiente	Imersão	Ambiente	Imersão
4	42cA	30cB	42cA	30cB	0,74cA	0,63cB
6	58bA	42bB	58bA	42bB	1,04bA	0,96bB
8	89aA	71aB	89aA	71aB	1,58aA	1,60aA
10	34dA	29cB	34dA	29cB	0,60dA	0,61cA
12	42cA	30cB	42cA	30cB	0,74cA	0,63cB

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2 Criopreservação

Na Tabela 2 encontra-se a análise de variância da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê (Amarelo e Rosa), após a criopreservação em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, por cinco dias. Nessa tabela verificam-se diferenças estatísticas para as variáveis, **espécie**, **conteúdo de água** e **temperatura** como também para as interações dessas variáveis na germinação e no vigor (primeira contagem e matéria seca). A significância de todas as interações: **espécies versus conteúdo de água**; **espécies versus temperatura**; **conteúdo de água versus temperatura**; **espécies versus conteúdo de água versus temperatura**; descreve que as variáveis atuam em conjunto, isto é, o comportamento de uma interfere no desempenho da outra.

Tabela 2. Análise de variância da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, após a crioconservação em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, por cinco dias

Fonte de variação	Grau de liberdade	Germinação F	Vigor F	
			1ª Contagem	Matéria Seca
Espécie (E)	1	1460,24**	1460,24**	188,34**
Conteúdo de Água (C.A)	4	4969,14**	4969,14**	1610,67**
Temp. (T)	1	648,99**	648,99**	34,60**
V x U	4	2670,52**	2670,52**	2813,53**
V x T	1	24,00**	24,00**	150,07**
U x T	4	1471,65**	1471,65**	2072,81**
V x U x T	4	4560,88**	4560,88**	4570,23**
Resíduo	60			
Total	79			

** F significativo ao nível de 1 % de probabilidade

Na primeira parte da Tabela 3, observa-se que a qualidade fisiológica das sementes de Ipê Rosa é superior estatisticamente em relação à do Ipê Amarelo diferindo em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey após a crioconservação em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ por um período de cinco dias.

Verifica-se também um decréscimo na germinação e no vigor das sementes de Ipê à medida que aumenta o conteúdo de água das sementes. Segundo BARBEDO & BILIA (1998) o conteúdo elevado de água pode ser prejudicial à conservação das sementes, provocando reações degenerativas e o surgimento de microorganismos.

Sementes de *Pasiflora*, *P. edulis* e *P. ligularis* não puderam resistir à imersão em nitrogênio líquido (N_2L) com altos teores de umidade (15%) e que os melhores valores de viabilidade obtidos foram para as sementes crioconservadas a 8% de b.u. (Ospina citado por ALMEIDA & PITA VILLAMIL, 2000).

STANWOOD (1987) descreve que sementes de *Sesamum indicum* apresentam tolerância ao nitrogênio quando submetidas a um baixo conteúdo de água e que danos provocados nas sementes durante a crioconservação podem ocorrer com alto conteúdo de água causando danos às sementes com perda parcial ou total. Este fato é ressaltado por Chandel et al., citado por DINIZ (1999) onde verificaram que sementes recalitrantes de chá, cacau e jaca foram crioconservadas com os conteúdos de água de 24, 35, 31% respectivamente. Os resultados indicaram que a esses níveis de conteúdo de água as

sementes não toleram o congelamento em nitrogênio (N₂L) a -196°C. Algum caso de sobrevivência foi observado quando sementes de chá e jaca foram crioconservadas com um conteúdo de água mais baixo (14 %b.u.).

Pode-se observar ainda, na Tabela 3, que o Conteúdo de Água Limite para Crioconservação (CALC) deste material biológico encontra-se em torno de 4% b.u. Ocorrência semelhante foi observada em sementes de caju (*Anacardium occidentale*) onde a umidade de 4,3% proporcionou uma germinação de 100% (MWASHA et al., 1997).

Tabela 3. Valores médios da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, após a crioconservação em nitrogênio líquido a -196 °C, por cinco dias

Fatores	Germinação (%)	Vigor	
		1ª Contagem (%)	Mat. Seca (g)
Espécie (E)			
Ipê amarelo	38,90 b	38,90 b	0,85 b
Ipê Rosa	46,70 a	46,70 a	0,91 a
DMS	0,40	0,40	0,01
Conteúdo de Água (C.A)			
4	57,50 a	57,50 a	1,07 a
6	53,50 b	53,50 b	0,98 b
8	45,75 c	45,75 c	0,88 c
10	40,75 d	40,75 d	0,89 c
12	16,50 e	16,50 e	0,59 d
DMS	0,90	0,90	0,01
Temperatura (°C)			
Ambiente	45,40 a	45,40 a	0,87 b
Imersão no NL	40,20 b	40,20 b	0,89 a
DMS	0,40	0,40	0,01

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Ainda na Tabela 3, observou-se uma diminuição significativa da germinação e vigor (1ª contagem) das sementes de ipê após serem crioconservadas em nitrogênio líquido em relação à temperatura ambiente (25°C) exceto para o teste de vigor feito pela medição da matéria seca.

Este episódio foi também constatado em sementes de limão-cravo que apresentaram um declínio na viabilidade após serem crioconservadas e em sementes de

míxiriqueira do rio (*Citrus reticulata Blanco*) que perderam sua viabilidade com as tentativas de crioconservação independente dos seus conteúdos de água (ALTHOFF, 1998). Já as sementes de tangerina Cleópatra com o conteúdo de água intermediário (sementes que toleram dessecação com conteúdos de água em torno de 10 a 12,5% e tem viabilidade reduzida para conteúdos de água inferiores) apresentam tolerância a crioconservação.

Na Tabela 4, referente à interação **espécie** versus **conteúdo de água**, pôde-se constatar que a qualidade fisiológica da espécie de Ipê Amarelo é superior a do Ipê Rosa quando seu conteúdo de água se encontra em 4% de b.u., já o Ipê Rosa tem uma melhor germinação e vigor (primeira contagem) quando crioconservada com um conteúdo de água de 6% b.u.

