



**ISRAELA PIMENTA DE SOUSA**

**ESCARIFICAÇÃO E USO DE GA<sub>3</sub> NA GERMINAÇÃO DE  
ESTRELÍCIA**

**LAVRAS-MG  
2020**

**ISRAELA PIMENTA DE SOUSA**

**ESCARIFICAÇÃO E USO DE GA<sub>3</sub> NA GERMINAÇÃO DE ESTRELÍCIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva  
Orientadora  
Dr. Diogo Pedrosa Corrêa da Silva  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2020**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Sousa, Israela Pimenta de.

Escarificação e uso de GA3 na germinação de estrelícia /  
Israela Pimenta de Sousa. - 2020.  
56 p. : il.

Orientador(a): Patrícia Duarte de Oliveira Paiva.

Coorientador(a): Diogo Pedrosa Corrêa da Silva.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de  
Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Estrelícia. 2. Semente. 3. Dormência. I. Paiva, Patrícia  
Duarte de Oliveira. II. Silva, Diogo Pedrosa Corrêa da. III. Título.

**ISRAELA PIMENTA DE SOUSA**

**ESCARIFICAÇÃO E USO DE GA<sub>3</sub> NA GERMINAÇÃO DE ESTRELÍCIA**

**SCARIFICATION AND USE OF GA<sub>3</sub> IN THE GERMINATION OF STRELITZIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fisiologia Vegetal para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 4 de março de 2020.

Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva UFLA

Dra. Michele Valquíria dos Reis UFLA

Dra. Júnia Rafael Mendonça Figueiredo UninCor

Profa. Dra. Patrícia Duarte de Oliveira Paiva  
Orientadora

Dr. Diogo Pedrosa Corrêa da Silva  
Coorientador

**LAVRAS-MG**  
**2022**

*Aos meus pais, ao meu irmão e ao Fernando pelo apoio, carinho e amor.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por fortalecer a minha fé e pela oportunidade de estar realizando este trabalho.

Aos meus pais, Carolina e Donizette pelo amor e apoio, principalmente nos momentos de dificuldade e por terem sido as pessoas que me mostraram desde o início a importância que o conhecimento tem na nossa vida.

Ao meu irmão Eduardo pelo belo exemplo de determinação.

Ao Fernando por estar ao meu lado e incentivar a buscar meus objetivos.

À Universidade Federal de Lavras e ao Setor de Fisiologia Vegetal por viabilizar a realização do mestrado.

A minha orientadora Patrícia Duarte de Oliveira Paiva pela atenção e confiança.

Ao professor Renato Paiva por disponibilizar o espaço para realização deste trabalho.

Ao Diogo pelos conhecimentos transmitidos e por toda ajuda.

Aos colegas do Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas e Núcleo de Estudos de Paisagismo e Floricultura, especialmente à professora Michele pelas trocas, pelo apoio, ajuda e companheirismo.

Às colegas Bruna, Josiane, Mayara, Raquel e Thalita pela ajuda durante os experimentos.

As minhas amigas pelas palavras confortantes nas horas difíceis e principalmente por estarem comigo nesta caminhada tornando-a mais fácil e gratificante.

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e contribuições.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**Muito Obrigada!**

## RESUMO

A propagação de estrelícia (*Strelitzia reginae*) é realizada por divisão de touceiras ou por sementes, mas essas apresentam dormência e baixa taxa de germinação. Dessa forma, objetivou-se aprimorar os processos de germinação *in vitro* e *ex vitro* de estrelícia utilizando escarificação química e física e aplicação de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) para a quebra de dormência. As sementes foram submetidas à escarificação química em ácido sulfúrico por diferentes tempos (10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos) e escarificação física utilizando lixa, além do controle sem escarificação. As sementes cultivadas *in vitro* foram desinfestadas e inoculadas em meio MS suplementado com 0, 20, 40 e 80 µM de GA<sub>3</sub>. Para o cultivo *ex vitro* as sementes foram plantadas em tubetes com substrato comercial Tropstrato® e irrigadas com solução de GA<sub>3</sub> nas concentrações 0, 25, 50 e 100 µM a cada 15 dias. A porcentagem de germinação *in vitro* foi avaliada após 15, 30, 45 e 60 dias e a porcentagem de germinação *ex vitro* foi avaliada após 30, 45 e 60 dias. As análises agronômicas realizadas após 60 dias avaliaram o comprimento da parte aérea (cm), raiz (cm), número de folhas e sobrevivência (%). Os resultados observados *in vitro* demonstraram que a maior germinação ocorreu quando as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico por 30 e 40 minutos independente da adição de GA<sub>3</sub> no meio. Aos 60 dias de cultivo *in vitro*, a escarificação física e os tempos de escarificação em ácido sulfúrico (20, 30 e 40 minutos) das sementes promoveram maior comprimento da parte aérea, da raiz e as maiores médias do número de folhas. A maior sobrevivência das plântulas foi obtida de sementes imersas por 30 minutos (86,66%) e 40 minutos (80%) no ácido sulfúrico sem adição de GA<sub>3</sub>. Após 30 dias de cultivo *in vitro* a germinação estabilizou. Os resultados *ex vitro* demonstraram que a maior porcentagem de germinação foi encontrada em sementes não escarificadas e irrigadas com 100 µM de GA<sub>3</sub> (62,22%). Aos 60 dias de cultivo *ex vitro* foi observada a maior germinação (66,66%). Maior comprimento da parte aérea e as maiores médias do número de folhas foram observados nas sementes não escarificadas e tratadas com 100 µM de GA<sub>3</sub>. As raízes apresentaram maior comprimento quando não houve escarificação ou em sementes escarificadas por 10 minutos em ácido sulfúrico. A sobrevivência das plântulas foi maior quando não houve escarificação. Baseando nos resultados observados, pode-se recomendar para melhorar o processo de germinação de estrelícia *in vitro*, o uso de escarificação com ácido sulfúrico por 30 minutos. Para germinação *ex vitro* recomenda-se apenas o tratamento por irrigação com 100 µM de GA<sub>3</sub>.

**Palavras-chave:** Estrelícia. Dormência. Escarificação. Semente.

## ABSTRAT

The propagation of strelitzia (*Strelitzia reginae*) is mainly done by splitting clumps or by seeds, but these have dormancy and low germination rates. Thus, it aims to improve the *in vitro* and *ex vitro* germination processes for strelitzia, using chemical and physical scarification, and gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) for break the seed dormancy. The seeds were submitted to chemical scarification in sulfuric acid at different immersion times (10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes) and physical scarification using sandpaper, for addition to the control without scarification. The seeds used on the *in vitro* condition were disinfected and inoculated in MS medium supplemented with 0, 20, 40 and 80 µM of GA<sub>3</sub>. For the *ex vitro* experiment, the seeds were planted in plastic tubes with commercial substrate Tropstrato®, irrigated with 0, 25, 50 and 100 µM of GA<sub>3</sub> solution and analyzes every 15 days. The germination percentage of the *in vitro* experiment was evaluated after 15, 30, 45 and 60 days, and *ex vitro*, after 30, 45 and 60 days. Agronomic analyzes carried out, at the 60th day, evaluated of shoot length (cm), root (cm), number of leaves and survival (%) were collected. The *in vitro* results demonstrated that the greatest germination percentage occurred when the seeds were scarified with sulfuric acid for 30 and 40 minutes, regardless of GA<sub>3</sub> addition in the medium. At 60 days *in vitro* cultivation, the physical scarification and the scarification times in sulfuric acid (20, 30 and 40 minutes) of the seeds promoted greater length of the aerial part the root and the highest averages of the number of leaves. The highest seedling survival was obtained from seeds immersed for 30 minutes (86.66%) and 40 minutes (80%) in sulfuric acid without the addition of GA<sub>3</sub>. After 30 days of *in vitro* culture, germination stabilized. After 30 days of *in vitro* cultivation, germination stabilized. For *in vitro* germination, scarifying the seeds for 30 minutes is recommended. On the other hand, the *ex vitro* results showed that a higher percentage of germination was obtained in scarified and irrigated seeds with 100 µM GA<sub>3</sub> (62.22%). After 60 days of *ex vitro* cultivation, was observed greater germination (66.66%). Shoot length and number of leaves values were observed in non-scarified and treated seed with 100 µM GA<sub>3</sub>. The roots presented greater growth when there was not used any scarification treatment or in the 10 minutes seed scarification. Seedling survival was greater when there was no scarification. Thus, it is recommended to *in vitro* germination of strelitzia scarifying the seeds in sulfuric acid for 20 minutes. For *ex vitro* germination only 100 µM GA<sub>3</sub> irrigation is recommended.

**Keywords:** Streltzia. Dormancy. Scarification. Seed.

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>8</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1</b>	<b>Floricultura</b> .....	<b>9</b>
<b>2.2</b>	<b>Estrelícia</b> .....	<b>10</b>
<b>2.3</b>	<b>Propagação de estrelícia</b> .....	<b>11</b>
<b>2.4</b>	<b>Dormência</b> .....	<b>11</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Quebra de dormência</b> .....	<b>12</b>
<b>2.5</b>	<b>Cultivo <i>in vitro</i> de estrelícia</b> .....	<b>13</b>
<b>2.6</b>	<b>Cultivo <i>ex vitro</i> de estrelícia</b> .....	<b>14</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>15</b>
	<b>CAPÍTULO 2: ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA ASSOCIADA À GA<sub>3</sub> NA GERMINAÇÃO <i>in vitro</i> DE ESTRELÍCIA</b> .....	<b>18</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Obtenção do material vegetal</b> .....	<b>21</b>
<b>2.2</b>	<b>Efeito da escarificação química e física e giberelina na germinação de estrelícia crescimento das plântulas <i>in vitro</i></b> .....	<b>21</b>
<b>2.3</b>	<b>Análise de imagens de sementes de estrelícia submetidas à escarificação química e física</b> .....	<b>22</b>
<b>2.4</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	<b>22</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>3.1</b>	<b>Efeito da escarificação química e física e GA<sub>3</sub> na germinação de estrelícia e crescimento das plântulas <i>in vitro</i></b> .....	<b>23</b>
<b>3.2</b>	<b>Análise de imagens de sementes de estrelícia submetidas à escarificação química e física</b> .....	<b>33</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>36</b>

	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>
	<b>CAPÍTULO 3: APLICAÇÃO DE GA<sub>3</sub> E ESCARIFICAÇÃO PARA ESTIMULAR A GERMINAÇÃO <i>ex vitro</i> DE ESTRELÍCIA</b> .....	<b>39</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>42</b>
<b>2.1</b>	<b>Obtenção do material vegetal</b> .....	<b>42</b>
<b>2.2</b>	<b>Escarificação química e física e GA<sub>3</sub> exógeno na germinação <i>ex vitro</i> de estrelícia</b> .....	<b>42</b>
<b>2.3</b>	<b>Análises estatísticas</b> .....	<b>42</b>
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
<b>3.1</b>	<b>Efeito da escarificação química e física e giberelina na germinação de estrelícia e crescimento das plântulas <i>ex vitro</i></b> .....	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>54</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>55</b>

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks), conhecida também como ave-do-paraíso, é uma espécie ornamental tropical da família Strelitziaceae. Apresenta inflorescências de cores fortes, hastes longas e alta durabilidade pós-colheita, sendo amplamente utilizada no paisagismo em parques e jardins (VIEIRA et al., 2012), além da produção de flores de corte para arranjos em decoração (SANTOS et al., 2018).

A propagação de estrelícia, normalmente, é realizada por divisão de touceiras ou por sementes. Mudas propagadas por divisão de touceiras inicia seu florescimento em 3 anos, porém neste processo o número de mudas produzidas é reduzido. Já propagação por sementes é dificultada, pois apresentam dormência física, consequência da impermeabilidade do tegumento e rigidez do endosperma, o que influencia na germinação e desenvolvimento das plantas, as quais necessitam de cerca de 4 a 7 anos para iniciar a floração (PAIVA; ALMEIDA, 2012; BARBOSA et al., 2005). Existem alguns métodos como estratificação e choque térmico que podem ser utilizados para a quebra da dormência. Destacando-se para a quebra da dormência de estrelícia pode-se citar a giberelina exógena (KUMAR et al. 2018).

Uma das funções das giberelinas é o controle de diversos aspectos da germinação de sementes, incluindo a quebra de dormência, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento, a mobilização das reservas do endosperma e ativação de crescimento vegetativo do embrião (TAIZ et al., 2017).

Outra alternativa para quebrar a dormência física e aumentar a germinação consiste na escarificação das sementes, que pode ser química ou física, o que faz com o ocorra danos ao tegumento permitindo a entrada de água e troca de gases ou o amolecimento do endosperma, fatores importantes para a germinação de sementes. Utilizar os métodos de quebra de dormência de forma integrada pode ser eficaz, pois os mecanismos que determinam a dormência podem estar intimamente relacionados e dificilmente são identificadas causas isoladas (MARCOS FILHO, 2005).

Aliado a estas técnicas de quebra de dormência, a propagação via cultura de tecidos de plantas, a qual é possível obter elevado número de plantas em curto período de tempo e espaço reduzido, em excelentes condições fitossanitárias o que é de interesse na floricultura (LAMEIRA et al., 2000), pode ser uma alternativa viável para a germinação de estrelícia. A cultura de tecidos de plantas é bastante difundida principalmente para a propagação de

espécies com dificuldade de germinação e para a produção de mudas em larga escala (PINHAL et al., 2011).

A caracterização das sementes durante o processo de escarificação demonstra como o processo de retirada do tegumento pode favorecer a entrada de água, o amolecimento do endosperma e conseqüentemente a germinação. Para isso a utilização de análise de imagem utilizando o sistema GroundEye® e análise radiográfica é uma opção viável por ser uma análise não destrutível e rápida (XAVIER et al., 2019). O GroundEye® se destaca por ser um equipamento que analisa mais de 300 características (ANDRADE et al., 2016).

Entretanto, são escassos os estudos sobre protocolos viáveis para produção comercial de *S. reginae*, visto que a espécie apresenta dificuldade de germinação tanto *in vitro* como *ex vitro*. Trabalhos com reguladores de crescimento e ácido sulfúrico, já foram realizados para aumentar a germinação, mas ainda são necessários mais estudos, devido a baixa porcentagem de germinação e também para observar a interação entre diversos fatores (KUMAR, et al., 2018; GARCIA et al., 2006; BARBOSA et al., 2005).

Ademais, sendo a estrelícia uma planta com apelo econômico crescente, a produção de mudas é uma etapa fundamental a ser melhorada em seu ciclo de produção, com o estabelecimento de um protocolo eficiente de germinação e estabelecimento *in vitro* e *ex vitro* de *Strelitzia reginae*.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Floricultura**

A floricultura vem apresentando crescimento acelerado no mundo todo e tem sido descrito como o mais satisfatório dentro da horticultura (DESAI; INGHALIHALLI; KRISHNAMURTHY, 2015). A floricultura comercial brasileira constitui-se em um dos mais dinâmicos e promissores segmentos do agronegócio brasileiro contemporâneo, exibindo indicadores de crescimento significativos, tanto em termos de número de produtores, quanto de área cultivada e de Valor Bruto da Produção (JUNQUEIRA; PEETZ, 2014).

Nas últimas décadas, têm se observado índices de crescimento vigorosos para esta cadeia produtiva, sinalizando para um mercado potente e promissor tanto para produtores, quanto para atacadistas, varejistas, designers florais, paisagistas e outros profissionais atuantes no segmento (JUNQUEIRA; PEETZ, 2017). Dessa forma, o Brasil tem potencial para se tornar um grande produtor de plantas ornamentais, principalmente em relação às espécies

tropicais, considerando a grande diversidade genética e o clima favorável à sua produção, contribuindo assim para a agroindústria de plantas (QUEIROZ; SILVA; MARTINS, 2016).

