



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**



**CARACTERIZAÇÃO BIOMÉTRICA, GERMINAÇÃO E USO DA TÉCNICA
BIOSPECKLE COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA DETERMINAÇÃO DA
VIABILIDADE DE SEMENTES DE ARAÇÁ-BOI**

MARCELA LIEGE DA SILVA

BOA VISTA -RR

Março/2016

MARCELA LIEGE DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO BIOMÉTRICA, GERMINAÇÃO E USO DA TÉCNICA
BIOSPECKLE COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA DETERMINAÇÃO DA
VIABILIDADE DE SEMENTES DE ARAÇÁ-BOI**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal de Roraima, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Pesq.Dr. Edvan Alves Chagas

Coorientadores: Prof. Dr. Eliel Eutério Farias

Pesq. Dr. Oscar José Smiderle

Boa Vista-RR

Março/2016

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

S586c Silva, Marcela Liege da.
Caracterização biométrica, germinação e uso da técnica *Biospeckle* como ferramenta auxiliar na determinação da viabilidade de sementes de Araçá-boi / Marcela Liege da Silva. – Boa Vista, 2016.
72f.: il.

Orientador: Pesq.Dr. Edvan Alves Chagas.
Coorientadores: Prof. Dr. Eliel Eutério Farias.
Pesq. Dr. Oscar José Smiderle.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte.

1 – *Eugenia stipitata*. 2 – Fruteiras Nativas. 3 – Osmocondicionamento. 4 – Recalcitrantes. 5 – Propagação. I - Título. II – Chagas, Edvan Alves (orientador). III – Farias, Eliel Eutério (coorientador).

CDU – 631.52

MARCELA LIEGE DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO BIOMÉTRICA, GERMINAÇÃO E USO DA TÉCNICA
BIOSPECKLE COMO FERRAMENTA AUXILIAR NA DETERMINAÇÃO DA
VIABILIDADE DE SEMENTES DE ARAÇÁ-BOI**

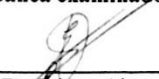
Tese de doutorado apresentada ao Curso de
Doutorado do Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade e Biotecnologia da Rede
BIONORTE, na Universidade Federal de
Roraima, como requisito parcial para a
obtenção do Título de Doutor em
Biodiversidade e Conservação.

Orientador: Pesq. Dr. Edvan Alves Chagas

Coorientadores: Prof. Dr. Eliel Eleutério Farias

Pesq. Dr. Oscar José Smiderle

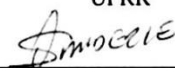
Banca examinadora



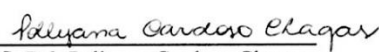
Pesq. Dr. Edvan Alves Chagas
Embrapa Roraima



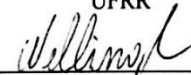
Prof. Dr. Eliel Eleutério Farias
UFRR



Pesq. Dr. Oscar José Smiderle
Embrapa Roraima



Prof. Dr. Pollyana Cardoso Chagas
UFRR



Prof. Dr. Wellington Farias Araújo
UFRR

Boa Vista - RR

Março/2016

Aos meus pais Jânio Antônio da Silva e Tânia Fátima
Silva pelo amor incondicional,
apoio aos meus estudos e pela formação do meu
caráter.

Aos meus irmãos Priscila Elisama e Joeser Elias
pela amizade e união.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e sabedoria concedidas.

Ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico Tecnológico pela bolsa de estudo concedida, permitindo ótimas condições de trabalho.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária pela disponibilidade do espaço físico e apoio na condução dos experimentos.

Ao meu orientador e amigo Pesquisador Dr. Edvan Alves Chagas pela credibilidade no meu trabalho e pela oportunidade de crescer profissionalmente.

À amiga e pesquisadora Mr^a. Rosemary Vilaça, pela orientação nos trabalhos realizados, preocupação com os resultados, e pela amizade conquistada.

Ao pesquisador Dr. Oscar José Smiderle, pela orientação e participação nos trabalhos, e principalmente pela atenção e auxílio na redação da tese.

Ao professor Dr. Eliel Eleutério Farias pela orientação e incentivo na realização de um trabalho totalmente inovador e promissor.