Essa ocorrência também foi observada em sementes de milho (*Zea mays L.*) da variedade CMS-54 que, ao ser crioconservadas com conteúdo de água de 6%, tiveram um poder germinativo superior a 83% (DINIZ, 1999).

MEDEIROS & CAVALLARI (1992) trabalhando com sementes de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl) verificaram após o dessecação em câmara de secagem a 25°C e 10-15% U.R., por períodos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas acondicionados em embalagens herméticas que não houve redução na germinação quando as sementes foram crioconservadas com um conteúdo de água de 6% b.u.

Na mesma tabela observa-se que a maior produção de matéria seca para o Ipê Rosa é verificada nas plântulas provenientes de sementes crioconservadas com um conteúdo de água de 10%. Esta indicação também foi feita para sementes de café (*Coffea arabica L.*) onde o conteúdo de água de 10% b.u. foi identificado por GENTIL (2001) como o mais favorável à manutenção da viabilidade. Indicando que a conservação das sementes de café em relação ao conteúdo de água e a longevidade é, possivelmente, similar à verificada em sementes ortodoxas.

Nos valores médios do desdobramento da interação **espécie** versus **temperatura** para a viabilidade das sementes (Tabela 5), mostra que a espécie de Ipê Rosa apresentou uma maior viabilidade em relação ao Ipê Amarelo, quando submetida às duas

temperaturas de 25 °C e -196°C; tanto para germinação como para o vigor (primeira contagem e matéria seca), com exceção na imersão em nitrogênio líquido, visto que neste parâmetro as médias obtidas para determinar a viabilidade não diferiram a nível estatístico.

Tabela 4. Valores médios de germinação e vigor segundo o desdobramento da interação **variedade** versus **conteúdo de água** para a variável **viabilidade** das sementes de duas espécies de Ipê criopreservadas por cinco dias.

Germinação (%)						
Variedade	Conteúdo de água (% b.u.)					Média
	(4)	(6)	(8)	(10)	(12)	
Ipê amarelo	65,00 aA	45,50 bC	55,50 aB	25,00 aB	3,50 bE	38,90
Ipê Rosa	50,00 bC	61,50 aA	36,00 bD	56,50 aB	29,50 aE	46,70
Média	57,50	53,50	45,75	40,75	16,50	42,80
DMS/colunas = 0,91 (letras minúsculas) DMS/linhas = 1,28 (letras maiúsculas)						
Vigor da 1ª contagem (%)						
Variedade	Conteúdo de água (% b.u.)					Média
	(4)	(6)	(8)	(10)	(12)	
Ipê amarelo	65,00 aA	45,50 bC	55,50 aB	55,00 aB	3,50 bE	38,90
Ipê Rosa	50,00 bC	61,50 aA	36,00 bD	56,50 aB	29,50 aE	46,70
Média	57,50	53,50	45,75	40,75	16,50	42,80
DMS/colunas = 0,91 (letras minúsculas) DMS/linhas = 1,28 (letras maiúsculas)						
Matéria seca (g)						
Variedade	Conteúdo de água (% b.u.)					Média
	(4)	(6)	(8)	(10)	(12)	
Ipê amar.	1,26 aA	0,88 bC	1,08 aB	0,50 bE	0,56 bD	0,86
Ipê Rosa	0,89 bC	1,09 aB	0,68 bD	1,28 aA	0,62 aE	0,91
Média	1,08	0,99	0,88	0,89	0,59	0,89
DMS/colunas = 0,01 (letras minúsculas) DMS/linhas = 0,02 (letras maiúsculas)						

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A variedade Ipê Rosa quando submetida à temperatura ambiente de 25°C revelou um maior índice de germinação em relação à imersão em nitrogênio líquido a -196°C, tanto na germinação como no vigor da 1ª contagem, como também para matéria seca.

Algumas sementes de leguminosas no trabalho intitulado: "Effecto de la criopreservación sobre la germinación de semillas de leguminosas" ALMEIDA & PITA VILLAMIL (2000) tiveram uma queda na viabilidade (vigor) após a imersão em nitrogênio líquido. Essa perda observada em algumas amostras pode ser devido às diferenças da composição química e/ou sensibilidade dessas sementes a danos físicos. Este aspecto em alguns casos tem-se mostrado como determinantes para a criopreservação das sementes (STANWOOD, 1980, 1984, 1985; STANWOOD & BASS, 1981; STANWOOD & ROSS, 1979).

Pode-se observar ainda na Tabela 5, que o vigor na primeira contagem das sementes de Ipê Amarelo foi significativamente maior na temperatura ambiente quando comparado com as sementes imersas em nitrogênio líquido. No entanto, para essas mesmas sementes quando se analisa o vigor feito pelo peso da matéria seca, constata-se que as sementes criopreservadas a -196°C são significativamente maiores que as armazenadas a 25°C .

Esse comportamento inverso em relação à temperatura foi também observado por MORAES (2001), trabalhando com sementes de mamona (*Ricinus communis*), destacando que a variedade pernambucana teve um percentual de germinação significativamente menor quando submetida ao vapor de nitrogênio líquido (-170°C) em relação a sua imersão em nitrogênio líquido (N_2L). Já a variedade nordestina teve o mesmo comportamento tanto na criopreservação a -170°C , quanto à -196°C . No que se diz respeito à matéria seca houve uma variação dos resultados onde a variedade nordestina se criopreservou melhor no vapor do nitrogênio a temperatura de -170°C e a pernambucana quando foi submetida ao nitrogênio líquido a -196°C .

A viabilidade das variedades de Ipê Amarelo e Rosa depois de submetidas aos conteúdos de água já descritos encontram-se na Tabela 6. Observa-se nessa tabela que tanto a germinação quanto no vigor (primeira contagem e matéria seca) das sementes o Conteúdo de Água Limite para a Criopreservação (CALC) é de 6% de b.u. para a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e de 8% para as sementes imersas em nitrogênio líquido (-196°C).

Esta indicação assemelha-se em parte com os resultados encontrados por RAMOS (1980) trabalhando com sementes de *J. micrantha* também da família *Bignoniaceae* cujo conteúdo de água de 8% b.u. mostrou-se ideal para a conservação dessa espécie. Já para as sementes de *Jacaranda acutifolia* da mesma família o melhor conteúdo de água para a sua conservação foi de 7,4% b.u.