Além disso, a floricultura tropical também ganha espaço na produção nacional de flores, devido a aspectos favoráveis à comercialização como flores com diversidade de cores e formas, flores exóticas, com resistência ao transporte, durabilidade pós-colheita, além de boa aceitação no mercado externo (DIAS, 2016).

No Brasil, além dos estados Pernambuco e Alagoas o estado de Minas Gerais também se destaca na produção de plantas tropicais (LANDGRAF; PAIVA, 2009). Dentre as espécies tropicais mais produzidas no Brasil estão antúrio, estrelícia, helicônias, alpínias, gengibre-ornamental e bastão-do-imperador (QUEIROZ; SILVA; MARTINS, 2016, LIMA; FERRAZ, 2008, JUNQUEIRA; PEETZ, 2008).

## 2.2 Estrelícia

*Strelitzia reginae*, também conhecida como estrelícia ou ave-do-paraíso, é uma espécie tropical, monocotiledônea pertencente à ordem Zingiberales e a família Strelitziaceae. É uma planta rizomatosa, entouceirada com folhas firmes e coriáceas (LORENZI; SOUZA, 2001).

*S. reginae* é uma das espécies de *Strelitzia* mais cultivadas comercialmente no mundo. Originária da África do Sul, tendo sido introduzida na Europa em 1770 de onde foi disseminada para todo o mundo, devido às características exóticas de suas flores que apresentam cores alaranjadas vivas e roxas ou azuis brilhantes (FIGURA 1), tornando-a uma flor de corte muito procurada no mercado (AIELLO et al., 2017, PAIVA; ALMEIDA, 2012).

Figura 1 - Flores de estrelícia.



Fonte: Da autora (2020).

As flores são produzidas ao longo de todo o ano, principalmente na primavera verão (PAIVA; ALMEIDA, 2012). A temperatura ideal de cultivo deve ser próxima de 25 °C e a mínima de 10 °C, com umidade relativa de 70% (LAMAS, 2002).

A propagação por sementes é facilitada pelo elevado número de frutos deiscentes produzidos por inflorescência, podendo ser de 1 a 6, e de sementes produzidas em cada fruto, 30 em média (BARBOSA et al., 2005).

### 2.3 Propagação de estrelícia

A estrelícia pode ser propagada por dois métodos (PAIVA; ALMEIDA, 2012): assexual (BAUTITZ; NIEVA, 2007) e sexual (NDAKIDEMI; DAKORA, 2003).

A propagação assexuada pode ser realizada por divisão de touceiras ou através da cultura de tecidos. Mudas propagadas por divisão de touceiras inicia seu florescimento em 3 anos, porém neste processo o número de mudas produzidas é reduzido. A propagação assexuada *in vitro* é caracterizada pela elevada taxa de oxidação (NORTH et al., 2012, PAIVA et al., 2004).

A propagação sexuada, por sementes é dificultada, pois apresentam dormência física, consequência da impermeabilidade do tegumento e rigidez do endosperma, o que influencia na germinação e desenvolvimento das plantas, as quais necessitam de cerca de 4 a 7 anos para iniciar a floração (PAIVA; ALMEIDA, 2012; BARBOSA et al., 2005).

### 2.4 Dormência

As sementes dormentes necessitam de tratamentos adicionais ou sinais para a germinação ocorrer (TAIZ et al., 2017). Os tratamentos vão depender do tipo de dormência

que a semente apresenta.

Em estrelicia é reconhecida a dormência física, consequência da impermeabilidade do tegumento à água e gases e rigidez do endosperma causando uma limitação mecânica ao embrião, o que influencia na germinação e desenvolvimento das plantas (PAIVA; ALMEIDA, 2012; GARCIA et al., 2006; BARBOSA et al., 2005). Além da dormência física, a dormência química foi pressuposta pela presença de um inibidor solúvel em água desconhecido (BARBOSA et al., 2005, VAN DE VENTER; SMALL, 1975).

#### **2.4.1 Quebra de dormência**

Vários métodos têm sido estudados para a quebra de dormência. Trabalhos com escarificação mecânica, reguladores de crescimento, ácido sulfúrico, embebição em água e diferentes temperaturas já foram realizados para otimizar a germinação, mas, novos trabalhos são necessários para avaliar a interação entre diversos fatores, além dos estudos realizados apresentarem baixa porcentagem de germinação (KUMAR et al., 2018; GARCIA et al., 2006; BARBOSA et al., 2005).

Os tratamentos para superar a dormência física e otimizar a germinação não deve provocar prejuízo ao desempenho das sementes e desenvolvimento das plântulas. Na escarificação química, geralmente com ácido sulfúrico, as sementes permanecem em contato com essa solução durante 5 a 10 minutos (MARCOS FILHO, 2005). Utilizar a escarificação química pode ser um método adequado, pois um grande número de sementes pode ser escarificado ao mesmo tempo (ABD AZIZ et al., 2018).

Na escarificação mecânica as sementes são submetidas ao atrito contra superfícies abrasivas. Não deve ser severa a ponto de provocar injúrias à semente, principalmente ao embrião. Mas este método pode expor as sementes à invasão de microorganismos e os resultados podem ser negativos. Porém, essa técnica tem apresentado resultados positivos para várias espécies como *Ormosia paraenses* e *Ormosia macrocalyx* (SILVA et al., 2018; VARGAS-SIMÓN et al., 2017).

Outro método é a aplicação exógena de giberelina. As giberelinas, entre outros fins, controlam diversos aspectos da germinação de sementes, incluindo a quebra de dormência, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento, a mobilização das reservas do endosperma e ativação de crescimento vegetativo do embrião (TAIZ et al., 2107). Dentre as giberelinas, o GA<sub>3</sub> se destaca por apresentar função na quebra de dormência de sementes e ser amplamente usado na cultura de tecidos de plantas

(SINGH et al., 2016).

Existem algumas técnicas que podem ajudar a analisar o melhor método para a quebra de dormência e distinguir as características morfológicas, como a imagem digital como substituto da avaliação visual humana subjetiva (VENORA et al., 2009). O uso de imagens de sementes e mudas para fins comerciais e tecnológicos visa facilitar, acelerar e automatizar a categorização das características das sementes, como tamanho, cor, forma, textura, preenchimento, medição de mudas e identificação de cultivares (XAVIER et al., 2019; GRANITTO; VERDES; CECCATO, 2005). A análise de imagens é um método rápido, objetivo, compacto e não destrutivo. Os Equipamentos como o raios-X e GroundEye® podem avaliar a morfologia e qualidade das sementes (XAVIER et al., 2019; ANDRADE et al., 2016).

Entre os sistemas computacionais, o GroundEye® se destaca por ser um equipamento que analisa e extrai mais de 300 características morfológicas de sementes e mudas (ANDRADE et al., 2016).

Contudo, protocolos que visam a aumentar a germinação desta espécie de grande importância para a floricultura devem ser estudados, tanto *ex vitro* quanto *in vitro*. E associar um modelo que quebra a dormência com a germinação *in vitro* pode ser uma importante estratégia.

## **2.5 Cultivo *in vitro* de estrelícia**

A propagação *in vitro* ou micropropagação tem sido utilizada visando à produção de plantas em larga escala com qualidade superior, além de encurtar a fase de juvenildade, o estabelecimento de um banco de germoplasma e seleção de variantes entre plantas propagadas por clone (KARNATAKA, 2008) e obter mudas livres de pragas e doenças (FERNANDEZ; ESCUTIA; MANCERA, 2008).

Quanto às pesquisas de propagação *in vitro* de estrelícia, foram utilizados meristemas para regenerar plantas com sucesso (ZIV; HALEVY, 1993), além de estudar o uso de embriões zigóticos (NORTH et al., 2011, PAIVA et al., 2004) e obtenção de próembriões a partir de calos (FERNANDEZ; ESCUTIA; MANCERA, 2008). Entretanto, a espécie tem se mostrado uma planta de difícil propagação *in vitro* principalmente pela elevada oxidação dos explantes, o que inibe a atividade enzimática, resultando em escurecimento do meio de cultura e consequente morte do explante (PAIVA et al., 2004). Com isso, a germinação *in vitro* de sementes pode ser uma alternativa viável, pois é passível de ser explorado em escala

comercial (STASOLLA; THORPE, 2011) além do uso de sementes proporcionarem maior segurança contra contaminações viróticas e microbiológicas inerentes ao material vegetal (SMITH, 2013). Mais ainda, a semente carrega maior diversidade genética, haja vista ser oriunda do cruzamento de dois indivíduos diferentes. Além disso, contribui com trabalhos de melhoramento e conservação da diversidade genética (VELLVE, 2010). Tudo isso aliado à condição asséptica do meio de cultura além de condições abióticas controladas.

Não se tem registros de estudos *in vitro* realizados com germinação de sementes, o que demanda o desenvolvimento de um protocolo de germinação para essa espécie.

## 2.6 Cultivo *ex vitro* de estrelícia

A propagação de estrelícia pode ser realizada através de divisão de touceiras que proporciona pequeno número de mudas e por sementes. A maior dificuldade na propagação da *Strelitzia* via sementes é o prolongado tempo e o baixo percentual de germinação, devido à dormência (PAIVA; ALMEIDA, 2012).

Os estudos com a propagação *ex vitro* de estrelícia ainda são restritos, visto que a maioria dos trabalhos não é atual e a porcentagem de germinação relatada é baixa.

Um dos métodos utilizados para quebrar a dormência das sementes de estrelícia e a escarificação das sementes com ácido sulfúrico. Ao utilizar o ácido sulfúrico por 9 minutos a porcentagem de germinação aumentou (aproximadamente 38%) quando sementes foram germinadas em papel toalha e em 7 minutos de imersão no ácido sulfúrico, as sementes apresentaram aproximadamente 47% de germinação em casa de vegetação (BARBOSA et al., 2005). Isso indica que a dormência pode estar ligada à impermeabilidade do tegumento à água e a gases e também a rigidez do endosperma.

Ao utilizar GA<sub>3</sub> como alternativa para quebra da dormência, sementes embebidas por 24 horas em GA<sub>3</sub> na concentração de 750 mg L<sup>-1</sup> apresentaram 78,10% de germinação, porém não foi testado a interação entre os fatores (KUMAR et al., 2018).

Diante do exposto, fica evidente a importância de se avaliar métodos para quebrar a dormência de sementes de espécies de interesse econômico como a estrelícia e assim otimizar a germinação.

## REFERÊNCIAS

- ABD AZIZ, et al. Efficient micropropagation protocol and genome size estimation of an important cover crop, *Mucuna bracteata* DC. ex Kurz. **Plant Cell, Tissue Organ Culture**, v. 132, p. 267-278, 2018.
- AIELLO, D. et al. *Pleiocarpon* gen. nov. e uma nova espécie de *Ilyonectria* causando podridão basal de *Strelitzia reginae* na Itália. **IMA Fungus**, v. 8, n. 1, p. 65-76, 2017.
- ANDRADE, D. B. et al. Detection of green seeds in soybean lots by the seed analysis system (SAS). **International Journal of Current Research**, v. 8, n. 2, p.26462, 2016.
- BARBOSA, J. G. et al. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n 1, p.71-77, 2005.
- BAUTITZ, F., NIEVA C. I. Vegetative propagation of *Strelitzia reginae* with several types of seedlings and substrates. **Revista Acadêmica Curritiba**. v. 5, n. 1, p. 47-55, 2007.
- BESEMER, S. T. Germination methods for bird-of-paradise seed. **Flower and Nursery Report**, Davis, v. 2, p. 17-20, 1976.
- DESAI, C.; INGHALIHALLI, R.; KRISHNAMURTHY, R. Micropropagation of *Anthurium andraeanum*-An important tool in floriculture. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, New Delhi, v. 4, n. 3, p. 112-117, 2015.
- DIAS, G. M. Quality management of tropical plants. **Ornamental Horticulture**. Campinas, v. 22, n. 3, p. 256-258, 2016.
- FERNÁNDEZ, A. M. A.; ESCUTIA, J. L. P.; MANCERA, H. A. Z. Inducción de proembriones somáticos en ave del paraíso (*Strelitzia reginae* Bank). **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 31, n. 2, p. 183-186, 2008.
- GARCIA, A. S. et al. Efeito de reguladores vegetais na germinação e desenvolvimento da *strelitzia reginae*. **Thesis**, v. 5, p. 161-176, 2006.
- GRANITTO, P. M.; VERDES, P. F.; CECCATO, H. A. Large-scale investigation of weed seed identification by machine vision. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 47, n. 1, p. 15-24, 2005.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 14, n. 1, p. 38-52, 2008.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. O setor produtivo de flores e plantas ornamentais no Brasil, no período de 2008 a 2013: atualizações, balanços e perspectivas. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 20, n. 2, p. 115-120, 2014.
- JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Brazilian consumption of flowers and ornamental plants: habits, practices and trends. **Ornamental Horticulture**, v. 23, n. 2, p. 178-184, 2017.

KARNATAKA, J. Effect of Antioxidant on *in vitro* establishment of *Strelitzia reginae* through shoot tip explants. **Journal of Agricultural Science**, v. 21, p. 324-325, 2008.

KUMAR, S. S. et al. Effect of Growth Regulators On Seed Germination of Bird of Paradise [*Strelitzia reginae* L.]. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 7, n. 1, p. 101-104, 2018.

LAMAS, A. M. **Floricultura tropical: técnicas de cultivo**. Recife:SEBRAE-PE, 2002, p. 87.

LAMEIRA, O. A. et al. **Cultura de Tecidos**. Embrapa Amazônia Oriental, 2000, 41p.

LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. Produção de flores cortadas no estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 120-126, 2009.

LIMA, J. D.; FERRAZ, M. V. Cuidados na colheita e na pós-colheita das flores tropicais. Jornada nacional sobre o cultivo de plantas tropicais. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, Campinas, v. 14, n. 1, p. 29-34, 2008.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas herbáceas e trepadeiras**. Nova Odessa: Plantarum, 2001, 1088 p.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005, 495 p.

NDAKIDEMI, P. A., DAKORA, F. D. Legume seed flavonoids and nitrogenous metabolites as signals and protectants in early seedling development. *Funct. Plant Biology*, v. 30, p. 729-745, 2003.

NORTH, J. J. et al. Effects of various media compositions on the *in vitro* germination and discoloration of immature embryos of bird of paradise (*Strelitzia reginae*). **Plant Omics Journal**, v. 4, n. 2, p. 100-113, 2011.

NORTH, J. J et al. Effects of antioxidants, plant growth regulators and wounding on phenolic compound excretion during micropropagation of *Strelitzia reginae*. **International Journal of Physical Sciences**, v. 7, n. 4, p. 638-646, 2012.

PAIVA, P. D. O. et al. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1031-1037, 2004.

PAIVA, P. D. O.; ALMEIDA, E. F. A. **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, 2012. 678 p.

PINHAL, H. F. et al. Aplicações da cultura de tecidos vegetais em fruteiras do Cerrado. **Ciencia Rural**, v. 41, n. 7, p. 1136-1142, 2011.

QUEIROZ, J. R. G.; SILVA, JR., A. C.; MARTINS, D. Herbicide Selectivity in Tropical Ornamental Species. **Planta daninha**, v. 34, n. 4, p. 795-802, 2016.

SANTOS et al. Characterization of genetic diversity of bird-of-paradise accessions.

**Ornamental Horticulture**, v. 24, p. 50-57, 2018.

SILVA, B. M. da S. et al. Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 3, p. 237-245, 2018.

SINGH, R. et al. Advances in Understanding the Role of Growth Regulators in Plant Growth and Development in vitro-III. Inhibitors of Growth Regulators. **Indian Forester**, v. 142, n. 11, p. 1065-1072, 2016.

SMITH, R. **Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments**. 3. ed. [s.l.] Academic Press, 2013.