Ao Centro de Investigaciones Ópticas (CIOp) da Argentina, por ceder informações importantes para o estudo do *Biospeckle*.

À minha grande amiga Dr^a. Pollyana Cardoso Chagas por quase vinte cinco anos de convívio, amizade, cumplicidade, alegrias e principalmente por fazer parte desta conquista.

Aos meus queridinhos amigos Pedro Henrique e Raissa, pelas brincadeiras, bagunças e momentos de descontração nos finais de semanas, boas lembranças.

Aos companheiros de Embrapa e colegas, pelo auxílio e companhia desde a coleta dos frutos no campo até a execução dos experimentos.

A todos obrigada.

Amigo não é o que te ajuda quando você está mal.
Isso é fácil. Difícil é o amigo que ama te ver brilhar.

Fernanda Estellita

SILVA, Marcela Liege da. **Caracterização biométrica, germinação e uso da técnica *biospeckle* como ferramenta auxiliar na determinação da viabilidade de sementes de araçá-boi**. 2016. 72f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) - Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2016.

RESUMO

A Amazônia apresenta inúmeras espécies vegetais com grande potencial econômico, dentre estas, as frutíferas vêm se destacando pela geração de renda e alimentos para a população. Essas espécies ainda são pouco estudadas e apresentam como maior entrave, a falta de conhecimento sobre sua propagação, a exemplo do araçá-boi (*Eugenia stipitata*), cujo principal problema refere-se à dormência de suas sementes. Objetivou-se com o presente trabalho realizar a caracterização biométrica, germinação e estudo de técnicas convencionais e modernas para avaliar a superação de dormência de sementes de araçá-boi. Para tal, foram conduzidos três experimentos: 1 – Caracterização biométrica, curva de absorção de água e vigor de sementes de araçá-boi; 2 – Osmocondicionamento na germinação de sementes de araçá-boi e 3 – *Biospeckle* como ferramenta auxiliar na determinação da viabilidade de sementes de araçá boi. Verificou-se que a população de plantas estudada, proveniente de Manaus-AM, produziu sementes pequenas, médias e grandes com 0,08, 0,64 e 1,37 g e apresentaram 70,2%, 68,2% e 47,5% de umidade, respectivamente. Maior incremento de água pelas sementes ocorreu na primeira hora de absorção, independente do tamanho, e a velocidade de absorção de água não foram influenciadas pelo seu tamanho. As curvas de embebição, caracterizadas no período de 144 horas, independente do tamanho das sementes, mostraram duas fases fisiológicas. As sementes grandes e médias apresentaram menores valores de condutividade, obtendo maiores porcentagens de germinação, por possuírem maiores índices de vigor. Observou-se 100% de sementes germinadas, quando osmocondicionadas em KNO₃ por 12 horas, até os 70 dias de cultivo. O uso da técnica do *biospeckle* foi eficiente na determinação da viabilidade e do vigor das sementes de araçá-boi, em que sementes grandes e médias apresentaram maiores atividades. A germinação das sementes grandes e médias e o desenvolvimento das plântulas se correlacionaram com a atividade observada pela técnica do *biospeckle*.

Palavras-chave: *Eugenia stipitata*, Fruteiras Nativas, Osmocondicionamento, Recalcitrantes, Propagação.

SILVA, Marcela Liege da. **Biometric characterization, germination and use of *biospeckle* technique as an auxiliary tool in determining the viability of araca-boi seeds.** 2016. 72f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2016.

ABSTRACT

The Amazon has countless species with great economic potential, among these, the fruit has been highlighted by the generation of income and food for the population. These species are poorly studied, present as biggest obstacle, the lack of knowledge of its spread, such as the araca-boi (*Eugenia stipitata*), whose main problem refers to the dormancy of its seeds. The objective of the present work is performing a biometric characterization, germination and study of conventional and modern techniques to overcome dormancy of guava-ox. To this end, three experiments were performed: 1 – Biometric characterization, water absorption curve and vigor on araca-boi seeds; 2 – Osmopriming in araca-boi seeds germination and 3 – *Biospeckle* as tool auxiliary indetermning the viability araca-boi seeds. It was found that the plant population, from Manaus-AM, produced small, medium and large seeds, which showed 70.2%, 68.2% and 47.5% moisture. Increment greater water by the seed, occurred within one hour of absorption, regardless of size, and speed of water absorption was not influenced by its size. The imbibition curves, characterized the period of 144 hours, regardless of seed size, showed two physiological stages. The large and medium seeds showed lower values of conductivity, highest germination, because they have higher levels of force. Noted 100% of seeds germinated when primed in KNO₃ for 12 hours, until 70 days of culture. The use of the technique of *biospeckle* was efficient in determining the viability and vigor of seeds of araca-boi. The large and medium seeds showed higher activities. The germination of large and medium seeds and seedling development correlated with the activity observed by the technique of *biospeckle*.