Tabela 5. Valores médios de germinação e vigor segundo o desdobramento da interação espécie versus temperatura para a variável viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê criopreservadas por cinco dias.

Germinação (%)						
Espécie	Temperatura (°C)		Média	Vigor		
	± 25	-196		1ª Contagem (%)		Média
	± 25 °C	- 196 °C		± 25 °C	- 196 °C	
Ipê amar.	42,00 bA	35,80 bB	38,90	0,82 bB	0,89 aA	0,86
Ipê Rosa	48,80 aA	44,60 aB	46,70	0,92 aA	0,90 aB	0,91
Média	45,40	40,20	42,80	0,87	0,90	0,89
DMS/colunas = 0,57 (letras minúsculas)			DMS/linhas = 0,57 (letras maiúsculas)			
DMS/colunas = 0,57 (letras minúsculas)						
DMS/linhas = 0,57 (letras maiúsculas)						

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados que em parte diferem dos obtidos por MYASAKI & CÂNDIDO (1978) e KAGEYAMA & MARQUES (1981) onde afirmam que o conteúdo de água das sementes de ipê deve ser mantido entre a faixa 9-11% b.u. para que não haja perda na porcentagem da germinação.

CUNHA et al. (1992) concluíram que sementes do gênero *Tabebuia sp.* podem ser conservadas no freezer (-20°C) com o conteúdo de água de 9,8% b.u., por um longo período.

Segundo MORAES (2001) os conteúdos de água que se encontram na faixa de 4 a 8% b.u. devem ser os preferidos para a crioarmazenagem de sementes de mamona (*Ricinus Communis*) por se tratar de uma espécie rica em óleo.

Tabela 6. Valores médios de germinação e vigor segundo o desdobramento da interação **Umidade versus temperatura** para a variável **viabilidade** das sementes de duas espécies de Ipê crioconservadas por cinco dias.

Germinação (%)			
Umid. (%)	Temperatura (°C)		Média
	± 25	-196	
4	64,50 bA	50,50 bB	57,50
6	67,00 aA	40,00 cB	53,50
8	35,50 dB	56,00 aA	45,75
10	42,50 cA	39,00 cB	40,75
12	17,50 cA	15,50 dB	16,50
Média	45,40	40,20	42,80
DMS/colunas = 1,28 (letras minúsculas)		DMS/linhas = 0,91 (letras maiúsculas)	
1ª contagem (%)			
Umid. (%)	Temperatura (°C)		Média
	± 25	-196	
4	64,50 bA	50,50 bB	57,50
6	67,00 aA	40,00 cB	53,50
8	35,50 dB	56,00 aA	45,75
10	42,50 cA	39,00 cB	40,75
12	17,50 cA	15,50 dB	16,50
Média	45,40	40,20	42,80
DMS/colunas = 1,28 (letras minúsculas)		DMS/linhas = 0,91 (letras maiúsculas)	
Matéria seca (g)			
Umid. (%)	Temperatura (°C)		Média
	± 25	-196	
4	1,21 aA	0,94 bB	1,08
6	1,22 aA	0,75 eB	0,99
8	0,66 cB	1,10 aA	0,88
10	0,91 bA	0,87 cB	0,89
12	0,36 dB	0,81 dA	0,59
Média	0,87	0,89	0,88
DMS/colunas = 0,02 (letras minúsculas)		DMS/linhas = 0,01 (letras maiúsculas)	

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Para ARAGÃO et al. S/D, o conteúdo de água ideal para o armazenamento de sementes de feijão situa-se em torno de 13% b.u. DINIZ (1999) citando Chaudhury & Chandel, relatam que crioconservaram com sucesso sementes de Cardamon (*Elettaria cardamomum Maton*) com conteúdo de água entre 7,7 e 14,3% b.u. As sementes tiveram índices de germinação superior a 80% após um ano em vapor de nitrogênio líquido (-170°C). Segundo o mesmo autor o conteúdo de água que melhor crioconservou as sementes de milho (BR-451, BR-201, BR-2421 e CMS) foi o de 9% b.u..

Na Tabela 7 encontram-se os valores de germinação e vigor (1ª contagem e matéria seca) das sementes de Ipê Amarelo e Ipê Rosa crioconservadas no vapor de nitrogênio líquido a -170°C e imersão no nitrogênio líquido a -196°C. Os dados da interação **período** versus **temperatura de crioconservação** indicam que tanto a germinação como o vigor se mantiveram inalterados durante o período de crioconservação (0, 30, 60 e 90 dias).

Na mesma tabela observa-se que as sementes de Ipê Rosa apresentaram uma melhor germinação e vigor (1ª contagem e matéria seca) em relação às sementes de Ipê Amarelo.

Tabela 7. Valores médios de germinação e vigor segundo o desdobramento da interação período versus temperatura de crioconservação para a variável viabilidade das sementes com teores de umidade de 4% e 6% de b.u. para o Ipê Amarelo e Ipê Rosa respectivamente submetidas à crioconservação em vapor (-170°C) e imersão (-96°C) por quatro períodos (0,30,60 e 90 dias)

Germinação				
Período de armazenagem	Ipê Amarelo		Ipê Rosa	
	-170°C	-196°C	-176°C	-196°C
0	88aA	88aA	92aA	92aA
30	89aA	87aA	93aA	93aA
60	87aA	87aA	92aA	92aA
90	88aA	88aA	93aA	92aA

Vigor - 1ª Contagem				
Período de armazenagem	Ipê Amarelo		Ipê Rosa	
	-170°C	-196°C	-176°C	-196°C
Testemunha	88aA	88aA	92aA	92aA
30	89aA	87aA	93aA	93aA
60	87aA	87aA	92aA	92aA
90	88aA	88aA	93aA	92aA

Vigor (Matéria Seca)				
Período de armazenagem	Ipê Amarelo		Ipê Rosa	
	-170°C	-196°C	-176°C	-196°C
Testemunha	1,66aA	1,66aA	1,76aA	1,76aA
30	1,68aA	1,64aA	1,78aA	1,78aA
60	1,64aA	1,64aA	1,76aA	1,76aA
90	1,66aA	1,67aA	1,78aA	1,76aA

As médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Obs.: Os valores atribuídos a testemunha constam na tabela mas, não foram submetidos a crioconservação.