STASOLLA, C.; THORPE, T. Tissue culture: historical perspectives and applications. In: KUMAR, A.; SOPORY, S. (Ed.). **Applications of Plant Biotechnology**, Dordrecht: The Netherlands Kluwer Academic Publishes, 2011.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6th. Porto Alegre, Artmed, 2017.

VAN DE VENTER, H. A.; SMALL, J.G.C. Evidence for the presence of a germination inhibitor in seeds of *Strelitzia Ait.* **Journal of South African Botany**, v. 41, n. 4, p. 211-223, 1975.

VARGAS-SIMÓN, G. et al. Seed germination in *Ormosia macrocalyx*, an endangered tropical forest tree. **Botanical Sciences**, v. 95, n. 2, p. 329-341, 2017.

VELLVE, R. **Saving the seed**, 1. ed. London: Routledge, 2010.

VENORA, G. et al. Identification of Italian landraces of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using an image analysis system. **Scientia Horticulturae**, v. 121, n. 4, p. 410-418, 2009.

VIEIRA, M. R. S. et al. Genus: *Strelitzia*. **Journal of Horticulture and Forestry**, v. 4, n. 11, p. 178-180, 2012.

XAVIER, J. B. et al. Morphological, chemical and physiological characterization of *Amaranthus spp.* Seeds. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 4, p. 478-487, 2019.

ZIV, M.; HALEVY, A. H. Control of Oxidative Browning and *in vitro* propagation of *Strelitzia reginae*. **HortScience**, v. 18, n. 4, p. 434-436, 1983.

## CAPÍTULO 2: ESCARIFICAÇÃO QUÍMICA E FÍSICA ASSOCIADA À GA<sub>3</sub> NA GERMINAÇÃO *in vitro* DE ESTRELÍCIA

### RESUMO

O cultivo *in vitro* de sementes é uma alternativa viável para aumentar a germinação de estrelícia, visto que pode aliar a diversidade genética, condição asséptica do meio de cultura, o uso de estratégias de promoção da germinação e condições abióticas controladas. Dessa forma, objetivou-se avaliar o uso de escarificação química e física de sementes associado ao GA<sub>3</sub> para otimizar a germinação e estabelecimento *in vitro* de estrelícia. As sementes foram submetidas à escarificação química com ácido sulfúrico em diferentes tempos (10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos) e à escarificação física utilizando lixa, além do controle sem escarificação. Posteriormente, as sementes foram desinfestadas em álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 2,5 % por 15 minutos e lavadas três vezes em água destilada e autoclavada. As sementes foram então inoculadas em meio MS suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,4 g L<sup>-1</sup> de PVP, 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® e 0, 20, 40 e 80 µM de giberelina (GA<sub>3</sub>). As sementes foram mantidas no escuro por 7 dias e depois transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2°C e irradiância de fótons de 36 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Após 15, 30, 45 e 60 dias de cultivo foi avaliada a porcentagem de germinação e aos 60 dias o comprimento da parte aérea (cm) e da raiz principal (cm), número de folhas e sobrevivência (%). Os resultados demonstraram que a maior germinação ocorreu quando as sementes foram escarificadas com ácido sulfúrico por 30 e 40 minutos independente da adição de GA<sub>3</sub> no meio. Aos 60 dias de cultivo *in vitro*, a escarificação física e os tempos de escarificação em ácido sulfúrico (20, 30 e 40 minutos) das sementes promoveram maior comprimento da parte aérea, da raiz e as maiores médias do número de folhas. A maior sobrevivência das plântulas foi observada quando as sementes foram imersas por 30 min. (86,66%) e 40 min. (80%) no ácido sulfúrico sem adição de GA<sub>3</sub>. Após 30 dias de cultivo *in vitro* a germinação estabilizou. Para a germinação *in vitro* recomenda-se a escarificação por 30 minutos em ácido sulfúrico.

**Palavras-chave:** *Strelitzia reginae*. Quebra de dormência. Cultura de tecidos.

## ABSTRACT

The *in vitro* cultivation of seeds is a viable alternative to increase the germination of strelitzia, since it can affect the genetic diversity, the aseptic condition of the culture medium, the use of germination promotion and controlled abiotic conditions. In this context, the objective was to define a germination protocol and *in vitro* strelitzia establishment using chemical and physical scarification, and GA<sub>3</sub> for breaking dormancy. The seeds were subjected to chemical scarification with sulfuric acid using different immersion times (10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes) and physical scarification with sandpaper, in addition to the control without scarification. Subsequently, the seeds were disinfected in 70% alcohol for 30 seconds and 2.5% sodium hypochlorite for 15 minutes and washed three times in distilled and autoclaved water. Then, the seeds were inoculated in MS medium supplemented with 30 g L<sup>-1</sup> of sucrose, 0.4 g L<sup>-1</sup> of PVP, 2.5 g L<sup>-1</sup> of Phytigel<sup>®</sup> and 0, 20, 40 and 80 μM of Gibberellin (GA<sub>3</sub>). The pH was adjusted to 5.8 before autoclaving that was performed at 121°C for 20 min. The seeds were kept in the dark for 7 days and then transferred to a growth room with a 16-hour photoperiod, with a temperature of 25 ± 2°C and photon irradiance of 36 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. After 15, 30, 45 and 60 days of cultivation the percentage of germination was evaluated, and at the 60th day, the length of the aerial part (cm) and the root (cm), number of leaves and survival (%). The *in vitro* results demonstrated that the greatest germination percentage occurred when the seeds were scarified with sulfuric acid for 30 and 40 minutes, regardless of GA<sub>3</sub> addition in the medium. At 60 days *in vitro* cultivation, the physical scarification and the scarification times in sulfuric acid (20, 30 and 40 minutes) of the seeds promoted greater length of the aerial part the root and the highest averages of the number of leaves. The highest seedling survival was observed when the seeds were immersed for 30 min. (86.66%) and 40 min. (80%) in sulfuric acid without the addition of GA<sub>3</sub>. After 30 days of *in vitro* culture, germination stabilized. For *in vitro* germination, scarifying the seeds for 30 minutes in sulfuric acid is recommended.

**Keywords:** Streltzia. Breaking dormancy. Tissue culture.

## 1 INTRODUÇÃO

Entre as principais plantas ornamentais tropicais destacam-se *Alpinia purpurata*, *Strelitzia reginae*, *Heliconia psittacorum* (QUEIROZ; SILVA; MARTINS, 2016). A *Strelitzia reginae* é uma planta monocotiledônea endêmica da África do Sul e tem um potencial hortícola significativo devido às flores marcantes e à demanda do mercado nacional e internacional (PAIVA; ALMEIDA, 2012).

A propagação desta espécie pode ser feita por meio de divisão dos rizomas e por sementes. A planta propagada por divisão de rizomas inicia seu florescimento em 3 anos, porém, neste processo, obtém-se um pequeno número de mudas reproduzidas a partir da planta mãe. A propagação por sementes é facilitada pelo elevado número de frutos deiscentes produzidos por inflorescência, podendo ser de 1 a 6, e de sementes produzidas em cada fruto, 30 em média. No entanto, a maior dificuldade na propagação da estrelícia via semente é o prolongado tempo e o baixo percentual de germinação, devido à presença de dormência física. A planta propagada por sementes inicia seu florescimento entre 4 e 7 anos. Estes fatores evidenciam a necessidade de serem realizados estudos no sentido de se viabilizar a produção comercial de mudas por meio de sementes, sendo necessária a busca de tratamentos eficientes para a superação da dormência e otimizar a germinação (PAIVA; ALMEIDA, 2012, BARBOSA et al., 2005).

Dentre os métodos para superação da dormência física de sementes, a escarificação induz à quebra de dormência permitindo as trocas de água e gases entre as partes componentes da semente e o meio ambiente. Além de facilitar o desenvolvimento do embrião, visto que pode modificar a limitação mecânica. Entre elas está a escarificação química com ácido sulfúrico e escarificação física com lixa (MARCOS FILHO, 2005).

Outro método utilizado é a adição de GA<sub>3</sub> ao meio, pois esse fitorregulador tem a finalidade da quebra de dormência e acelerar a germinação de sementes, além de uniformizar a germinação. As giberelinas, entre outros fins, controlam diversos aspectos da germinação de sementes, incluindo a quebra de dormência, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento, a mobilização das reservas do endosperma e ativação de crescimento vegetativo do embrião (TAIZ et al., 2017).

Diante do exposto, a caracterização morfológica das sementes por análise de imagem utilizando o sistema GroundEye® e análise radiográfica pode ajudar a avaliar a influência de diferentes métodos de quebra de dormência (XAVIER et al., 2019).

Ademais, estudos sobre a quebra de dormência em sementes de estrelícia ainda são

escassos, mas há indicação do uso de reguladores de crescimento (KUMAR et al., 2018; GARCIA et al. 2006) e ácido sulfúrico (BARBOSA et al., 2005), mas a maioria dos estudos não apresentarem resultados conclusivos.

O cultivo *in vitro* pode ser uma alternativa viável para aumentar a germinação de estrelícia, visto que a germinação *in vitro* de sementes pode aliar a diversidade genética presente no novo organismo e a condição asséptica do meio de cultura. Também explorar o uso de estratégias para otimizar a germinação e condições abióticas controladas.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o uso de escarificação química e física associado a GA<sub>3</sub> para a quebra de dormência de sementes de estrelícia e o efeito na germinação e estabelecimento *in vitro*.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Obtenção do material vegetal**

Frutos maduros de estrelícia foram coletados de plantas cultivadas em região de clima mesotérmico ou tropical de altitude, com inverno seco e verão chuvoso, segundo a classificação de Köppen e localizada em 21°22'42.95'' S 44°97'10.07'' O. Em seguida foram levados para o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas para proceder aos tratamentos.

### **2.2 Efeito da escarificação química e física e giberelina na germinação de estrelícia crescimento das plântulas *in vitro*.**

O arilo foi retirado manualmente das sementes. Posteriormente, para a escarificação química as sementes foram submetidas à imersão em ácido sulfúrico P.A. por 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, com posterior lavagem por três vezes com água destilada. Na escarificação física as sementes foram lixadas manualmente com lixa na região oposta onde ocorre a protrusão da radícula (micrópilo). As sementes sem escarificação e escarificadas quimicamente e fisicamente foram mantidas em água destilada por 120 minutos e levadas para câmara de fluxo, onde foram desinfestadas com álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 2,5 % por 15 minutos e posteriormente foram lavadas três vezes em água destilada e autoclavada (adaptado PAIVA et al., 2004). As sementes foram inoculadas em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com 30 g L<sup>-1</sup> de sacarose, 0,4 g L<sup>-1</sup> de PVP, 2,5 g L<sup>-1</sup> de Phytigel® (PAIVA et al., 2004), e GA<sub>3</sub> nas concentrações 0, 20, 40 e 80 µM. O pH foi ajustado para 5,8 antes da autoclavagem realizada a 121°C por 20 minutos.

Após a inoculação, as sementes foram mantidas no escuro por 7 dias e depois transferidas para sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

Após 15, 30 e 45 e 60 dias da inoculação foi avaliada a porcentagem de germinação. E aos 60 dias, a porcentagem de sobrevivência, comprimento da parte aérea (cm), comprimento da principal raiz (cm) e número de folhas.

### **2.3 Análise de imagens de sementes de estrelicia submetidas à escarificação química e física**

As sementes foram submetidas à imersão em ácido sulfúrico P.A. para escarificação química por 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, com posterior lavagem três vezes com água destilada. Na escarificação física as sementes foram lixadas manualmente com lixa na região oposta onde ocorre a protrusão da radícula (micrópilo).

Em seguida, as sementes escarificadas quimicamente e fisicamente, além das sementes sem escarificação foram caracterizadas por análise de imagem utilizando o sistema GroundEye® e análise radiográfica. Para essas análises foram utilizadas quinze repetições para cada tratamento.

As sementes foram colocadas na bandeja do dispositivo de leitura do sistema GroundEye® v. S120 para captura de imagem. Posteriormente, foi realizada a configuração da análise para a calibração das cores de fundo e foi utilizado o modelo de cores CIELab, com índice de luminosidade de 0 a 100, dimensão a de -15,6 a 44,4 e dimensão b de -58,7 a -18,7. Após a calibração da cor de fundo, foi realizada a análise das imagens e as características de dominância da cor foram extraídas.

Essas sementes foram fixadas em folhas de acetato, transparente com fita dupla face e submetidas à análise radiográfica. Uma intensidade de radiação de 35 Kv e tempo de exposição das sementes aos raios X por 19 segundos foram utilizados para calibração do equipamento. As imagens foram obtidas para observar a viabilidade das sementes.

### **2.4 Análises estatísticas**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos, as médias foram comparadas pelo teste de Skott-knott (5%). As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância (FERREIRA, 2014).

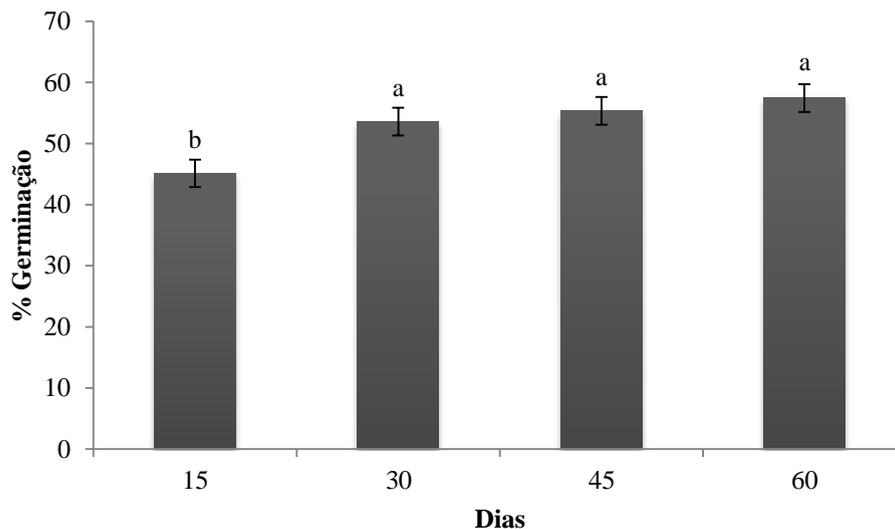
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Efeito da escarificação química e física e GA<sub>3</sub> na germinação de estrelícia e crescimento das plântulas *in vitro*.

Não foi observado a interação entre tempo de cultivo, escarificação e GA<sub>3</sub> na germinação.

Maior germinação, 53,57%, ocorreu após 30 dias. Após esse período foi observado um pequeno aumento, porém não significativo estatisticamente. Entre 15 e 30 dias, a diferença foi de 8,49% e, após, com 45 e 60 dias houve aumento de 10,25% e 12,35% respectivamente (FIGURA 2), demonstrando que a germinação até 30 dias é que deve ser considerada, não havendo incremento significativo com o tempo.

Figura 2 - Porcentagem de germinação *in vitro* de sementes de estrelícia em função do tempo de cultivo.