Keywords: *Eugenia stipitata*, Native Fruits, Osmopriming, Recalcitrant Seeds, Propagation.

LISTA DE FIGURAS

Figure 1. Mass (g) of seeds (small, medium and large) Araca-boi soaked in water until the period of 144 hours.....	35
Figure 2. Mass (g) of seed (small, medium and large) of Araca-boi soaked in water until the period of 5 hours.....	36
Figure 3. Water Increment (g) found in the seeds (small, medium and large) of Araca-boi immersed in water up to the period of 144 hours.....	37
Figure 4. Water Increment (g) found in the seeds (small, medium and large) Araca-boi immersed in water until the period of 5 hours.....	37
Figure 5. Emergency-Velocity (rate) of cumulative seedlings obtained from seeds of Araca-boi up to 100 days.....	39
Figure 1. Speed of germination index of Araca-boi seeds osmoprimered in $C_{12}H_{22}O_{11}, KNO_3, KNO_3 + C_{12}H_{22}O_{11}$ and H_2O until the 70 th day.....	46
Figure 1: Scheme of the experimental apparatus used in LaPEA.....	54
Figure 2 – Activity of images (MOC standard) obtained by biospeckle technique used to evaluate the feasibility of large (A) and small (B) seeds of <i>E. stipitata</i>	55
Figure 3 – Activities made by smaller seeds, medium and large after treatments for acceleration of germination process recorded by the technique of biospeckle.....	56
Figure 4 – Emergency-velocity (rate) of cumulative seedlings obtained from large, medium and small seeds <i>E. stipitata</i> to 140 days.....	57
Figura 5 - Activities presented by the osmoconditioned seeds in KNO_3 for 24 hours and seeds used as witnesses recorded by the technique of biospeckle.....	58
Figure 6. Emergency-Velocity (rate) of cumulative seedlings obtained from osmoconditioned seeds <i>E. stipitata</i> to in KNO_3 for 24 hours up to 63 days dias.....	60

LISTA DE TABELAS

Table 1. Mean values * of length, width, diameter and mass of the Araca-boi seeds used in this study.....	34
Table 2. Mean values of electrical conductivity (EC) of immersed seeds in water within 24 hours germination and seedling emergence speed obtained from Araca-boi seeds at the end of 100 days.....	38
Table1. Mean values of germination percentage and speed of germination index of araca-boi seeds at 70 days after submission to osmopriming in $C_{12}H_{22}O_{11}$, KNO_3 , $C_{12}H_{22}O_{11} + KNO_3$ and H_2O	45
Table 1. Values of mean squares and their significance for the emergence data of large, medium and small <i>E. stipitata</i> seed after treatments to break dormancy.....	56
Table2 – Emergency Percentage of large, medium and small <i>E. stipitata</i> seeds sowed in substrate sand + sawdust over 140 days of cultivation.....	57
Table3. Shoot length (SL), length of the root system (LRS), dry weight of shoot (DWS), dry root weight (DRW) and number of leaves (NL) in leaves of <i>E. stipitata</i> emerged to os140 days of cultivation in substrate sand + sawdust after feasibility analysis by biospeckle.....	58
Table4. Values of mean squares and significance for emergency osmoconditioned seeds in KNO_3 for 24 hours.....	59
Table5. Seed emergency percentage of <i>E. stipitata</i> osmoconditioned in KNO_3 for 24 hours sown in substrate sand + sawdust over 63 days of cultivation	59