Na Tabela 8 encontra-se a análise de variância dos fatores **espécies**, **temperatura**, e **período de armazenamento**, bem como as interações entre esses fatores. Verifica-se nessa tabela, que não houve diferença estatística para o fator **temperatura** e para todas as interações entre os fatores.

Tabela 8. Análise de variância da viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, crioconservadas no vapor (-176°C) e na imersão (-196°C) em nitrogênio líquido durante 0, 30, 60 e 90 dias.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Germinação F	Vigor F	
			1ª Contagem	Mat. Seca
Espécies (E)	1	513,37**	513,37**	29594,23**
Temperaturas (T)	1	3,37 ^{ns}	3,37 ^{ns}	2,47 ^{ns}
Período de arm. (P)	3	4,37**	4,37**	3,23*
E x T	1	0,37 ^{ns}	0,37 ^{ns}	0,90 ^{ns}
E x P	3	1,37 ^{ns}	1,37 ^{ns}	1,56 ^{ns}
T x P	3	1,37 ^{ns}	1,37 ^{ns}	1,80 ^{ns}
E x T x P	3	2,37 ^{ns}	2,37 ^{ns}	2,54 ^{ns}
Resíduo	48			
Total	63			

** F significativo ao nível de 1% de probabilidade

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade

^{ns} F não significativo.

Na Tabela 9, os ensaios de viabilidade das sementes crioarmazenadas por 30, 60 e 90 dias, estabelecido pelo teste de germinação e vigor (dado pela primeira contagem do teste de germinação e, também, pela determinação da matéria seca); observa-se que a viabilidade das sementes de Ipê Rosa em relação às de Ipê Amarelo, é significativamente superior ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Exceção se faz, para o vigor, feito pela quantificação da matéria seca, onde a viabilidade das sementes de Ipê Amarelo é significativamente maior que do Ipê Rosa.

Em relação às temperaturas utilizadas, não houve diferença estatística entre elas (vapor e imersão em nitrogênio líquido) e nem efeito da crioconservação sobre o material biológico estudado. Provando que essas duas temperaturas de crioconservação não diferem quanto à viabilidade e o acúmulo de matéria seca das duas variedades de Ipê estudadas.

Esse comportamento indica que tanto a crioconservação a -196°C (imersão) como a -170°C (vapor) se mostram adequadas para o armazenamento do material biológico estudado.

Este fato também foi observado por Pita Villamil citado por LACERDA (2001) onde afirma que sementes que permitem serem crioarmazenadas a temperatura de -196°C, essas, podem ter uma longevidade de armazenamento considerada indefinida, pois as

temperaturas abaixo de -130°C a atividade metabólica das sementes é mínima e pode ser considerada desprezível.

Esta indicação é ressaltada por Touchel & Dixon citados por MORAES (2001) onde armazenaram, em nitrogênio líquido, espécies de sementes nativas australianas, em que 40% se compunham de espécies raras ameaçadas de extinção no Oeste da Austrália e verificaram que, após a criopreservação, as propriedades físicas e químicas das sementes foram preservadas.

Para o fator período de armazenagem verifica-se que embora existam diferenças entre o período de 0 a 90 dias, observa-se que entre o período inicial e o período final essas diferenças não existem. Fato semelhante ocorreu com as sementes de mamona (*Ricinus communis*) onde obtiveram uma maior germinação aos 30 dias, retornando esta ao nível inicial aos 60 dias de criopreservação (MORAES, 2001). Segundo o mesmo autor, o fato de existir respostas variadas para a imersão em nitrogênio líquido deve-se provavelmente a adaptação das sementes a criopreservação.

Vários autores comparando o comportamento das sementes de *Tabebuia* em diferentes ambientes, concluíram que temperaturas baixas ($3-5^{\circ}\text{C}$) determinaram melhor a conservação das sementes (KANO et al., 1978; SOUZA et al., 1979; KAGEYAMA & MARQUES, 1981; OHASHI et al., 1987; FIGLIOLIA, 1988).

MEDEIROS & CAVALLARI (1992) relatam que Stanwood & Ross submetendo sementes de hortaliças e flores à imersão em nitrogênio líquido por 7, 30, 180 dias, também verificaram que não ocorreu efeito prejudicial à germinação e ao vigor das sementes e apontaram o nitrogênio líquido como meio promissor à conservação das sementes em longo prazo.

IRIONDO et al. (1992) analisaram a influência da conservação em nitrogênio líquido em diversas espécies de plantas silvestres com conteúdos de água e tempo de exposição diferente. Os resultados não indicaram diferenças significativas na maioria das espécies em relação ao percentual de germinação, tanto nas amostras das sementes com conteúdos de água diferentes, como também nas amostras de sementes com diferentes tempos de exposição em nitrogênio líquido.

Sementes de orquídeas de várias espécies foram armazenadas por períodos de 30, 180 e 360 dias nas temperaturas de 25, 5, -20, -196°C. Aos 180 dias ou 360 dias dependendo da espécie todas as sementes armazenadas na temperatura ambiente (25°C) haviam perdido sua viabilidade. No entanto, de um modo geral, o armazenamento a 5°C e a -196°C para a maioria das espécies manteve altos percentuais de germinação (acima de 60%) pelo período um ano (SILVA et al., 2002)

Os resultados obtidos nas sementes de *Cecropia glaziovii* (Cecropiaceae), indicam a tolerância dessas sementes por longos períodos de imersão em N₂L, assim como a tolerância ao descongelamento lento, em temperatura ambiente, o que torna prática a metodologia de armazenamento através da crioconservação.

Desse modo a crioconservação das sementes é uma técnica promissora de conservação do germoplasma por tempo indefinido (Ospina citado por ALMEIDA & PITA VILLAMIL, 2000).