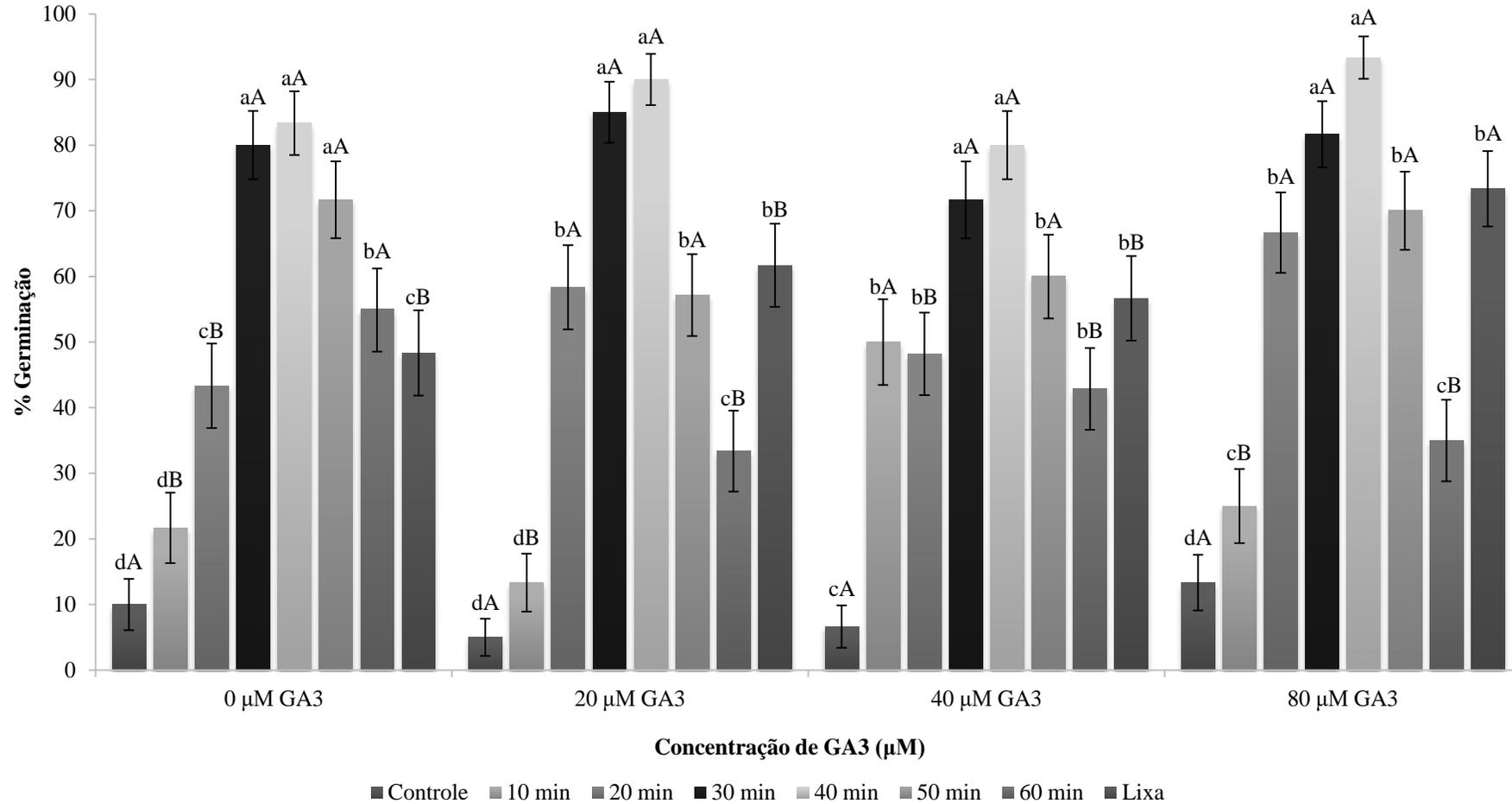
Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Resultados semelhantes também foram encontrados para *Rhipsalis neves-armondii*, que estabilizou a germinação após 30 dias (CURY; RANDI; SANTOS, 2018). Porém, para estrelícia, foi verificado que o menor tempo para germinação foi 43 dias (BARBOSA et al., 2005). Dessa forma os métodos utilizados no presente trabalho foram mais eficientes, permitindo que a maior porcentagem de germinação (53,57%) fosse alcançada em 30 dias.

Para a interação escarificação e concentrações de GA<sub>3</sub>, de maneira geral, a germinação aumentou com o tempo de ácido sulfúrico até 30 e 40 minutos, posteriormente a germinação

diminuiu com o aumento do tempo de escarificação com ácido em todas as concentrações de GA<sub>3</sub>. Diante disso, as maiores porcentagens de germinação foram observadas principalmente nos tempos na escarificação química em ácido sulfúrico por 30 e 40 min. em todas as concentrações de GA<sub>3</sub>. A escarificação por 50 minutos também proporcionou maior porcentagem de germinação em todas as concentrações, porém quando o meio foi suplementado com GA<sub>3</sub> a germinação não foi maior que os tempos de 30 e 40 minutos no ácido (FIGURA 3).

Figura 3 - Porcentagem de germinação *in vitro* de estrelícia em função da escarificação química e física das sementes e diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.



Os dados são expressos como média ± erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si para escarificação das sementes e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si para a concentração de GA<sub>3</sub> pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

O tratamento controle, sem escarificação apresentou baixa germinação, mesmo quando o GA<sub>3</sub> foi adicionado no meio. Na ausência de GA<sub>3</sub> a escarificação química por 30 minutos proporcionou 80% de germinação e 40 minutos 83,33%, não diferindo entre si, sendo considerados os melhores tratamentos pelo menor tempo de exposição ao ácido sulfúrico e a não utilização de GA<sub>3</sub> (FIGURA 3). Isso supõe que a dormência de estrelícia é somente física e pode ser quebrada utilizando ácido sulfúrico.

A escarificação física nas sementes de estrelícia utilizando lixa apresentou 73,33% de germinação quando adicionado 80 µM de GA<sub>3</sub> ao meio de cultivo, sendo esta a maior porcentagem de germinação para a escarificação física. Já as sementes lixadas e inoculadas no meio de cultura suplementado com menores concentrações de GA<sub>3</sub> (20 e 40 µM) e sem o GA<sub>3</sub> apresentaram menor porcentagem de germinação (FIGURA 3). Assim, para aumentar a germinação de estrelícia utilizando escarificação física, é necessária uma maior concentração de GA<sub>3</sub> porque menores concentrações não foram suficientes, provavelmente porque ao lixar as sementes pode ter causado danos ao endosperma e a giberelina endógena não foi suficiente. Provavelmente, foi necessária uma maior concentração exógena de GA<sub>3</sub> para desempenhar o papel, por exemplo, de estimular a síntese de enzimas como α e β-amilase que degradam as reservas armazenadas no endosperma, formando açúcares, aminoácidos e ácidos nucleicos, que são absorvidos e transportados para as regiões de crescimento do embrião, estimulando o alongamento celular, fazendo com que a raiz rompa o tegumento da semente, acelerando a germinação (SILVA; FERREIRA; FERREIRA, 2002).

Apesar das sementes escarificadas com lixa mais 80 µM de GA<sub>3</sub> apresentarem 73,33% de germinação, a escarificação física ainda foi menos eficiente que a escarificação química nos tempos 30 e 40 minutos em ácido sulfúrico. Essa menor germinação provavelmente ocorreu devido as sementes serem lixadas manualmente o que pode ter danificado alguns embriões ou à falta de uniformidade.

Observou-se que a escarificação química no menor tempo de ácido sulfúrico (10 minutos) assim como o maior tempo (60 minutos) mostraram pouco eficientes para a germinação de estrelícia mesmo com a suplementação de GA<sub>3</sub>. Quando as sementes foram escarificadas por 10 minutos sem suplementação de GA<sub>3</sub> e com suplementação de 20 µM apresentaram menor germinação do que a suplementação de 40 µM, e quando aumentou para 80 µM de GA<sub>3</sub> a porcentagem de germinação diminuiu (FIGURA 3). Isso mostra que em 10 minutos de ácido sulfúrico uma menor concentração pode não ter sido suficiente.

De maneira semelhante, 60 minutos no ácido e sem GA<sub>3</sub> as sementes apresentaram

maior germinação do que as sementes que no meio foi adicionado GA<sub>3</sub>, evidenciando que no maior tempo de ácido o GA<sub>3</sub> pode ser tóxico, visto que maior tempo no ácido sulfúrico deixou as sementes mais expostas e o GA<sub>3</sub> pode ter sido absorvido mais rapidamente o que pode ter sido prejudicial para a germinação. Contudo, o ácido sulfúrico no menor tempo testado (10 min.) pode não ser efetivo na quebra da dormência e no maior tempo testado pode ser prejudicial às sementes. Sementes expostas ao ácido sulfúrico por curto período de tempo pode ser ineficiente para aumentar a germinação, enquanto prolongar o período de exposição pode afetar viabilidade das sementes (MARTÍN; GUERRERO, 2014).

Os estudos sobre germinação *ex vitro* de estrelícia mostraram baixa porcentagem de germinação em sementes escarificadas com ácido sulfúrico. Foi observado aproximadamente 38% de germinação quando se utilizou 9 minutos de ácido sulfúrico nas sementes germinadas em papel toalha e 47% de germinação em casa de vegetação quando se utilizou 7 minutos de imersão (BARBOSA et al., 2005).

Porém, o cultivo *in vitro* proporcionou alta porcentagem de germinação com sementes escarificadas por maiores tempo 30 e 40 minutos em ácido sulfúrico, provavelmente porque o ácido sulfúrico nestes tempos de imersão foi o responsável por permitir a permeabilidade da água, gases e facilitar o desenvolvimento do embrião, visto que pode ter causado injúrias ao tegumento, além de provavelmente ter amolecido o endosperma. O tegumento é considerado o principal modulador das interações entre as partes componentes da semente e o meio ambiente, especialmente no que diz respeito a trocas de água e gases e limitação mecânica do embrião. Causar danos a este tegumento pode permitir todas essas trocas que impossibilitam a germinação e desenvolvimento (MARCOS FILHO, 2005), além de possibilitar o crescimento do embrião.

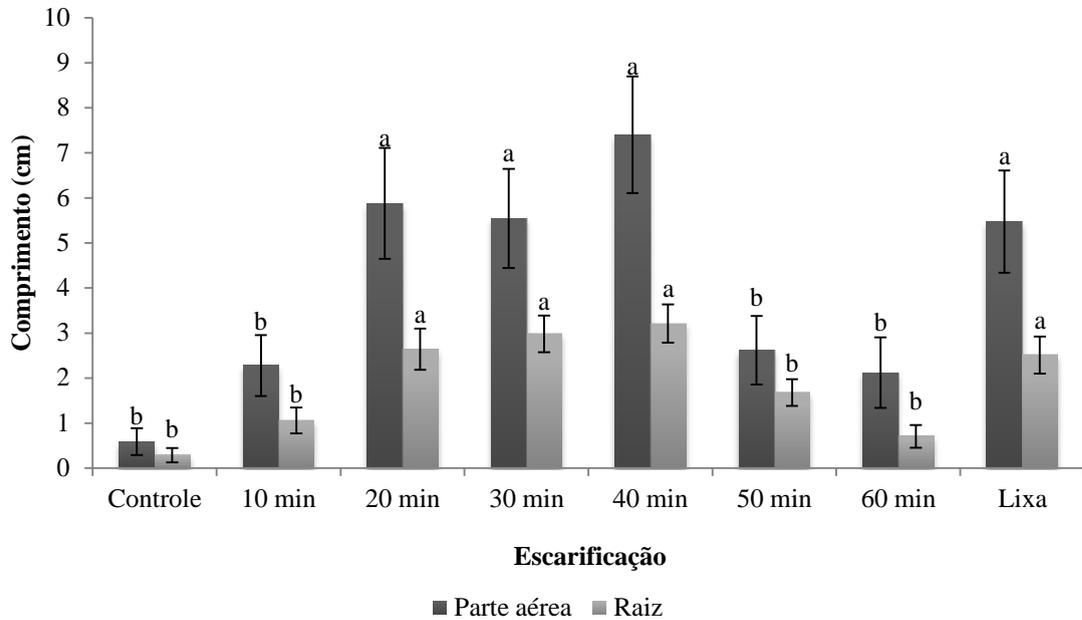
Dessa forma, o GA<sub>3</sub> não foi necessário para quebrar a dormência e aumentar a germinação, o que contradiz com um trabalho onde sementes de estrelícia foram germinadas em papel toalha. Sementes que permaneceram na concentração de 750 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub> por 24h apresentaram 78,10% de germinação (KUMAR et al., 2018). Mas assim como visto para a estrelícia, que aumentou a porcentagem de germinação na escarificação por 30, 40 e 50 minutos sem GA<sub>3</sub>, o uso de GA<sub>3</sub> não proporcionou maiores taxas de germinação em *Tabernaemontana catharinensis*, pois a dormência desta espécie, segundo os autores, pode ser devido ao tegumento impermeável que não foi alterado pelo GA<sub>3</sub> (AFONSO et al., 2018).

Maior porcentagem de germinação de *Mucuna bracteata* ocorreu em sementes submersas por 30 minutos no ácido sulfúrico e embebidas por 6h. Menor tempo de escarificação também não foi eficiente para esta espécie (ABD AZIZ et al., 2018). Porém,

cada espécie pode demandar período específico de escarificação das sementes com ácido sulfúrico, resultado da diferença na espessura e constituição química do tegumento da semente de cada espécie (SILVA et al., 2018; BRANCALION; MONDO; NOVENBRE, 2011), pois para *Bowdichia virgilioides* em 5 minutos no ácido sulfúrico foi suficiente para aumentar a germinação (MOURA et al., 2014).

Para a parte aérea, raiz e número de folhas estes também foram afetados pela escarificação isoladamente, não sendo estatisticamente significativa nenhuma interação entre as variáveis testadas. A escarificação física e os tempos de escarificação 20, 30 e 40 minutos em ácido sulfúrico promoveram os maiores comprimentos da parte aérea, 5,47, 5,88, 5,54 e 7,4 cm, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si (FIGURA 4). Maior formação de raízes foi observada quando se utilizou a escarificação química nos mesmos tempos para as maiores médias da parte aérea (20, 30 e 40 minutos) e também utilizando lixa, 2,51, 2,64, 2,98, 3,21, 2,51 cm, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si (FIGURA 4).

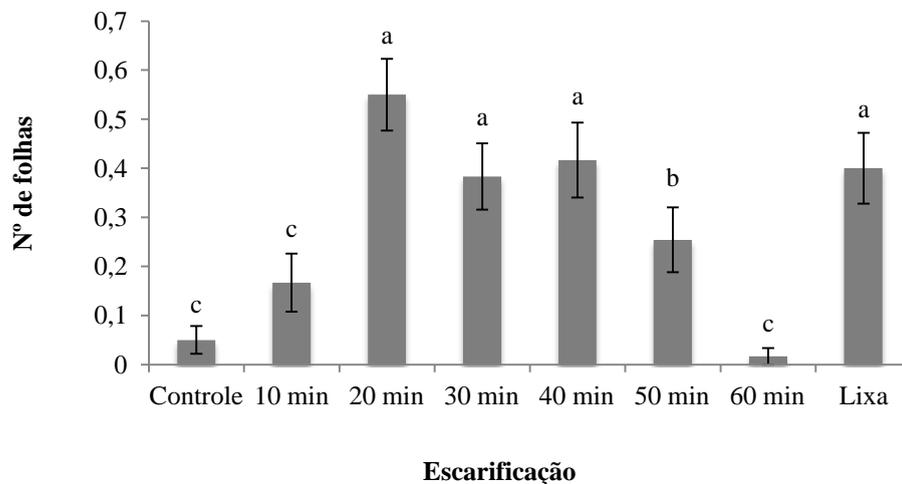
Figura 4: Comprimento da parte aérea e da maior raiz aos 60 dias de cultivo *in vitro* em função da escarificação química e física das sementes de estrelícia.



Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

As maiores médias do número de folhas formadas foram observadas nas brotações das sementes que receberam escarificação física (lixa) (0,4 folhas) e escarificação química com ácido sulfúrico por 20, 30 e 40 minutos (0,55, 0,39 e 0,42 respectivamente) (FIGURA 5), assim como os resultados encontrados para o comprimento da parte aérea e da raiz principal.

Figura 5 - Número de folhas de estrelícia em função da escarificação química e física das sementes de estrelícia, após 60 dias de cultivo *in vitro*.