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Aspectos gerais do araçá-boi.....	16
2.2 Características biométricas e dormência das sementes de araçá-boi.....	17
2.3 Embebição de água e germinação de sementes de araçá-boi.....	18
2.4 Condutividade elétrica de sementes de araçá-boi.....	19
2.5 Métodos de superação de dormência de sementes de araçá-boi.....	20
2.6 Osmocondicionamento na germinação de sementes de araçá-boi.....	21
2.7 Biospeckle como ferramenta auxiliar na determinação da viabilidade de sementes de araçá-boi.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
3. OBJETIVOS.....	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	30
ARTIGO I – BIOMETRIC CHARACTERIZATION, WATER ABSORPTION CURVE AND VIGOR ON ARACA-BOI SEEDS	31
ABSTRACT	31
INTRODUCTION	31
MATERIAL AND METHODS	32
RESULTS AND DISCUSSION.....	34
CONCLUSIONS.....	39
REFERENCES	40
ARTIGO II – OSMOPRIMING IN ARACA-BOI SEEDS GERMINATION	42
ABSTRACT	42
INTRODUCTION	42
MATERIAL AND METHODS	43
RESULTS AND DISCUSSION.....	45

CONCLUSIONS.....	47
REFERENCES	48
ARTIGO III - BIOSPECKLE AS TOOL AUXILIARY IN EVALUATION DORMANCY OVERCOMING ARACA-BOI SEEDS.....	50
ABSTRACT	50
INTRODUCTION	50
MATERIAL AND METHODS.....	52
RESULTS	55
DISCUSSION.....	60
CONCLUSIONS.....	61
REFERENCES	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
ANEXOS.....	65

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia apresenta um dos maiores índices de biodiversidade do mundo, no qual existem inúmeras espécies vegetais com grande potencial econômico. Segundo Clement et al. (2007), a fruticultura representa um importante segmento da agricultura para o desenvolvimento da região Amazônica e está incluída entre as opções ambientalmente sustentáveis e economicamente viáveis.

Dentre as espécies predominantes na região Amazônica, a família Myrtaceae apresenta grande importância econômica, devido aos seus frutos comestíveis, como *Psidium guajava* (goiaba), *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba) e *Eugenia uniflora* (pitanga). No entanto, outras vêm se destacando como o araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *Sororia* McVaugh) com grande potencial de aproveitamento agroindustrial, por apresentarem boas características físico-químicas e atributos sensoriais de boa aceitabilidade (SOUZA FILHO et al., 2002; ROGEZ et al., 2004).

Como a maioria das espécies frutíferas nativas da Amazônia, o araçá-boi se encontra na forma não domesticada, sendo pouco estudada, tendo como maior entrave, a falta de conhecimento de sua propagação. Outro fator importante das sementes de araçá-boi é que elas são recalcitrantes, ou seja, não toleram a dessecação, além disso, essas sementes apresentam dormência, o que dificulta seu manuseio e a produção de mudas por parte dos produtores, pois sem tratamentos pré-germinativos, essas sementes demorariam cerca de 6 meses para germinarem (GENTIL & FERREIRA, 1999).

A dormência de sementes tem papel relevante para a perpetuação das espécies, contudo torna-se problema para sua propagação em nível comercial. Desta maneira, o domínio de tecnologias e do estabelecimento de um sistema de cultivo dessas fruteiras é imprescindível para que seja possível a produção eficiente, em escala comercial e de maneira racional e sustentável.

A dormência das sementes de araçá-boi pode ser devido à impermeabilidade do tegumento à água e gases ou a presença de inibidores da germinação (BASKIN & BASKIN, 1998; BEWLEY & BLACK, 1994). Mendes (2011) revelou que a retirada parcial do tegumento do lado da protrusão da raiz favoreceu a germinação das sementes de araçá-boi, no entanto essa técnica pode causar injúrias ao embrião, ocasionando a não germinação das sementes ou o desenvolvimento anormal das plântulas.

Para Sert et al. (2009) os inibidores da germinação das sementes de araçá-boi podem ser o ácido abscísico e os compostos fenólicos. Esses autores sugerem a lixiviação como método para a superação da dormência causada por esses inibidores.