Tabela 9. Valores médios da crioconservação sobre a viabilidade das sementes de duas espécies de Ipê, crioconservadas no vapor (-176°C) e na imersão (-196°C) em nitrogênio líquido durante 0, 30, 60 e 90 dias.

Fatores	Germinação (%)	Vigor	
		1ª Contagem (%)	Mat. Seca (g)
Espécie			
Ipê amarelo	87,75 b	87,75 b	1,65a
Ipê Rosa	92,37a	92,37a	0,88 b
DMS	0,41	0,41	0,009
Temperaturas			
-176°C	90,25a	90,25a	1,27a
-196°C	89,87a	89,87a	1,26a
DMS	0,41	0,41	0,009
Período de armazen. (dias)			
Testemunha	90,00a b	90,00a b	1,27a b
30	90,50a	90,50a	1,27a
60	89,50 b	89,50 b	1,25 b
90	90,25a b	90,25a b	1,27a b
DMS	0,76	0,76	0,01

As médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade

5. CONCLUSÕES

Diante dos resultados pode-se concluir que:

- Conteúdo de Água Limite para Crioconservação (C.A.L.C.) é de 4 % b.u. para a semente de Ipê Amarelo e de 6% b.u. para a semente de Ipê Rosa;
- As sementes de Ipê Rosa apresentaram uma maior viabilidade em relação às de Ipê Amarelo, quando crioconservadas em nitrogênio líquido ($- 196^{\circ} \text{C}$), durante 5 dias.
- As sementes de Ipê Amarelo e de Ipê Rosa, para o período de determinação do conteúdo de água limite, obtiveram um percentual maior de germinação e vigor (1ª contagem e matéria seca) à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ} \text{C}$) quando comparadas com as crioconservadas em nitrogênio líquido ($- 196^{\circ} \text{C}$) durante o período de cinco dias;
- Existe um decréscimo da germinação e do vigor (1ª contagem e matéria seca) das sementes de ipê amarelo, na medida em que se aumenta o conteúdo de água de 4 para 12% b.u.; tanto para as sementes armazenadas por 5 dias à temperatura ambiente quanto para as crioconservadas em nitrogênio líquido a -196°C ;
- Existe um decréscimo da germinação e do vigor (1ª contagem e matéria seca) das sementes de ipê rosa na medida em que se aumenta o conteúdo de água de 6 para 12% b.u.; tanto para as sementes armazenadas por 5 dias a temperatura ambiente, quanto para as crioconservadas em nitrogênio líquido a -196°C .
- As sementes de Ipê Rosa e de Ipê Amarelo podem ser crioconservadas com sucesso tanto no vapor de nitrogênio líquido à temperatura de $- 170^{\circ} \text{C}$ como na imersão em nitrogênio líquido a temperatura de -196°C .

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In : KOZLOWSKI, T.T. **Seed Biology**. ed. New York: Academic Press, v.2, p.283-315, 1972.

AHRENS, D.C.; BARROS, A .S. R.; VILLELA, F.A; LIMA, D. Qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) sob condições de secagem intermitente. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.55, n.2, maio/agosto. 1998.

ALMEIDA, F. de A. C.; PITA VILLAMIL, J.M.; GOUVEIA, J.P.G. de. Efeito de la crioconservación sobre la germinación de semillas de leguminosas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.2, n.1, p.67-71, 2000.

ALMEIDA. F. A. C.; CAVALCANTI MATA, M.E.R.M. **Conservação dos recursos fitogenéticos da região semi-árida através da crioconservação**. Campina Grande, PB: Universidade Federal da Paraíba, 1997, 37p. (Projeto de Pesquisa).

ALTHOFF, M.A. **Criopreservação de sementes de mamão, maracujá, citros e café**. 1998, 120 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade de Brasília, Brasília,1998.

ARAGÃO, C.A.; DANTAS, C.C.; NAKAGAWA, J. **Influência do armazenamento em sementes de feijão submetidas ao processo de hidratação – secagem**. Botucatu – UNESP – Departamento de Produção Vegetal. S/D. Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05

ÁRVORES. Disponível em: <http://www.unicamp.br/prefeitura/pqeco/imagens/ficha/414.html>. Acesso em: 22/04/2003

ÁRVORES BRASILEIRAS / **Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Disponível em: <http://www.unesp.br/xicic/instuçõesIMP.htm>. Acesso em: 21/02/04.

ASTLEY, D. Methods and the problems of exploration and field collecting. In: **Genetic conservation of world crop plant**. (Eds: Hawkes, J.G.). London: Academic Press Harcourt, p. 11-22, 1991. . Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05

BARBEDO, C.J.; BILIA, D.A.C. Evolution of research on recalcitrant seeds. **Scientia Agrícola**, São Paulo, v. 55, n. especial, p.45-48, 1998.

BASS, L.N. Controlled atmosphere and seed storage. **Seed Science and Technology**, Norway, v.1, n.2, p.463-492, 1973.

BATISTA, Rogaciano C. **Cultivo *in vitro* e criopreservação de sementes de gergelim (*Sesamum indicum L.*)**. 2000. 132 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande-PB.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination**, New York, Springer-Vrlog, v.1, 306p., 1994

BONNER, F.T. Tropical forest seeds: biology, quality and technology. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2, 1990, São Paulo, SP **Anais....** São Paulo: Instituto Florestal de São Paulo, 1990. p.263-274.

BORGES, E.E.L.; VASCONCELOS, P.C.S.; CARVALHO, D.V.; BORGES, R.C.G. Estudos preliminares sobre o efeito do estresse hídrico na germinação de sementes de Jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra*) e Cedro-Rosa (*Cedrella fissilis*). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.13, n.2, p.115-118, 1991.

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: Aguiar, I. B de F.; PIÑA-RODRIGUES, C. M.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES. p.83-135. 1993.

BRAGA SOBRINHO, R. **Aspectos tecnológicos da produção de sementes**. Campina Grande: EMBRAPA – CNPA, 1982, 91p.

BRASIL, Ministério de Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília. 1992. 365p.

CALLIARI, M.F.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de ervilha (*Pisum sativum* L.) **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v.12, n.3, p.52-75, 1990.