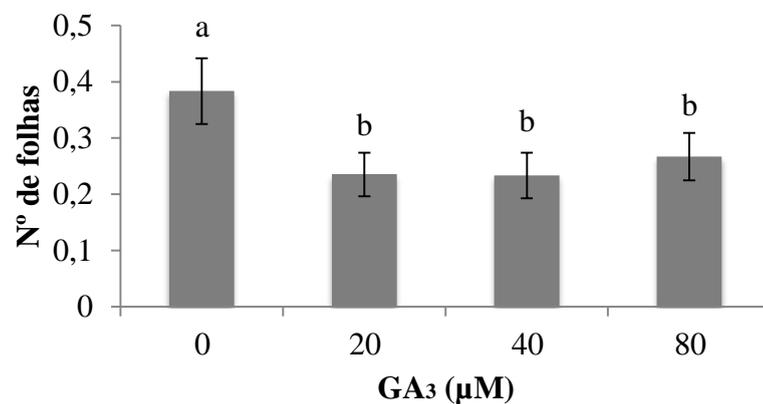


Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Diante do exposto, para o comprimento da parte aérea, da principal raiz e para a formação de folhas, a escarificação com lixa produz o mesmo efeito que 20, 30 e 40 minutos no ácido, porém demanda mais trabalho.

O número de folhas foi afetado pela concentração de GA<sub>3</sub> isoladamente. Maior número de folhas foi alcançado na ausência de GA<sub>3</sub> (FIGURA 6).

Figura 6 - Número de folhas em função de diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, após 60 dias de cultivo *in vitro*.



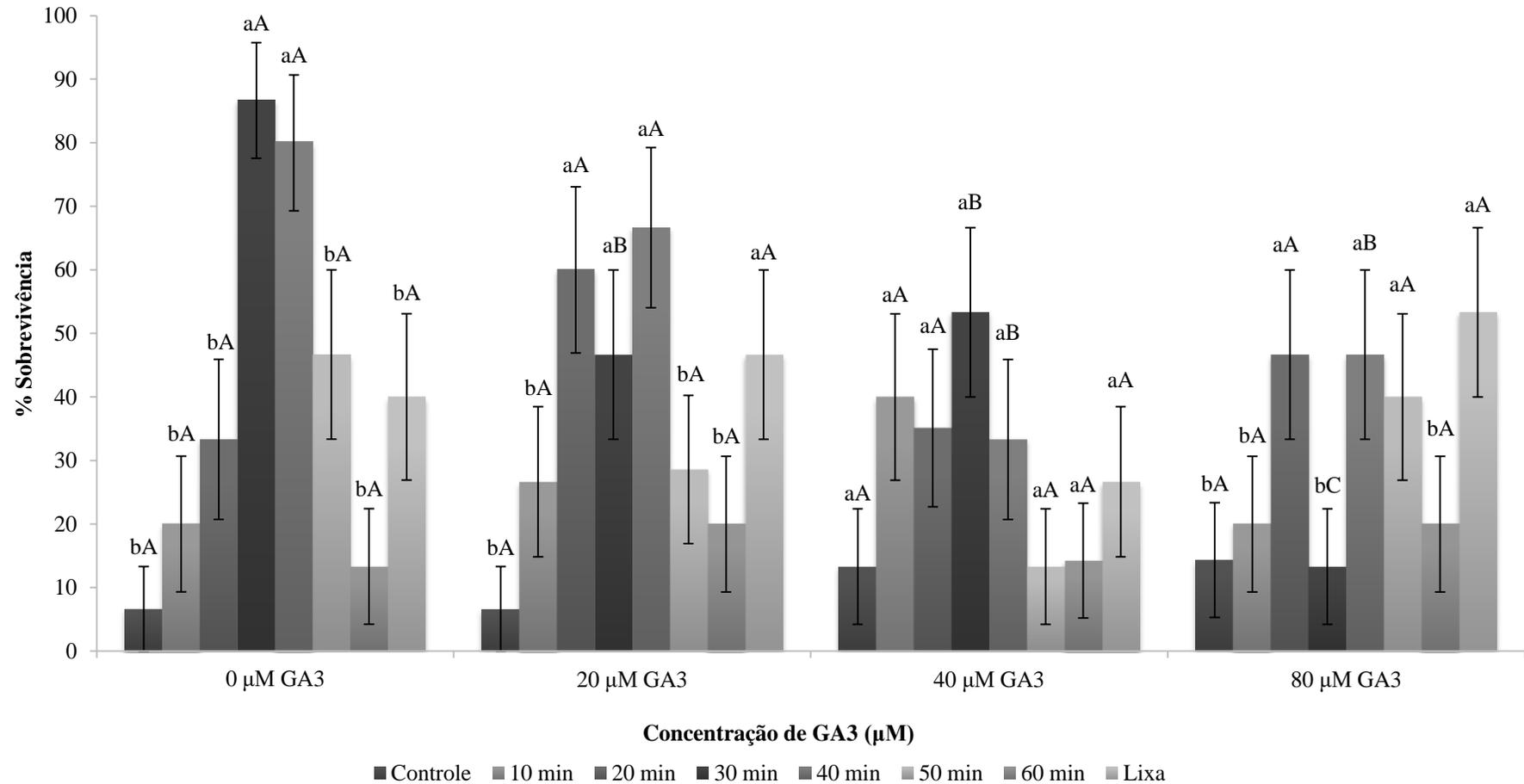
Os dados são espessos como média  $\pm$  erro padrão (barra). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

A quantidade de GA<sub>3</sub> utilizada proporcionou menor média de folhas comparada ao controle, provavelmente porque o GA influencia o crescimento da planta, aumenta tanto o alongamento quanto a divisão celular e aumentando a distância entrenós, mas não tem efeito no número de folhas (TAIZ et al., 2017).

Dessa forma, para o desenvolvimento das plântulas de estrelícia a utilização de 30 e 40 minutos no ácido sulfúrico apresenta melhor resposta, visto que são os mesmos tempos utilizados para aumentar a germinação.

Quanto à sobrevivência, foi observado a interação, escarificação e GA<sub>3</sub>, assim como na germinação. A sobrevivência das plântulas após 60 dias de cultivo foi maior com a escarificação por 30 e 40 minutos sem GA<sub>3</sub> com 86,66% e 80% respectivamente, estas não diferindo entre si. Em 30 minutos, quando GA<sub>3</sub> foi adicionado ao meio a sobrevivência diminuiu 40%, não sendo satisfatório o efeito do GA<sub>3</sub>. De maneira semelhante, em 40 minutos a partir de 40 µM de GA<sub>3</sub> a porcentagem de sobrevivência também foi menor, diminuindo 26,67% (FIGURA 7).

Figura 7 - Porcentagem de sobrevivência de estrelícia em função da escarificação química e física e diferentes concentrações de GA<sub>3</sub> após 60 dias de cultivo *in vitro*.

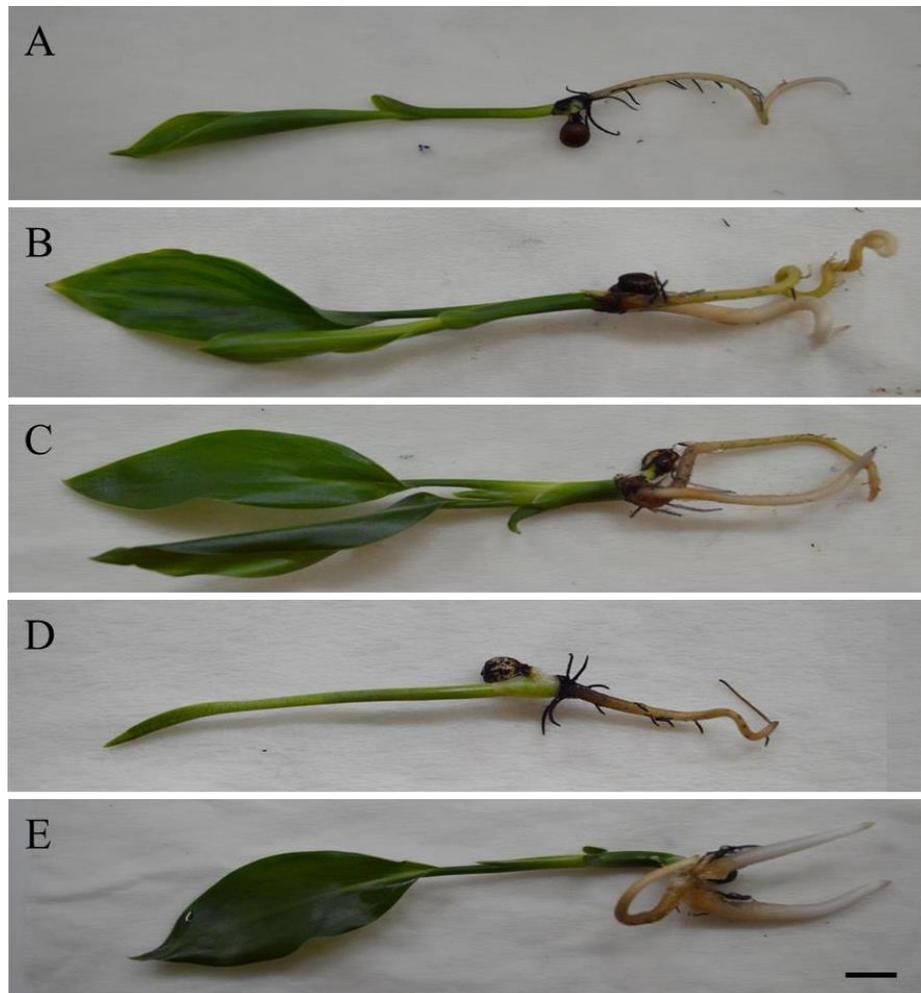


Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si para escarificação das sementes e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si para a concentração de GA<sub>3</sub> pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

O ácido sulfúrico quando não utilizado no tempo adequado para cada espécie pode ser prejudicial, visto que para estrelícia menor tempo no ácido sulfúrico não foi eficiente e maior tempo no ácido sulfúrico foi danoso. Em plântulas de *Bowdichia virgilioides* desenvolvidas a partir de sementes escarificadas com ácido sulfúrico apresentaram 100% de sobrevivência (MOURA et al., 2014).

Contudo, o método mais eficiente para aumentar a porcentagem de germinação, comprimento da plântula, número de folhas e sobrevivência é a não utilização do GA<sub>3</sub>, mas utilizando escarificação com ácido sulfúrico por 30 e 40 minutos (FIGURA 8B e C) comparado com o controle (FIGURA 8A). A escarificação por 50 minutos (FIGURA 8D) também pode ser utilizada para aumentar a germinação. O uso de lixa para escarificação aumenta o número de folhas e comprimento da plântula e adicionando 80 µM de GA<sub>3</sub> aumenta a porcentagem de germinação (FIGURA 8E).

Figura 8 - Plântulas de estrelícia aos 60 dias de cultivo *in vitro*.



(A) Controle + 0 GA<sub>3</sub>. (B) 30 minutos de ácido sulfúrico + 0 μM de GA<sub>3</sub>. (C) 40 minutos de ácido sulfúrico + 0 μM de GA<sub>3</sub>. (D) 50 minutos de ácido sulfúrico + 0 μM de GA<sub>3</sub>. (E) Lixa + 80 μM de GA<sub>3</sub>. Barra 1 cm.

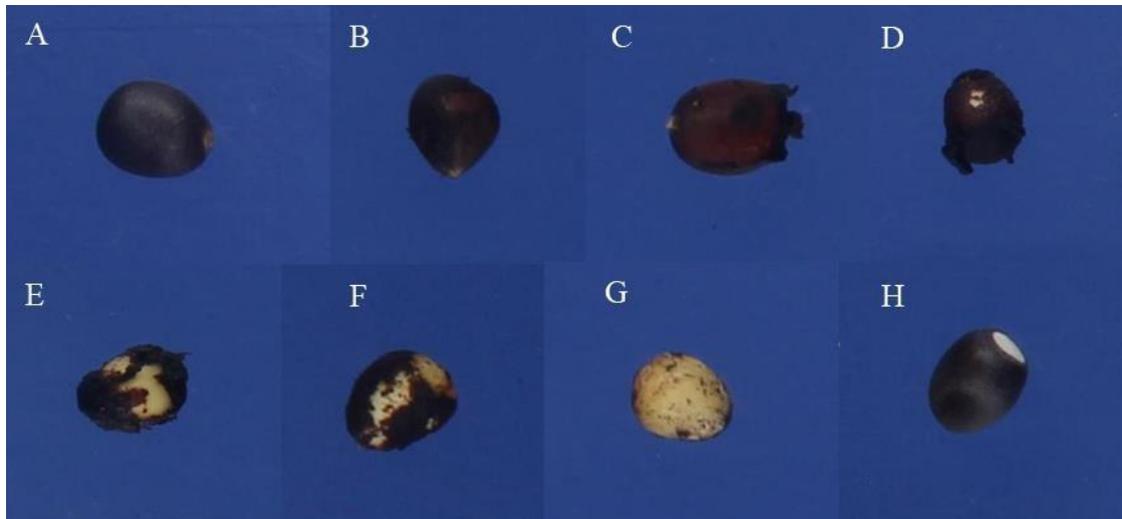
Fonte: Da autora (2020).

Todavia, estes tratamentos não são mais eficientes e viáveis em comparação com a utilização de 30 e 40 minutos de ácido sem a suplementação do GA<sub>3</sub>.

### 3.2 Análise de imagens de sementes de estrelícia submetidas à escarificação química e física

Na análise no GroundEye® as sementes apresentaram variações na cor, onde a cor preta foi predominante em todos os tratamentos (FIGURA 9).

Figura 9: Variação de cor nas sementes de estrelícia observadas por imagem no GroundEye®.



(A) Sementes sem escarificação. (B) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 10 minutos. (C) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 20 minutos. (D) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 30 minutos. (E) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 40 minutos. (F) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 50 minutos. (G) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 60 minutos. (H) Sementes escarificadas com lixa.

A partir da escarificação em 10 minutos até 60 minutos no ácido sulfúrico a porcentagem de cor preta decresceu 98,89; 98,88; 98,41; 95,24; 76,51; 59,59% e as sementes escarificadas quimicamente apresentaram outras cores, provavelmente porque o ácido causou danos no tegumento (TABELA 1).

Tabela 1 – Porcentagem da variação de cor nas sementes de estrelícia obtidas no GroundEye®.

Característica: cor	Escarificação							
	Controle	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	Lixa
Preta	88,72	98,89	98,88	98,41	95,24	76,51	59,59	83,42
Celestial	1,12	0,07	0	0	0	0	0	1,32
Cinza clara	0	0	0	0	0	0,05	0,13	2,56
Vermelha	0	0	0,48	0,47	0,58	0,96	1,86	0
Laranja	0,74	0,26	0,15	0,78	2,23	17,32	30,28	1,38
Rosa	0	0	0,16	0,05	0	0	0	0
Ciano	0	0	0	0	0	0	0	0,04

Fonte: Da autora (2020).

O tratamento controle mostrou menor porcentagem da cor preta (88,72%), porém maior porcentagem da cor celestial (1,12%), Assim como na escarificação com lixa que apresentou 83,42% da cor preta e 1,32% de cor celestial, provavelmente devido ao contraste

da cera ainda presente nas sementes sem escarificação química. As sementes submetidas a 10 minutos no ácido também apresentaram a cor celestial (0,07%), mas com menor porcentagem que as sementes do tratamento controle e da lixa, provavelmente porque 10 minutos no ácido sulfúrico não foi suficiente para retirar toda a cera da semente. A escarificação com ácido em 20, 30, 40, 50 e 60 minutos não apresentou a cor celestial.

Já a cor cinza clara foi observada nas sementes escarificadas por 50 (0,05%) e 60 minutos (0,13%), além das sementes lixadas (2,56%). Isso ocorreu porque nestas sementes o tegumento foi retirado em partes ou quase totalmente devido à escarificação e então mostrou uma coloração identificada como cinza clara.