Neste contexto, a utilização de tratamentos pré-germinativos que possibilitem a germinação das sementes é necessária para se obter práticas de propagação e produção de mudas de boa qualidade de araçá-boi.

A tese foi elaborada em capítulos para melhor compreensão e desenvoltura do estudo. Cada capítulo foi formatado de acordo com os artigos elaborados conforme segue:

Artigo I: “Biometric characterization, water absorption curve and vigor on araca-boi seeds”.

Artigo II: “Osmopriming in araca-boi seeds germination”.

Artigo III: “Biospeckle as tool auxiliary in determining the viability araca-boi seeds”.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais do araçá-boi

O araçá-boi é uma espécie frutífera originária da Amazônia Peruana e da região ocidental da Amazônia Brasileira e usualmente é cultivado em pequena escala no Peru, Bolívia, Equador, Colômbia e Brasil (PINEDO et al., 1981; CLEMENT, 1989). No Brasil, é encontrado na região Amazônica, Mato Grosso e Bahia, mas ainda sem exploração comercial. É uma espécie adaptada a solos de baixa fertilidade, assim como às variações climáticas do trópico úmido amazônico. Em decorrência da precocidade, frequência e grande volume de produção da planta, o araçá-boi destaca-se como uma das espécies nativas da Amazônia de grande potencial.

A planta de araçá-boi é um arbusto de até 2,5 metros de altura (ANEXO 1), densamente ramificado e folhoso, com folhas elípticas e verde escuras (MENDES, 2011). O fruto desperta interesse por suas qualidades organolépticas (PICON, 1989); é uma baga globosa, com casca fina, cor amarelo-canário quando maduro, e aveludada, pesando de 30 a 800 g, apresentando formato arredondado ou achatado, com diâmetro longitudinal de 5 a 10 cm e transversal de 5 a 12 cm (ANEXO 2). Sua polpa é succulenta, ácida, de coloração amarelo-clara, pouco fibrosa, possui de 4 a 10 sementes oblongas, medindo 0,5 a 1,0 cm de comprimento (SACRAMENTO et al., 2008).

Estudos realizados com a polpa de araçá-boi apontam grande potencial de aproveitamento agroindustrial, por apresentarem boas características físico-químicas e atributos sensoriais de boa aceitabilidade, podendo ser consumido em forma de refresco, doce, néctar, geleia e licor (ROGEZ et al., 2004). Schwartz et al. (2010) comentam que há uma demanda cada vez maior no mercado internacional por frutas com novos aromas, sabores e texturas e que o Brasil, em função de sua enorme biodiversidade e condições edafoclimáticas, é um país com imenso potencial para fornecer esses recursos naturais vegetais.

A planta de araçá-boi produz durante, praticamente o ano inteiro (MENDONÇA et al., 2001) e, com isso, dependendo do manejo do cultivo, se vislumbra a possibilidade de gerar trabalho e renda, continuamente no campo, sem o problema de sazonalidade, comum em diversos cultivos.

2.2 Características biométricas e dormência das sementes de araçá-boi

A semente de araçá-boi apresenta tegumento coriáceo e espesso (ANEXO 3). A superfície externa é marrom-escuro, com aspecto de couro-camurça. Internamente, o tegumento é liso e marrom-claro. Quanto à forma podem apresentar-se reniforme, achatada, discoidal, com comprimento superior à largura ou vice-versa, quase esférica, sendo que a morfologia predominante é reniforme com achatamento lateral (ANJOS & FERRAZ, 1999).

As sementes de araçá-boi apresentam dormência, e segundo Pinedo et al. (1981), quando postas a secar, sob condições de ambiente à sombra, começam a perder a viabilidade a partir de 24 horas, mostrando poder germinativo de 70% após 5 dias. O mesmo autor atribui essa dormência devido ao tegumento, que ao secar torna-se resistente à ruptura pelo embrião.

A dormência de sementes tem papel relevante para a perpetuação das espécies. Por outro lado, constitui-se em grande problema para a propagação em nível comercial, principalmente se a dormência for inerente à semente. Os fatores intrínsecos relacionados com a dormência de sementes são, principalmente, a dureza e a impermeabilidade do tegumento à água e aos gases, embrião imaturo e presença de inibidores da germinação (CARDOSO, 2004).