CARVALHO, N.M. de. NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargil, 1979. 424p.

CAVALCANTI MATA, M.E.R.M.; BRAGA, M.E.D.; FIGUEREDO, R.M.F.; QUEIROZ, A.J.de M. Perda da Qualidade Fisiológica de Sementes de Arroz (*Oriza sativa* L.) armazenadas sobre condições controladas. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.24, n.1, p.10-25, 1999.

CHANDEL, K.P.S.; CHANDURY, R.; RADHAMANI, J.; MALIK, S.K. Desiccation and freezing sensitivity in recalcitrant seed of tea, cocoa and jackfruit. **Annals of botany**, England, v.76, n.5, p.443-450, 1995.

CIRNE, Luíza Eugenia da M. R. **Estudo sobre as alterações de algumas características químicas e fisiológicas do feijão mulatinho (*Phaseolus vulgaris* L.) em função de armazenagens alternativas a nível de pequeno produtor**. 1992. 104 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande-PB.

CLUBE DA SEMENTE. Disponível em: <http://www.clubedasemente.org.br/ipe.html>. Acesso em: 22/04/2003.

CUNHA, R.; SALOMÃO, A. N.; M.T.; MELLO, C.M.C.; TANAKA, D.M. Métodos para a conservação a longo prazo de sementes de *Tabebuia* sp (*Bignoniaceae*). In: CONGRESSO NACIONAL DE ESSÊNCIAS FLORESTAIS NATIVAS, 2. 1992. São Paulo, **Anais...** São Paulo, SP: p. 675 a 677.

DANIDA: **Plannig national seed procurement programmes**, 1998. Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05

DINIZ, P.S.C. **Análise de diferentes métodos de crioconservação na preservação de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1999. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande – PB. 1999.

ENGELMANN, F.; DUSSERT, S.; CHABRILLANGE, N.; ANTHONY, F.; HOMON, S. Cryopreservation of coffe (*Coffea arabica*) seeds: toward a simplified protocol for routine in coffe genebanks. In: **Cryopreservation of tropical plant germoplasm..** Internacional Plant Genetic Resources Institute. Itália, 2000, p.161 – 166. (JIRCAS Internacional Agriculture Serie No. 8).

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p.1167-1147,1990.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.T. An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity, and imbibition on desiccation-tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1991.

FAO (1989). Plant genetic resources: Their Conservation in situ for human use.Rome Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05.

FERREIRA, S.A. do N.; SANTOS, L.A. dos. Viabilidade de sementes de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.). **Acta Amazônica**, Manaus, v.22, n.3, p.303-307, 1992.

FIGLIOLIA, M.B. Conservação de sementes de essências florestais. **Boletim Técnico do Instituto Florestal**, v.42, p.1-18, 1988.

FREITAS, S.C. de. **Determinação de equilíbrio higroscópico e viabilidade de sementes de ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia* (Vahl.) Nichols) armazenadas em diferentes umidades relativas.** 1978. 24f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Departamento de Fitotecnia Universidade Federal de Viçosa, MG.

GENTIL, D.Fde.; FERREIRA, S.A do N. Viabilidade e superação da dormência de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *Sorroria*). **Acta Amazônica**, Manaus, v.29, n. 1, p. 21 a 31, 1999.

GENTIL, D.F. SILVA, W.R.; MIRANDA, D.M. Grau de umidade e temperatura na conservação de sementes de café. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 1, p.53-64, 2001.

GIARETTA, H.; CATALOGNE, E.V. de A. Poder germinativo em espécies de sementes forrageiras analisadas no Rio Grande do Sul, nos anos de 1978 a 1983. **Agronomia Sul Rio Grandense**, Porto Alegre, v.21, n.1, p.135-70, 1985.

GOMES, V.; FERNANDES, G.W. Germinação de Aquênios de *Baccharia dracunculifolia* D.C *Asteraceae*). **Acta Botânica**, São Paulo, v.16, n.4, out./ dez., 2002.

GONÇALVES, N.J.M. **Germinação e vigor de 10 genótipos de arroz (*Orzya sativa* L.) submetidos a5 níveis de NaCl e água salina de açude.** 1999. 91f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande / PB.

HAPPER, J. L.; LOVELL, P. H. & MOORE, K. G. The shapes and sizes of achens. Annual Rewiew of ecology and Systematics. **Informe Agropecuário**, n.1, p.327- 356. 1977.

HARRINGTON, J. F. Seed storage and longevity. In: HEYDECKER, W. **Seed Biology**. London, cap.14, p.251-262. 1972.

HENSHAW, G.G.; STAMP, J.A.; WESTCOTT, J.J. Tissue cultures and germoplasm storage In: SALA, PARASI, B.; CELLA, R.; CIFERRI, (ed.). **Plant cell cultures: Results and perspectives**. Amsterdam- Holanda, 1980, p.277-282. 1980.

HEYWOOD, V.H.(1992) Conservation of germoplasm of wild plants. In: O.T.; HINDAR, K. **Conservation of Biodiversity for sustainable Development**, p. 189-203. Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. **A protocol to determine seeds storage behaviour**. Rome: IPGRI, 1996. 62p. (IPGR Technical Bulletin n.1)

IPEF. Disponível em: <http://www.ipef.br/identificacao/nativas/detalhes.asp?codigo~29>. Acesso em: 22/04/2003.

IRIONDO. J.M.; PEREZ-GARCIA, F. Effect of seed storage in liquid nitrogen on germination of several crop and will species. **Seed Science and Technology**, v.20, p.165-171, 1992.

JOHNSON, R.R.; WAX, L.M. Relationship of soybean germination and vigor tests to field performance. **Agron. J.**, v.70, n, 2, p.:273-278, 1978.

KAGEYAMA, P.Y.; MARQUEZ, F.C.M. **Comportamento de sementes de curta longevidade armazenadas com teores de umidade inicial: Gênero *Tabebuia***. INIF, p. 347-352, 1981.

KANO, N. K.; MÁRQUEZ, F.C.M. ; KAGEYAMA, P.Y. Armazenamento de sementes de ipê – dourado (*Tabebuia sp.*). **IPEF**, Piracicaba, v.17, p.13-23, 1978.