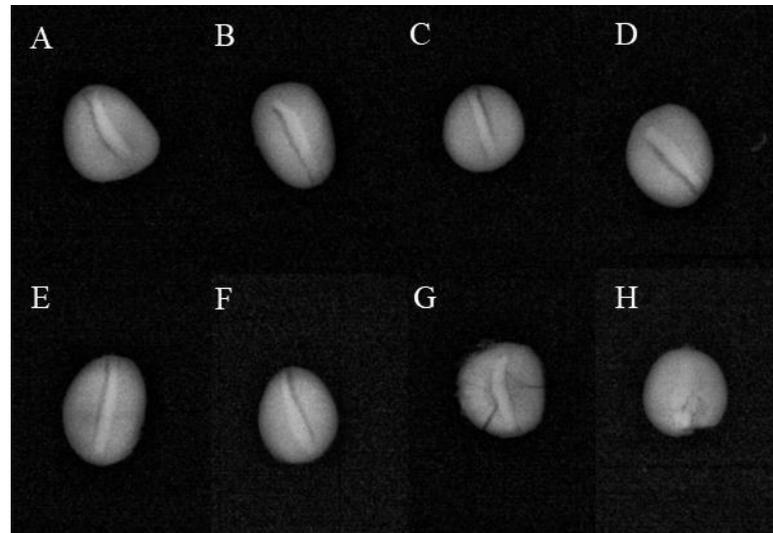
A cor vermelha foi observada nas sementes escarificadas por 20, 30, 40, 50 e 60 minutos (0,48; 0,47; 0,58; 0,96; 1,86% respectivamente). De maneira geral a cor vermelha aumentou com o tempo de escarificação enquanto a porcentagem da cor preta diminuiu. De forma parecida foi observada a porcentagem da cor laranja, que aumentou com o aumento do tempo no ácido sulfúrico. Contudo, no tempo de 20 minutos, a porcentagem da cor laranja foi menor (0,15%), porém a cor rosa foi observada neste tempo de escarificação apresentando 0,16%, o que mostra que a escarificação por 20 minutos proporcionou às sementes uma combinação das cores vermelha (0,48%), laranja (0,15%) e rosa (0,16%). As sementes escarificadas por 30 minutos também apresentaram porcentagem da cor rosa (0,05%).

Somente as sementes submetidas à escarificação física demonstraram uma coloração denominada ciano (0,04%), provavelmente devido ao efeito da lixa que retirou o tegumento na região oposta à protrusão da radícula.

Dessa forma, as maiores porcentagens de germinação foram observadas quando as sementes diminuíram a porcentagem da cor preta e aumentaram as cores que representam a retirada do tegumento, o qual é um dos motivos da dormência nas sementes de estrelícia. Porém, em 60 minutos, onde a variação da cor foi extrema foi o mesmo tempo que não foi eficiente para aumentar a germinação. Contudo, a caracterização da colocação das sementes de estrelícia pode indicar o que a escarificação, principalmente química, faz com as sementes, principalmente no tegumento.

Na análise radiográfica realizada com sementes escarificadas e sementes sem escarificação foi observado que algumas sementes escarificadas por 60 minutos estavam trincadas (FIGURA 10).

Figura 10 - Imagens das sementes de estrelícia obtidas no aparelho de raio X.



(A) Sementes sem escarificação. (B) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 10 minutos. (C) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 20 minutos. (D) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 30 minutos. (E) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 40 minutos. (F) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 50 minutos. (G) Sementes escarificadas com ácido sulfúrico por 60 minutos. (H) Sementes escarificadas com lixa.

A escarificação com ácido sulfúrico por 60 minutos danificou as sementes e prejudicou a germinação de estrelícia, visto que, o ácido pode penetrar nas células das sementes (CHO; LEE, 2018) e pode afetar a viabilidade das sementes (MARTÍN; GUERRERO, 2014).

Algumas sementes que passaram pela escarificação por lixa demonstraram que possivelmente ocorreu danos ao embrião na parte lixada, o que pode ter causado a inviabilidade de alguns embriões, visto que a escarificação física severa a ponto de provocar injúrias à semente, principalmente ao embrião, pode provocar a inviabilidade destes (MARCOS FILHO, 2005). E como a escarificação física foi manual provavelmente somente alguns embriões foram afetados.

As demais sementes submetidas aos outros tratamentos não mostraram diferença visuais na análise radiográfica (FIGURA 10).

#### 4 CONCLUSÕES

O uso de escarificação química com ácido sulfúrico por 30 minutos proporciona maior germinação de sementes de estrelícia *in vitro*, maior crescimento das plântulas e maior sobrevivência.

## REFERÊNCIAS

- ABD AZIZ, et al. Efficient micropropagation protocol and genome size estimation of an important cover crop, *Mucuna bracteata* DC. ex Kurz. **Plant Cell, Tissue Organ Culture**, v. 132, p. 267-278, 2018.
- AFONSO, M. V. et al. Germinação *in vitro* de sementes e parâmetros morfofisiológicos de microestacas de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. **Iheringia, Série Botânica**, v. 73, n. 1, p. 39-45, 2018.
- BARBOSA, J. G. et al. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p.71-77, 2005.
- BRANCALION, P. H. S.; MONDO, V. H. V.; NOVENBRE, A. D. L. C. Escarificação química para a superação da dormência de sementes de saguaraji-vermelho (*Colubrina glandulosa* Perk. - Rhamnaceae). **Revista Árvore**, v. 35, n. 1, p. 119-124, 2011.
- CHO, J. S.; LEE, C. H. Effect of germination and water absorption on scarification and stratification of kousa dogwood seed. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 59, p. 335–344, 2018.
- CURY, R. K.; RANDI, A. M.; SANTOS, M. Germinação, desenvolvimento inicial e morfoanatomia de cactáceas epifíticas. **Rodriguésia**, v. 69, n. 4, p. 2119-2135, 2018.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- KUMAR, S. S. et al. Effect of growth regulators on seed germination of bird of paradise [*Strelitzia reginae* L.]. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 7, n. 1, p. 101-104, 2018.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005, 495 p.
- MARTÍN, I. GUERRERO, M. Effect of sulphuric acid scarification on seed accessions of cluster clover (*Trifolium glomeratum*) stored in a genebank. **Seed Science Technology**. v. 42, p. 293-299, 2014.
- MOURA, L. C. et al. Germinação *in vitro* e aclimação de plântulas de sucupira-preta (*Bowdichiavirgilioides* Kunth.). **Bioscience Journal**. v. 30, n. 5, 2014.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473–497, 1962.
- PAIVA, P. D. O. et al. Estabelecimento *in vitro* de estrelícia (*Strelitzia reginae* Banks.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 5, p. 1031-1037, 2004.
- PAIVA, P. D. O.; ALMEIDA, E. F. A. **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, 2012. 678 p.

QUEIROZ, J. R. G.; SILVA, JR., A. C.; MARTINS, D. Herbicide Selectivity in Tropical Ornamental Species. **Planta Daninha**, v. 34, n. 4, p. 795-802, 2016.

SILVA, A. A. da; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R. **Biologia e controle de plantas daninhas**. Viçosa: DFT/UFV, 2002.

SILVA, B. M. da S. et al. Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 3, p. 237-245, 2018.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6th. Porto Alegre, Artmed, 2017.

XAVIER, J. B. et al. Morphological, chemical and physiological characterization of *Amaranthus spp.* Seeds. **Journal of Seed Science**. v. 41, n. 4, p. 478-487, 2019.

### **CAPÍTULO 3: APLICAÇÃO DE GA<sub>3</sub> E ESCARIFICAÇÃO PARA ESTIMULAR A GERMINAÇÃO *ex vitro* DE ESTRELÍCIA**

#### **RESUMO**

A propagação de estrelícia pode ser através de divisões de touceiras que proporciona pequeno número de mudas e por sementes. A germinação de sementes de estrelícia apresenta baixa porcentagem de germinação. Dessa forma, objetivou-se avaliar a aplicação de escarificação química e física, e uso de GA<sub>3</sub> para a quebra de dormência e germinação *ex vitro* de estrelícia. As sementes foram submetidas à escarificação química pela imersão em ácido sulfúrico em diferentes tempos (10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos) e à escarificação física utilizando lixa, além de um controle sem escarificação. As sementes foram plantadas em tubetes com substrato comercial Tropstrato® a 2 cm de profundidade e irrigadas com solução de GA<sub>3</sub> nas concentrações 0, 25, 50 e 100 µM a cada 15 dias. A cada 2 dias procedeu-se a irrigação com água destilada até a capacidade de campo. Após o plantio, as sementes foram mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2 °C com irradiância de fótons de 76 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Após 30, 45 e 60 dias do plantio foi avaliada a porcentagem de germinação. Aos 60 dias foi avaliado o comprimento da parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm), número de folhas e sobrevivência (%). A maior porcentagem de germinação foi nas sementes não escarificadas e tratadas com 100 µM de GA<sub>3</sub> (62,22%), Aos 60 dias de cultivo foi observada a maior germinação (66,66%) nas sementes não escarificadas, não diferindo das sementes submersas por 10 minutos aos 60 dias (56,66%). O maior comprimento da parte aérea (7,52 cm) e a maior média do número de folhas (0,66) foram observados nas sementes não escarificadas e irrigadas com 100 µM de GA<sub>3</sub>. As raízes foram maiores quando não houve escarificação (4,3 cm) não diferindo das sementes escarificadas por 10 minutos (4,2 cm). A sobrevivência das plântulas foi maior quando não houve escarificação (66,66%). Assim recomenda-se para a germinação *ex vitro* de estrelícia irrigação de 100 µM de GA<sub>3</sub> a cada 15 dias por um período de 60 dias.

**Palavras-chave:** Ornamental. Ácido sulfúrico. Giberelina.

## ABSTRACT

The strelitzia propagation can be done through splitting clumps providing a small number of seedlings, and by seeds. The germination of strelitzia seeds has a low percentage of germination. Thus, the objective was to evaluate the application of chemical and physical, and a germination protocol and *ex vitro* establishment of strelitzia using chemical and the use of GA<sub>3</sub> for breaking dormancy and *ex vitro* strelitzia germination. The seeds were subjected to chemical scarification with sulfuric acid at different times (10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes) and physical scarification with sandpaper, in addition to the control treatment. The seeds were planted in plastic tubes with a commercial substrate Tropstrato<sup>®</sup>, 2 cm deeper and irrigated with 0, 25, 50 and 100 μM GA<sub>3</sub> concentrations solution every 15 days. Every 2 days, the seeds were irrigated with distilled water. After planting, the seeds were kept in a growth room with a 16-hour photoperiod, temperature of  $25 \pm 2$  ° C and photon irradiance of  $76 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . After 30, 45 and 60 days after planting, the germination percentage was evaluated. At the 60th day, shoot length (cm), root length (cm), number of leaves and survival (%) were evaluated. The highest percentage of germination was observed in non-scarified seeds irrigated with 100 μM GA<sub>3</sub> (62.22%), not differing statistically from seeds scarified with sulfuric acid for 10 minutes with 50 μM GA<sub>3</sub> (56.66%). In addition, the same period of time, the highest germination (66.66%) was obtained in non-scarified seeds, also not statistically difference from seeds submerged for 10 minutes after 60 days (56.66%). The largest shoot length (7.52 cm) and the highest average number of leaves (0.66) were observed in the non-scarified seeds irrigated with 100 μM of GA<sub>3</sub>. The roots were bigger when there was no scarification (4.3 cm), not differing from the scarified seeds for 10 minutes (4.2 cm). Seedling survival was higher when there was no scarification (66.66%). Thus, it is recommended for the *ex vitro* germination irrigation of 100 μM GA<sub>3</sub> every 15 days for a period of 60 days.

**Keywords:** Ornamental. Sulfuric acid. Gibberellin.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, há um aumento no interesse por culturas tropicais e exóticas como espécies da família *Strelitziaceae*. Dentre essas, a *Strelitzia reginae* (estrelícia), espécie mais importante dentre as cinco do gênero *Strelitzia*, apresenta grande potencial para cultivo. Além de características favoráveis para a comercialização como à alta durabilidade pós-colheita e também por ser amplamente utilizada no paisagismo em parques e jardins e como flores de corte para arranjos (SANTOS et al., 2018; VIEIRA et al., 2012).

A propagação desta espécie pode ser feita por meio de divisão dos rizomas e por sementes. A planta propagada por divisão de rizomas inicia seu florescimento em 3 anos, porém, neste processo obtém-se um pequeno número de mudas. Na propagação por sementes a baixa taxa de germinação é o principal fator limitante dessa espécie para produção e cultivo em larga escala (PAIVA; ALMEIDA, 2012; BARBOSA et al., 2005).

A germinação de sementes pode ser controlada por muitos fatores (TAIZ et al., 2017), impermeabilidade do tegumento e endosperma rígido são dois fatores que promovem a dormência nas sementes de estrelícia (PAIVA; ALMEIDA, 2012).

A giberelina é um fitorregulador que pode proporcionar a quebra da dormência física, pois entre outros fins, controlam diversos aspectos da germinação de sementes, incluindo a quebra de dormência, o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião e restringe seu crescimento, a mobilização das reservas do endosperma e ativação de crescimento vegetativo do embrião (TAIZ et al., 2017). Assim, a aplicação de giberelinas pode aumentar a porcentagem de germinação em estrelícia. Já o tegumento rígido das sementes pode ser revertido através de métodos que causam danos ou rompem o tegumento permitindo as trocas (MARCOS FILHO, 2005) e aumentando também a porcentagem de germinação de estrelícia.

Diante disso, a germinação de estrelícia apresenta desafios significativos no uso de sementes. Para lidar com essas limitações e aumentar a porcentagem de germinação, objetivou-se definir um protocolo de germinação e estabelecimento de mudas *ex vitro* e determinar qual melhor método de quebra de dormência.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Obtenção do material vegetal

Frutos maduros de estrelícia foram coletados de plantas cultivadas em região de clima mesotérmico ou tropical de altitude, com inverno seco e verão chuvoso, segundo a classificação de Köppen e localizada em 21°22'42.95'' S 44°97'10.07'' O. Em seguida foram levados para o Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas para proceder aos tratamentos.

### 2.2 Escarificação química e física e GA<sub>3</sub> exógeno na germinação *ex vitro* de estrelícia

O arilo foi retirado manualmente das sementes. Posteriormente, para a escarificação química as sementes foram submetidas à imersão em ácido sulfúrico P.A. por 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos, com posterior lavagem por três vezes com água destilada. Na escarificação física as sementes foram lixadas manualmente com lixa na região oposta onde ocorre a protrusão da radícula (micrópilo). As sementes sem escarificação e escarificadas quimicamente e fisicamente foram mantidas em água destilada por 120 minutos e então foram plantadas em tubetes com substrato comercial Tropstrato<sup>®</sup> a 2 cm de profundidade e irrigadas até a capacidade de campo com solução de giberelina (GA<sub>3</sub>) nas concentrações 0, 25, 50 e 100 µM a cada 15 dias. A cada 2 dias as sementes foram irrigadas com água destilada. As sementes foram mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25 ± 2 °C com irradiância de fótons de 76 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>.

Após 30 e 45 e 60 dias do plantio foi avaliada a porcentagem de germinação. Aos 60 dias foi avaliado o comprimento da parte aérea (cm), comprimento da raiz principal (cm), número de folhas e sobrevivência (%).

### 2.3 Análises estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativos as médias foram comparadas pelo teste de Skott-knott (5%). As análises foram realizadas pelo programa computacional Sistema para Análise de Variância (FERREIRA, 2014).