Gentil & Ferreira (1999) confirmaram que o tegumento das sementes de araçá-boi apresenta restrição mecânica para expansão do embrião. Nesse estudo, os autores constataram que a retirada total do tegumento proporcionou maior porcentagem, velocidade e menor tempo médio de germinação, e que a retirada parcial do tegumento, no lado oposto ao rompimento do embrião, apresentou a mesma resposta germinativa das sementes intactas. Em estudo realizado por Mendes (2011) revelou-se que a retirada parcial do tegumento do lado da protrusão da raiz favoreceu a germinação das sementes de araçá-boi.

Algumas substâncias encontradas em sementes podem interferir no processo de germinação. Esses inibidores da germinação podem estar localizados em diferentes estruturas da semente. Para Sert et al. (2009), entre essas substâncias, destacam-se o ácido abscísico e os compostos fenólicos. Esses mesmos autores sugerem a lixiviação como método para a superação da dormência causada por esses inibidores. Espécies da família Myrtaceae são constantemente relacionadas como produtoras de compostos secundários, especialmente compostos fenólicos (PIETROVSKI et al., 2008; REYNERTSON et al., 2008)

Essas substâncias de reserva e outros compostos presentes na semente são fundamentais para a propagação de espécies nativas, pois estão relacionados com a germinação, potencial de armazenamento e estabelecimento da plântula (MENDES, 2011).

De acordo com Carvalho & Nakagawa (2000), em geral, as sementes de maior tamanho foram mais bem nutridas durante o seu desenvolvimento, possuindo embrião bem formado e com maior quantidade de substâncias de reserva sendo, conseqüentemente, as mais vigorosas. A maior quantidade de reserva aumenta a probabilidade de sucesso no estabelecimento da plântula (HAIG & WESTOBY, 1991), pois permite a sobrevivência por maior tempo em condições ambientais desfavoráveis.

Popinigis (1985) afirma que o tamanho da semente, em muitas espécies, é indicativo da qualidade fisiológica, sendo assim a caracterização biométrica de frutos e de sementes tem importância para a taxonomia, na identificação de variedades e para verificar a ocorrência de variações fenotípicas (CARDOSO & LOMÔNACO, 2003; PINTO et al., 2003).

2.3 Embebição de água e germinação de sementes de araçá-boi

A água é fator que exerce determinante influência no processo de germinação de sementes. A reidratação dos tecidos resulta da absorção de água pelas sementes com intensificação da respiração e demais atividades metabólicas, que fornecem energia e nutrientes para a retomada do crescimento do eixo embrionário. Ao absorver água os cotilédones da semente aumentam de volume o que provoca o rompimento do tegumento, facilitando a emergência do eixo hipocótilo radicular e demais estruturas internas da semente (BORGES et al., 2009). Portanto, estando iniciado o processo de embebição, isto resultará na germinação das sementes (MARCOS FILHO, 2005; ANDRADE et al., 2006), dando seguimento ao ciclo de vida distribuindo as plantas na natureza (SOUZA et al., 2007).

Conforme Castro & Hilhorst (2004) a embebição é um processo puramente físico, relacionado com as propriedades dos colóides, e depende da ligação da água à matriz da semente. Cardoso (2004) destaca que o componente matricial é o principal responsável pelo movimento de água no início da embebição, mas com maior disponibilidade de água livre o componente osmótico torna-se muito participativo.

O processo de germinação das sementes inicia-se após a absorção de água, com subsequente rompimento do tegumento pela radícula e posterior desenvolvimento da raiz principal. Esta absorção segue padrão trifásico na maioria das espécies, onde a fase I ocorre de forma rápida, devido à diferença de potencial de água, entre a semente e o substrato (MARCOS FILHO, 2005).

A fase II da germinação é caracterizada por redução drástica na velocidade de absorção, com aumento da difusão de solutos para regiões de marcante metabolismo, principalmente, na região do embrião. A fase III inicia-se com a emissão da raiz primária, e só

ocorre em sementes não dormentes. Essas três fases originam a curva de absorção de água pela semente contribuindo para a padronização de testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012; FERREIRA et al., 2006).