KARUNUKI, Y.; YOSHIDA, S. Cryopreservation of tea seeds and the excised embryonic axes in liquid nitrogen. In: Proceedings of the International Symposium on the International Symposium on Tea Science, Shizouca, Japan. **Annals... ISTS**, 1991.

KOLLER, O. Environmental control of seed germination. In: KOZLOWSKI, T. T. **Seed biology**. (ed.) London: Academic Press. 1972. p.1-101.

LABOURIAU, L. G. & PACHECO, A. **Isotermal germination rates in seed of *Dolichos biflorus* L.** Separata del Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, 136. v.34, p.73-112, 1978.

LACERDA, S. N.B. **Estudo de diferentes técnicas de armazenagem para conservação de sementes nativas do semi-árido paraibano.** 2001. 103f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande – PB.

LIMA, H. F.; BRUNO, R. de L. A.; BRUNO, G. B.; BANDEIRA, I. S. de A. Avaliação de produtos alternativos no controle de pragas na qualidade fisiológica das sementes de feijão armazenadas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.3, n.1, p.40-53, 1999.

LIN, S. S. Efeito do vigor da semente no desempenho da planta de soja (*Glycine max* L. Merrill) no campo. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v.18, n.1, p.37-46, 1982.

LOPES, C.L; MINEIRO, P. Desertificação: seu avanço mobiliza o mundo. **Ecologia e Desenvolvimento**, Rio de Janeiro, v.5, n-51, p.4-19, maio, 1995.

LU, Tie-Grang.; JIAN, Hing-Cheng.;SUN.ching-San. Current status of cryopreservation in China. In: **Cryopreservation of tropical plant germoplasm.** Itália : International Plant Genetic Resources Institute, p.310-314.2000, (JIRCAS International Agriculture Serie N.8)

MALUF, A.M. ; PASSO, R.; DENISE, A.C.; BILIA,; BARBEDO, J. Longevidade e germinação dos diásporos de *Ocotea corymbosa* (Meissn) Mez. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.1, jan. / mar., 2000.

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. da. **Avaliação da qualidade das sementes.** Piracicaba: ESALQ. 1987. 230p.

MEDEIROS, A.C.S.; PROBERT, R.J.; SADER, R.; SMITH, R.D. The moisture relations of seed longevity in *Astronium urundeuva* (Fr. All.). **Seed Science and Technology**, Zurich, v.26, n.2, p. 298-299, 1998.

MEDEIROS, A.C. de S.; CAVALLARI, D.A.N. Conservação de germoplasma de aroeira (*Astronium urundeuva* (Fr. All.) Engl.) **Revista Brasileira de Sementes**. v.14, n.1, p.73-75, 1992.

MELLO, C.M.C.; EIRA, M.T.S. Conservação de sementes de jacarandá mimoso (*Jacarandá acutifolia* Humb & Bonpl.)- *Bignoniácea*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 17, n.2, p.193-196, 1995.

MILLER, k., ALLEGRETTI, M.H., JOHNSON, N. and JONSON, B. (1995). Measures for conservation of biodiversity and sustainable use of its components. In Global Biodiversity for sustainable Assessment. P.915-1062. Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/2005.

MIRANDA, P. R. M.; FERRAZ, I. D. K. Efeito da temperatura na germinação de sementes e morfologia da plântula de *Maquira sclerophylla* (Ducke) C. C. Berg. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.22, n.2, out., 1999.

MYASAKI, J.M.; CÂNDIDO, J.F. Secagem de sementes de ipê amarelo (*Tabebuia serratifolia* Vall/Don). **Seiva**, Viçosa, v.38, n.85, p.12-17, 1978.

MONTEIRO, P.P.M.; RAMOS, F.A. Beneficiamento e quebra de dormência de aquênios em cinco espécies florestais do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v.20, p.1-9, 1997.

MORAES, A.M. **Cultivo in vitro e criarmazenagem de sementes de mamona (*Rinicus communis* L.)**. 2001. 132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento em Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande-PB.

MWASHA, A.J.; ELLIS, R.H.; HONG, T.D. The effect of desiccation on the subsequent survival of seeds of cashew (*Anacardium occidentale* L.). **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v.25, n.1, p.115-122, 1997.

NINO, T.; SEGUEL, I.; MURAYAMA, T. Cryopreservation of vegetatively propagated species (mainly mulberry). In: Cryopreservation of tropical plant germoplasm. **International Plant Genetic Resources Institute**. Italia, p.194- 199, 2000. (JIRCAS International Agriculture Serie N.8)

NOGUEIRA, J.C.B.; SIQUEIRA, A.C.M.F.; MORAIS, E.; IWANE, M.S.S. Estudo de progênies e procedências de amendoim-bravo. (*Pterogyne nitens* Tul.). **Boletim Técnico do Instituto Florestal de São Paulo**, v.40, n.2, p.357-366, 1986.

NORMAH, M.N.; MAINAH, G.; SAVASWATHY, R. Cryopreservation of zygotic embryos of tropical fruit trees a study on *Lansium domesticum* and *Baccaurea* species. In: Cryopreservation of tropical plant germoplasm. Itália: **International Plant Genetic Resources Institute**, 2000, p. 156-158. (JIRCAS International Agriculture Serie N.8).

OHASHI, S.T.; KAGEYAMA, P.Y.; MARTINS, E.S. Armazenamento de sementes de ipê (*Tabebuia sp.*) em diferentes condições ambientais e teores de umidade inicial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5, 1987. Gramado, RS, **Resumos...** Brasília: ABRATES, 1987. p.130.

OLIVEIRA, A.C. **Conservação de sementes e produção de mudas de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (MART. EX.DC.) STANDL.)**. 2001. 64f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – DEF/ Universidade Federal da Paraíba, Areia – PB.

PEREZ, S.C.J.; FANTI, S.C.; CASALI, C.A. Influência do armazenamento, substrato, envelhecimento precoce e profundidade de semeadura da germinação de canafístula **Bragantia**, Campinas. v.58, n.1, p.57-68, 1999.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; AGUIAR, I.B. de. Maturação e dispersão de sementes. In: AGUIAR, I.B. de; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes Florestais**

Tropicais, Brasília, p.215-274, 1993.

PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; JESUS, R.M. Comportamento das sementes de cedro-rosa (*Cedrela angustifolia* S. ET. Moc.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.14, n.1, p.31 a 36, 1992.

PITA VILLAMIL, Crioconservación de semillas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 26. **Minicurso**. Campina Grande – PB, 1997. 55 p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. Brasília: AGIPLAN/ Ministério da Agricultura 1977. 289 p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia de sementes**. Brasília: AGIPLAN/ Ministério da Agricultura. 1997. 315 p.

POPININGIS, F.; CAMARGO, C.P. Situação da Pesquisa em sementes no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.2, n.3, p.32, 1981.

PRANCE, G. T.; SMITH, R. D.(1997) The millennium Seed Bank at the Royal Botanic Gardens, Kew. In: Nature and human society: The quest for a sustainable world.(Eds: National Academy of Science). Washington. D.C. Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05.

QUAT Ng, N.; DANIEL, I.O. Storage of pollens for long-term conservation of yam genetic resources. In: **Cryopreservation of tropical plant germoplasm**. Italia: International Plant Genetic Resources Institute, 2000, p.136-139. (JIRCAS International Agriculture Serie No. 8)

RAMOS, A. Influência de cinco tipos de embalagens na germinação e no vigor de sementes de angico *Parapiptadenia rigida* (Benth) (Brenan), caixeta (*Tabebuia cassinoides* (Lam) DC) e caroba (*Jacaranda micrantha* Cham.) armazenadas em câmara fria e à temperatura ambiente. 1980. 134f. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba - PR.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Tecnology**, Zurich, v.1, n.3, p.499-514, 1973.

SILVA, F. de A.S. e. The **ASSISTAT Software: Statistical assistance**, In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 6, 1996, Cancun, Mexico. **Anais...** St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1996. p.294-298.

SILVA, L. M.; RODRIGUES, T.J.D.; AGUIAR, I. B. Efeito da luz da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão). **Revista Árvore**, Viçosa, v.26, n.6, p.691-697, nov./dez., 2002.

SCHUCH, L.O.; NEDEL, J.L.; ASSIS, F.N.; MAIA, M.S. Vigor de sementes e análise de crescimento de aveia preta. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 57, n.2, abri. /jun., 2000.

SOUSA, J. G. A.; QUEIROGA, V. de P.; RIBEIRO, O.R.; GOMES, J. P. ; ALMEIDA, F. de A.C. Influência dos fatores colheita, beneficiamento e armazenamento na germinação das sementes de algodão herbáceo. **Agropecuária Técnica**, Areia, v.20, n.1, p.35-41, 1999.

SOUSA, J. G.A. **Interação entre a colheita, beneficiamento e armazenamento na qualidade das sementes de algodão herbáceo (*Gossypium hirsutum* L.)**. 1994. 66 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande-PB. 1994

SOUZA, S.M. de ; PIRES, L.E.; LIMA, P.C.F. Influência de embalagens e condições de armazenamento na longevidade de sementes florestais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 1, Curitiba, 1979. **Resumos...** Brasília, ABRATES, 1979, P.78.

STANWOOD, P.C. Cryopresevation of seed germplasm for genetic conservation In: K.K. KARTHA. (ed.). **Cryopreservation of plant cells and organs**. Boca Rotan – Flórida: CRC Press, 1985. p.199 – 225.

STANWOOD, P.C. Survival of sesame seeds at the temperature (-196°C) of liquid nitrogen. **Crop Science**, Madsonn, v.27, p.327-331, 1987.

STANWOOD, P.C. Tolerance of seeds to cooling and storage in liquid nitrogen (-196°C). **Journal of Seed Technology**, USA, v.5, n.1, p.26-312, 1980.

STANWOOD, P.C.; BASS, L.N. Seed germoplasm preservation using liquid nitrogen. **Seed Science and Technology**. Zurich, n.9, p.423 – 437, 1981.

STANWOOD, P.C.; ROOS, E.E. Seed storage of several horticultural species in liquid nitrogen (-196°C). **Hortscience**, Alexandria, v. 14, n.5, p.628-630, 1979.

STANWOOD, P.C. **Cryopreservation of seed germoplasma preliminary guide to the liquid nitrogen (LN₂ -196°C)**. In: IBPGR Advisory Committee on Seed Storage. Report of the Second Meeting, p.8-27, 1984.

TELLA, R. de; LAGO, A.A do; ZINK, E. Efeitos de diversos níveis de umidade e tratamento fungicida, na longevidade de sementes de amendoim. **Bragantia**. Campinas, v.35, n.27, p. 335-342, 1976.

TOMPSET, P.B. Capture of genétic resources by collection and storage of seed: a physiological approach. In *Tropical Tress: the potential for domestication and the rebuilding of forest resources*, ECTF. Symposium n.1. ITE. Symposium n.29, p.61-71, 1994. (Eds: LEAKEY, R.R.B.; NEWTON, A.C.) London. . Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05.

TORRES, S. T.; MINAMI, K. Qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.1, jan./mar., 2000.

Referências Bibliográficas

VERTUCCI, C.W. Effects of cooling rate on seeds exposed to liquid nitrogen temperatures. *Plant Physiology*, Bethesda, MD, v. 90, p.1478 – 1485, 1989.

VIEIRA, M.L.C. Conservação de germoplasma *in vitro*. **Biotecnologia Ciências e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v.3, n.14, p.18-20, 2000.

VIEIRA, R. D. & CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

YAKLICH, R.W.; KULIK, M.M. Evaluation of vigor tests in soybean seeds: relationship of accelerated aging, cold, sand bench and speed of germination tests to field performance. **Crop Science**, v.22, n.4, p.766, 1979.

YEATMAN, C.W. Conservation of genetic resources within managed natural and managed forest. **Malasia Forester**, v.50, p.1-8, 1987. Disponível em: <http://www.floresta.ufam.edu.br/mjl/centro.pdf>. Acesso em: 12/03/05.