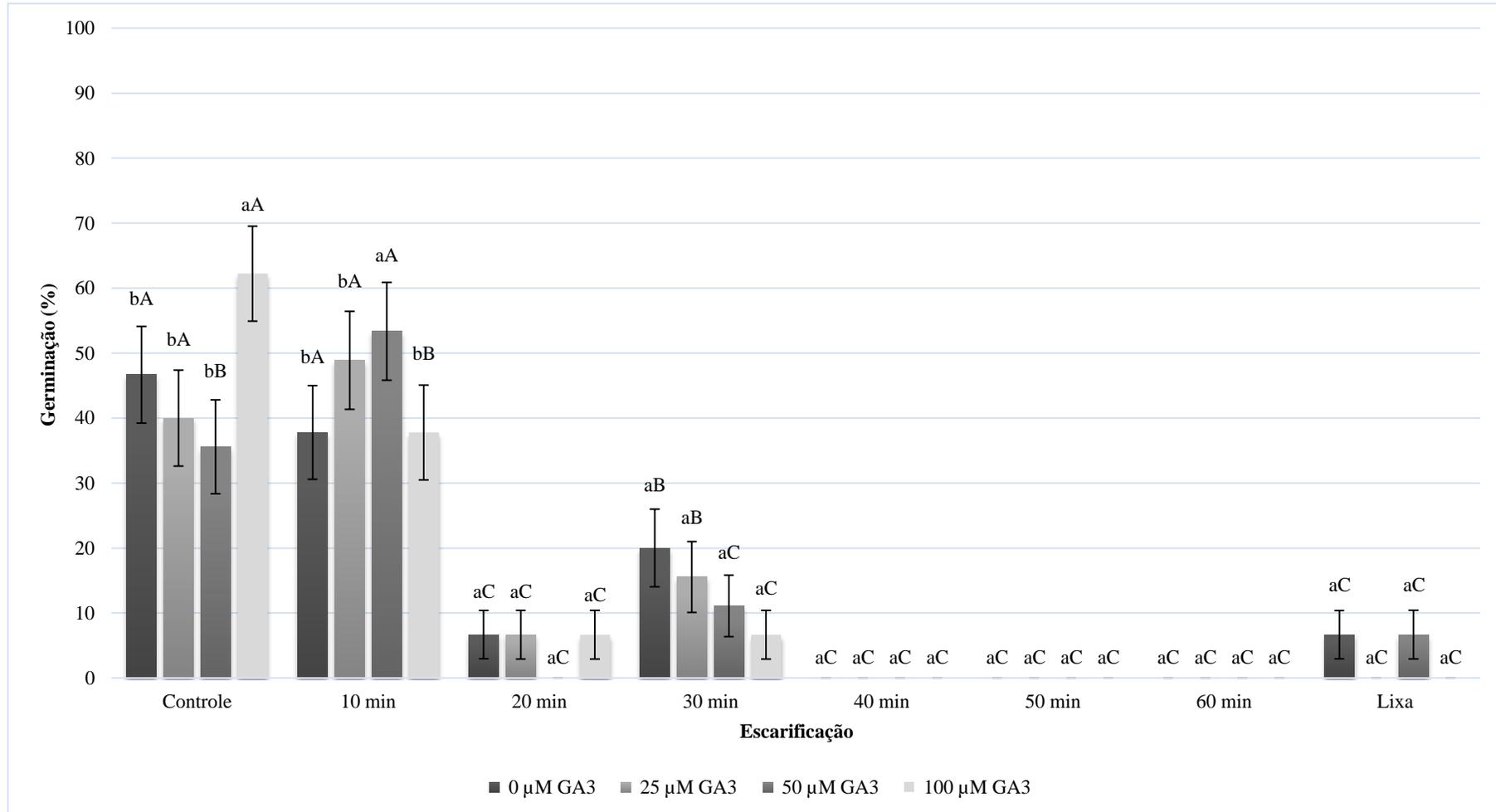
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **3.1 Efeito da escarificação química e física e giberelina na germinação de estrelicia e crescimento das plântulas *ex vitro*.**

Para a germinação *ex vitro* ocorreu interação entre a escarificação de sementes e a aplicação de GA<sub>3</sub>, e também entre o tempo de germinação e escarificação.

Sementes não escarificadas e com 100 µM de GA<sub>3</sub> e as escarificadas por 10 minutos com ácido sulfúrico e 50 µM de GA<sub>3</sub> apresentaram maior porcentagem de germinação (FIGURA 11).

Figura 11 - Porcentagem de germinação *ex vitro* de sementes de estrelícia em função da escarificação química e física e diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>.



Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si para a concentração de GA<sub>3</sub> e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si para escarificação das sementes pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

A porcentagem de germinação nas sementes não escarificadas aumentou quando o substrato foi irrigado com a maior concentração de GA<sub>3</sub>, 100 µM (62,22%). E nas sementes escarificadas por 10 minutos com ácido sulfúrico a porcentagem de germinação aumentou perante a concentração de 50 µM de GA<sub>3</sub> (56,66%), mas diminuiu com a irrigação de 100 µM de GA<sub>3</sub>.

A escarificação por mais de 20 minutos em ácido sulfúrico e escarificação utilizando lixa não foram eficientes para aumentar a germinação de *estrelícia*, mesmo com a adição de GA<sub>3</sub> (FIGURA 11).

Ao observar a escarificação associada ao GA<sub>3</sub>, foi observado que *ex vitro* as sementes de *estrelícia* não precisam da escarificação para aumentar a germinação, apenas da irrigação no substrato com 100 µM de GA<sub>3</sub>, pois este tratamento proporcionou a maior porcentagem de germinação (62,22%). Em contrapartida, foi relatado 78,10% de germinação quando sementes de *estrelícia* foram embebidas em GA<sub>3</sub> na concentração de 750 mg L<sup>-1</sup> por 24h (KUMAR et al., 2018). Mas foi observada uma porcentagem de aproximadamente 38% de germinação quando as sementes de *estrelícia* foram escarificadas quimicamente com ácido sulfúrico por 9 minutos e colocadas para germinar em papel toalha (BARBOSA et al., 2005). Quando sementes de *estrelícia* foram colocadas para germinar em areia lavada, foi observada a porcentagem de germinação de aproximadamente 47% em 7 minutos de imersão no ácido sulfúrico (BARBOSA et al., 2005). O tempo de imersão em ácido sulfúrico por 9 minutos foi o melhor tratamento para aumentar a germinação de *Ravenala Madagascariensis*, em que as sementes escarificadas aumentaram a germinação em 54% em relação às sementes não escarificadas (TORRES et al., 2013).

Em *Passiflora elegans* a retirada do tegumento das sementes, seguido por imersão em GA<sub>3</sub> (50 µM) foi o melhor método para aumentar a germinação quando comparado com escarificação química (10 minutos em ácido sulfúrico), escarificação física e controle (SILVA et al., 2019). Mas, para a superação da dormência de sementes de *Apeiba tibourbou* o ácido sulfúrico e o GA<sub>3</sub> não foram eficientes (SOUSA et al., 2019).

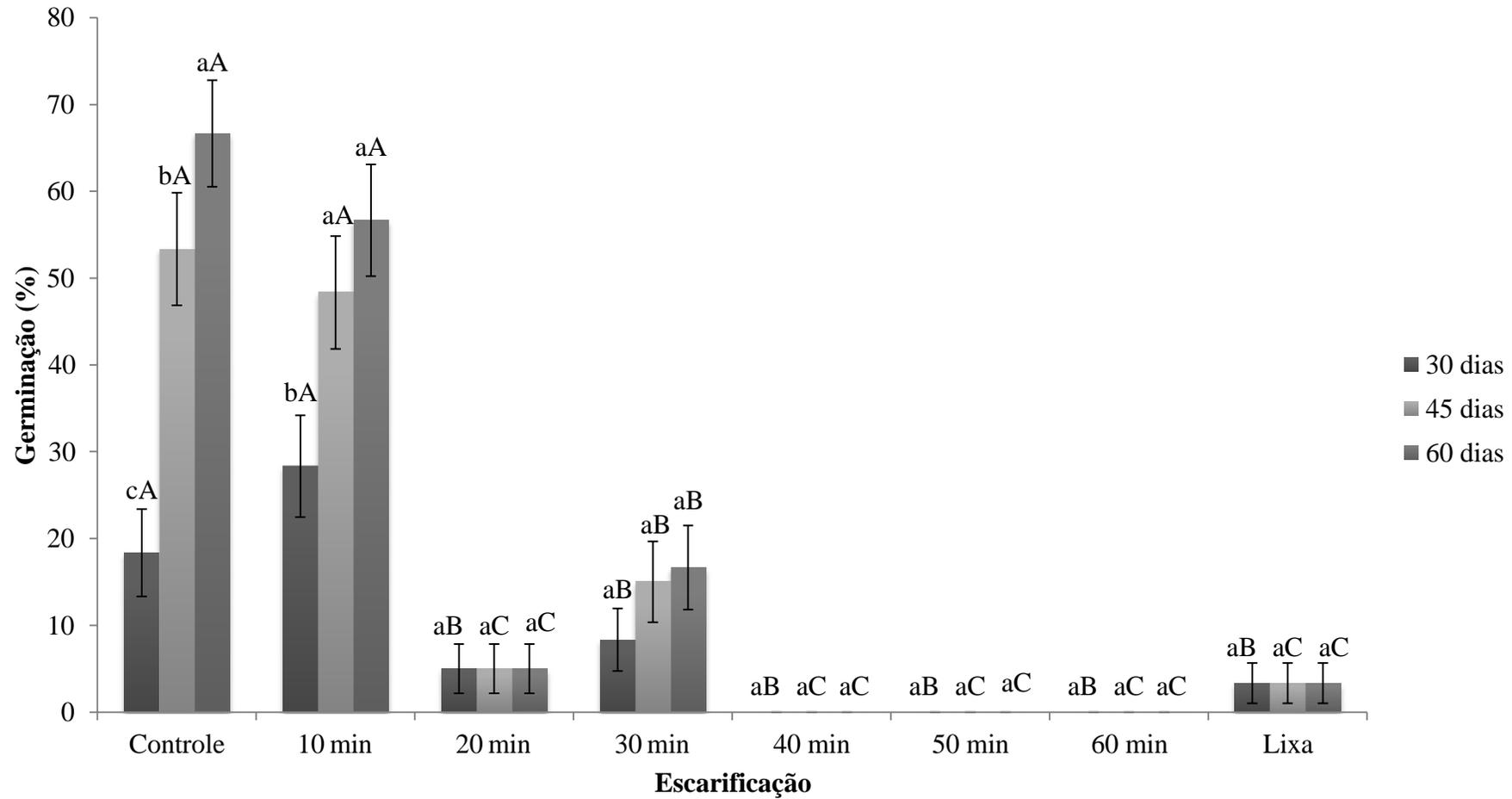
A maior porcentagem de germinação em *estrelícia*, foi alcançada somente utilizando o GA<sub>3</sub> em sua maior concentração testada, ocorreu provavelmente porque o substrato orgânico com a presença de microorganismos favoreceu o enfraquecimento da camada do endosperma que envolve o embrião pelo GA<sub>3</sub>, permitindo que o embrião pudesse crescer sem limitações mecânicas devido as paredes celulares do endosperma serem esfraguecidas pela produção de enzimas que as degradam (TAIZ et al., 2017). Mas ainda, o aumento na germinação causada pela giberelina pode ser também devido ao estímulo da síntese de enzimas como α e β-

amilase, as quais degradam as reservas armazenadas no endosperma, formando açúcares, aminoácidos e ácidos nucléicos, que são absorvidos e transportados para as regiões de crescimento do embrião, estimulando o alongamento celular, fazendo com que a raiz rompa o tegumento da semente (SILVA; FERREIRA; FERREIRA, 2002).

Quando o ácido foi combinado com o GA<sub>3</sub>, o aumento da germinação foi observado quando adicionado 50 µM, uma concentração menor comparada com 100 µM necessário para aumentar a germinação quando as sementes não foram escarificadas. Mas a partir de 20 minutos no ácido sulfúrico já foi nocivo. Maiores tempos no ácido sulfúrico promoveu danos às sementes *Ormosia paraenses* (SILVA et al., 2018), pois maiores tempos em ácido sulfúrico pode ser prejudicial, já que o ácido pode penetrar nas células das sementes (CHO; LEE, 2018), deixando-as inviáveis.

Considerando o tempo de germinação e a escarificação das sementes, aos 60 dias foi observada a maior porcentagem de germinação (66,66%) nas sementes que não foram escarificadas, não diferindo das sementes que foram escarificadas por 10 minutos com ácido sulfúrico (56,66%) (FIGURA 12).

Figura 12 - Porcentagem de germinação *ex vitro* de sementes de estrelícia em função da escarificação e tempo de cultivo.

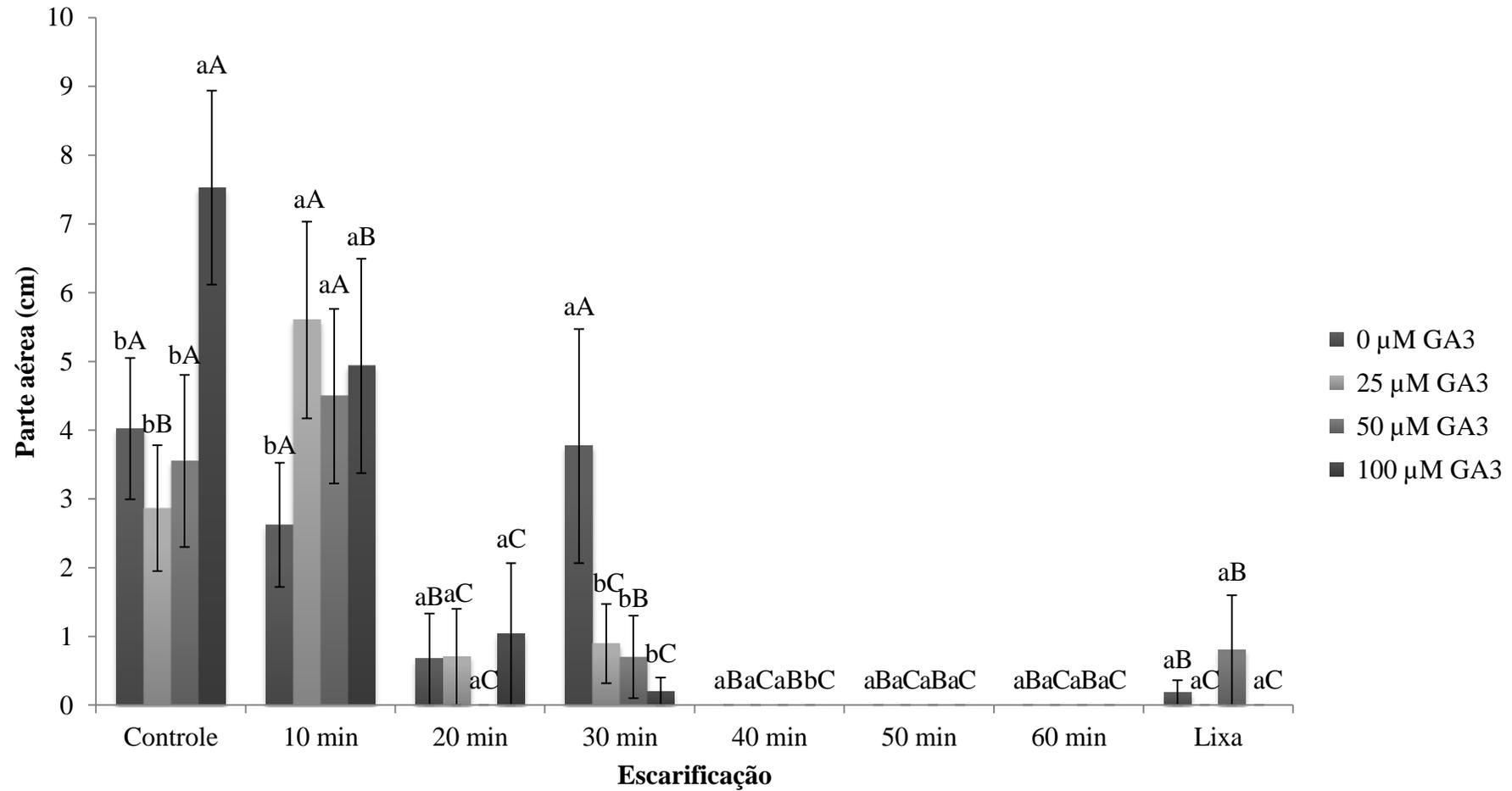


Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si para o tempo de cultivo e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si para escarificação das sementes pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Com a imersão das sementes em ácido sulfúrico por 10 minutos, a porcentagem de germinação aos 60 dias (56,66%) não diferiu da germinação aos 45 dias (48,33%). Portanto, no tratamento com ácido sulfúrico, as sementes estabilizaram a germinação antes do tratamento sem ácido sulfúrico, como foi visto para *Prosopis flexuosa* (ARAÚJO; PÉREZ; BONVISSUTO, 2017). Provavelmente porque a escarificação com ácido sulfúrico por 10 minutos combinado com a irrigação de GA<sub>3</sub> proporcionou a permeabilidade da água, trocas de gases e amolecimento do endosperma de forma mais rápida do que as sementes não escarificadas.

Quanto ao comprimento da parte aérea das plântulas, aos 60 dias foi observada interação entre GA<sub>3</sub> e a escarificação utilizada. A maior média da parte aérea (7,52 cm) foi nas plântulas onde as sementes não foram escarificadas e o meio foi suplementado com 100 µM de GA<sub>3</sub>, assim como para a maior porcentagem de germinação. A escarificação por 10 minutos com a irrigação de GA<sub>3</sub>, independente da concentração, também proporcionou maior comprimento da parte aérea, porém com média menor (FIGURA 13).

Figura 13 - Comprimento da parte aérea de plântulas de estrelícia em função da escarificação das sementes e diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, após 60 dias de cultivo *ex vitro*.

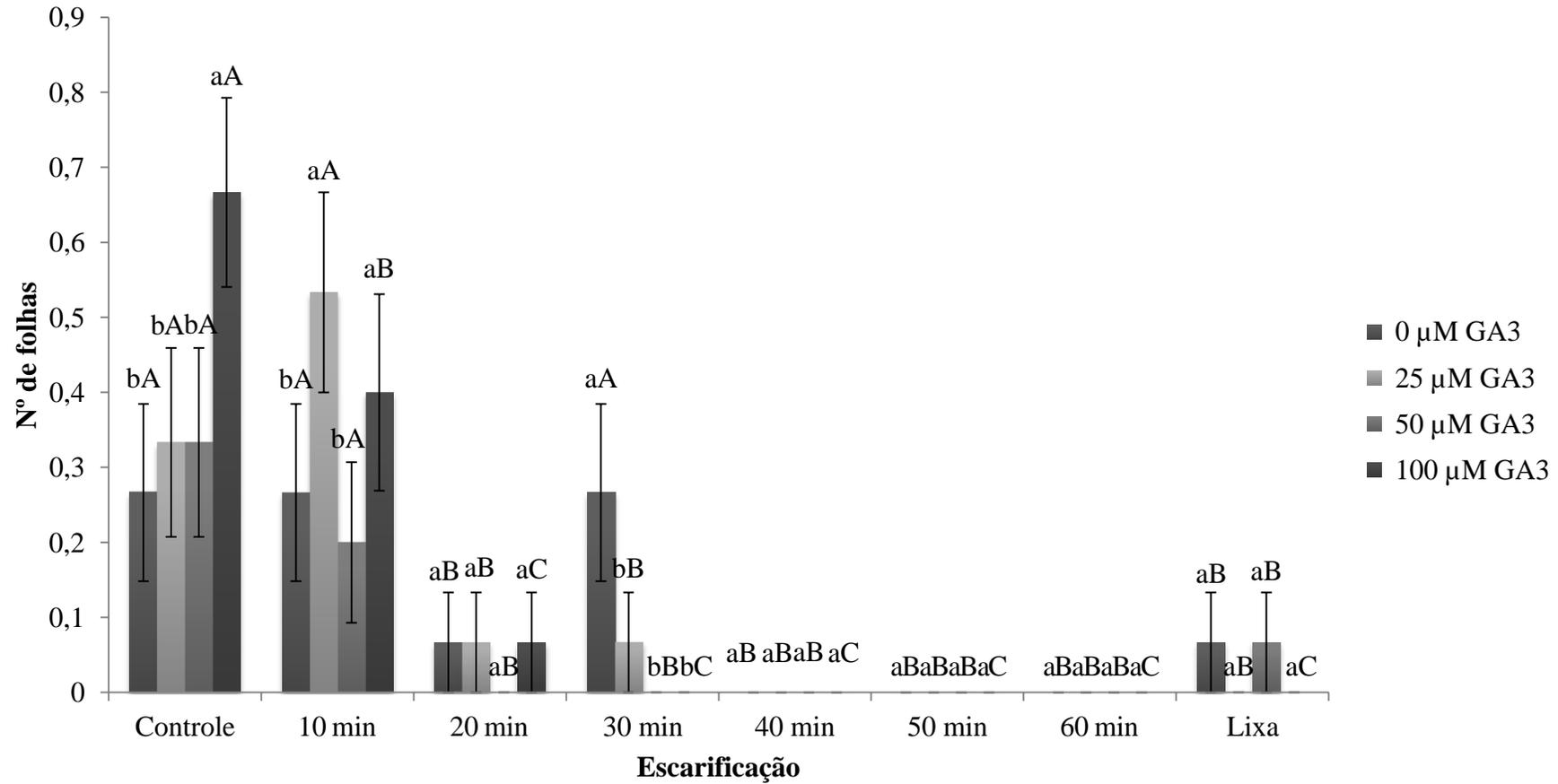


Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si para a concentração de GA<sub>3</sub> e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si para escarificação das sementes pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

O GA<sub>3</sub> pode ter influenciado na altura das plântulas, visto que um dos efeitos do GA é o alongamento celular (TAIZ et al., 2017).

Aos 60 dias de cultivo *ex vitro*, o número de folhas sofreu interação entre escarificação e concentrações de GA<sub>3</sub>. A média do número de folhas foi maior nas plântulas onde as sementes não sofreram escarificação e o meio foi suplementado com 100 µM de GA<sub>3</sub> (0,66) (FIGURA 14).

Figura 14 - Número de folhas em função da escarificação das sementes de estrelícia e diferentes concentrações de GA<sub>3</sub>, após 60 dias de cultivo *ex vitro*.

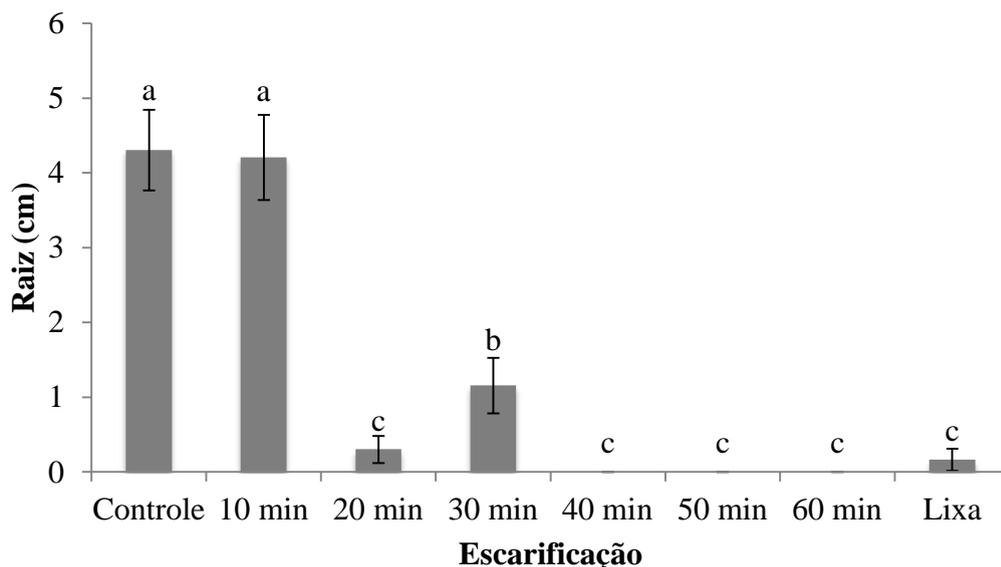


Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si para a concentração de GA<sub>3</sub> e médias seguidas pela mesma letra maiúscula não diferem entre si para escarificação das sementes pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Nas sementes esscarificadas por 10 minutos com a concentração de 25  $\mu\text{M}$  de  $\text{GA}_3$  a média de folhas também aumentou (0,53) (FIGURA 14), porém foi menor comparado com o tratamento que proporcionou maior média. Semelhante ao que aconteceu na germinação e altura da parte aérea.

O comprimento da raiz sofreu interação da esscarificação isoladamente. O maior comprimento da principal raiz aos 60 dias de cultivo foi nas sementes não esscarificadas e esscarificadas por 10 minutos no ácido sulfúrico, estes não diferindo entre si (FIGURA 15).

Figura 15 - Comprimento da raiz de plântulas de estrelícia em função da esscarificação das sementes, após 60 dias de cultivo *ex vitro*.



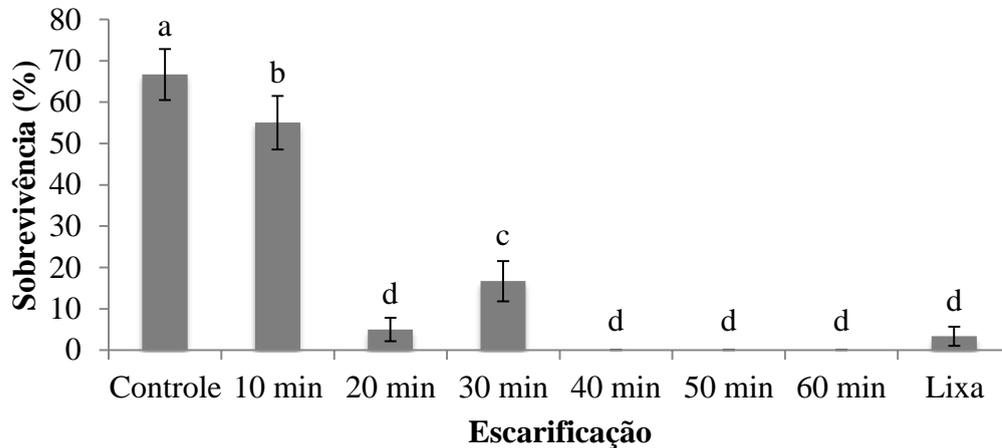
Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Estes também foram os tratamentos que proporcionaram maior porcentagem de germinação e maior comprimento da parte aérea.

O tratamento que proporcionou maior germinação também proporcionou maior comprimento da raiz primária em estrelícia, que foi utilizando 9 minutos de imersão no ácido sulfúrico (BARBOSA et al., 2005). Já em sementes de *Panicum virgatum* a esscarificação física e química não influenciaram no desenvolvimento da plântula (WANG et al., 2017).

Quanto à sobrevivência, esta sofreu interação da esscarificação isoladamente. As sementes não esscarificadas apresentaram maior porcentagem (66,66%) aos 60 dias de cultivo *ex vitro* (FIGURA 16).

Figura 16 - Porcentagem de sobrevivência das plântulas de estrelícia em função da escarificação, após 60 dias de cultivo *ex vitro*.



Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão (barras). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ).

Padrão semelhante foi observado para estrelícia (BARBOSA et al., 2005) e para *Ormosia paraensis*, onde as sementes não escarificadas apresentaram maior sobrevivência (SILVA et al., 2018). Provavelmente, o ácido sulfúrico prejudicou o crescimento e desenvolvimento das plântulas, sendo os tempos de imersão 20, 30, 40, 50 e 60 minutos excessivos e nocivos para plântulas de estrelícia.

Dessa forma, a escarificação química e física não é relevante para a germinação de sementes de estrelícia *ex vitro*, visto que para aumentar a porcentagem de germinação e o crescimento das plântulas pode ser com  $GA_3$  e sem escarificação (FIGURA 17B), assim como para aumentar a sobrevivência. Porém as sementes podem ser escarificadas por 10 minutos e suplementadas com  $GA_3$ , em uma menor concentração (FIGURA 17C e D), sendo uma alternativa menos eficiente, porém não prejudicial.

Figura 17 - Plântulas de estrelícia aos 60 dias de cultivo *ex vitro*.



(A) Controle + 0 GA<sub>3</sub>. (B) 0 minuto de ácido sulfúrico + 100 μM de GA<sub>3</sub>. (C) 10 minutos de ácido sulfúrico + 25 μM de GA<sub>3</sub>. (D) 10 minutos de ácido sulfúrico + 50 μM de GA<sub>3</sub>. Barra 1 cm.

Fonte: Da autora (2020).

Contudo, proporcionar o aumento da germinação *ex vitro* somente com GA<sub>3</sub>, sem a escarificação com ácido sulfúrico, é uma alternativa relevante, visto que não gera resíduos que precisam ser tratados posteriormente.

#### 4 CONCLUSÕES

A irrigação realizada a cada 15 dias com 100 μM de GA<sub>3</sub> proporciona maior porcentagem de germinação de estrelícia ao longo de 60 dias, promove também maior comprimento da parte aérea e maior média de folhas.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M. E. R.; PÉREZ, D. R.; BONVISSUTO, G. L. Seed germination of five *Prosopis* shrub species (Fabaceae-Mimosoideae) from the Monte and Patagonia phytogeographic provinces of Argentina. **Journal of Arid Environments**, v. 147, p. 159-162, 2017.
- BARBOSA, J. G. et al. Efeito da escarificação ácida e de diferentes temperaturas na qualidade fisiológica de sementes de *Strelitzia reginae*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 1, p.71-77, 2005.
- CHO, J. S.; LEE, C. H. Effect of germination and water absorption on scarification and stratification of kousa dogwood seed. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 59, p. 335–344, 2018.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- KUMAR, S. S. et al. Effect of growth regulators on seed germination of bird of paradise [*Strelitzia reginae* L.]. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v. 7, n. 1, p. 101-104, 2018.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEAL, 2005, 495 p.
- PAIVA, P. D. O.; ALMEIDA, E. F. A. **Produção de flores de corte**. Lavras: UFLA, 2012. 678 p.
- SANTOS et al. Characterization of genetic diversity of bird-of-paradise accessions. **Ornamental Horticulture**, v. 24, p. 50-57, 2018.
- SILVA, A. A. da; FERREIRA, F. A.; FERREIRA, L. R. **Biologia e controle de plantas Daninhas**. Viçosa: DFT/UFV, 2002.
- SILVA, B. M. da S. et al. Seed anatomy and water uptake and their relation to seed dormancy of *Ormosia paraensis* Ducke. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 3, p. 237-245, 2018.
- SILVA, et al. Overcoming dormancy of *Passiflora elegans* Mast. (Passifloraceae). **Revista Verde**, v. 14, n. 3, p. 406-411, 2019.
- SOUSA, H. G. de A. et al. Superação da dormência de sementes de Apeiba tibourbou Aubl. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v.7, n. 2, p, 320-324, 2019.
- TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. Ed. Porto Alegre, Artmed, 2017. 858p.
- TORRES, S. B. et al. Germination of *Ravenala madagascariensis* (Strelitziaceae) seeds submitted to chemical scarification. **Seed Science and Technology**, v. 41, p. 154-157, 2013.
- VIEIRA, M. R. S. et al. Genus: *Strelitzia*. **Journal of Horticulture and Forestry**, v. 4, n. 11, p. 178-180, 2012.

WANG, N. et al. Comparison of prechilling stratification and sulfuric acid scarification on seed germination of *Panicum virgatum* under drought stress. **Frontiers of Agricultural Science and Engineering**, v. 4, n. 2, p. 220–227, 2017.