A semente do araçá-boi é do tipo recalcitrante (GIAGOMETTI & LLERAS, 1992), portanto, perde rapidamente sua viabilidade e germinação com o decréscimo do grau de umidade da semente.

De acordo com Gentil & Ferreira (1999), a qualidade fisiológica de sementes de *E. stipitata* é afetada pela redução do teor de água, pois o teor crítico de água, quando se inicia a perda da viabilidade, pode estar entre 58,8 e 47,1%, e seu teor letal de água, a partir do qual não ocorre germinação, próximo a 25,8%.

Além disso, a semente de araçá-boi possui uma protuberância meristemática superficial que, quando injuriada, pode regenerar, como observado por Gentil & Ferreira (1999), mas também pode atrasar a germinação ou formar plântulas anormais.

2.4 Condutividade elétrica de sementes de araçá-boi

Como acontece para todas as culturas, a utilização de sementes de boa qualidade é fundamental para o estabelecimento de populações adequadas em campo. Para uma análise mais completa da qualidade de sementes, faz-se necessário complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação com testes de vigor, possibilitando, assim, selecionar os melhores lotes para semeadura. Os testes de vigor devem ser rápidos, de fácil execução, não exigir equipamentos complexos, devendo ser igualmente aplicáveis para determinar o vigor tanto de uma semente, como de um lote delas e com eficiência para detectar tanto pequenas como grandes diferenças de vigor (MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO & NAKAGAWA, 2012).

A condutividade elétrica de sementes é considerada como um teste de vigor, no qual se avalia a corrente elétrica, através de uma ponte de condutividade na solução de embebição, e a perda de íons do interior da célula para o meio exterior, envolvendo processos bioquímicos inteiramente relacionados com a desorganização dos sistemas de membranas das células (MARQUES et al., 2002). O conjunto de características ou propriedades que determinam o potencial fisiológico, ou seja, a capacidade das sementes em apresentar desempenho adequado quando expostas a diferentes condições ambientais é o que se denomina vigor (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012). Sua avaliação permite a detecção de possíveis diferenças na qualidade fisiológica de lotes que apresentem poder germinativo

semelhante e que podem exibir comportamentos distintos, em condição de campo ou mesmo durante o armazenamento.

Segundo Vieira & Krzyzanowski (1999), fatores como características da semente (danos mecânicos, injúrias por insetos, tamanho e genótipo), tempo e temperatura de embebição, teor de água, qualidade e volume de água e tamanho do recipiente de embebição podem afetar os valores de condutividade. Portanto, a adequação do teste de condutividade elétrica é fundamental para sua aplicação nas diferentes espécies.

No teste de condutividade elétrica de sementes, os menores valores correspondem à menor liberação de exsudatos, indicando maior vigor pela melhor organização das membranas. Em trabalho realizado com *Coffea arabica* L., Malta et al. (2005) verificaram que sementes pequenas apresentaram maiores valores de condutividade elétrica. Isto pode ter ocorrido devido o fato das sementes pequenas terem maior área específica que as grandes, o que possibilitou absorção de água mais rápida, liberando mais eletrólitos na solução de leitura.

2.5 Métodos de superação de dormência de sementes de araçá-boi

Para que o conhecimento de tratamentos pré-germinativos garanta eficiente germinação das sementes, é necessário se obter práticas de propagação e produção de mudas de boa qualidade de araçá-boi.

A maioria dos trabalhos para superar a dormência das sementes está concentrada em tratamentos físicos (escarificação, remoção do endocarpo) e químicos (ácido sulfúrico). Em *Eugenia stipitata* o método mais eficiente para superar a dormência consiste na retirada do impedimento pontualmente no local da protusão da raiz primária (MENDES, 2011), no entanto, esta técnica pode danificar o embrião, ocasionando desenvolvimento anormal da plântula.

Outros métodos indutores de superação da dormência de sementes podem ser utilizados, como a escarificação química por NaClO e o osmocondicionamento em substâncias orgânicas e inorgânicas, objetivando-se a formação de maior número de plântulas viáveis.

A escarificação inibe a termodormência das sementes, aumentando a permeabilidade do tegumento ao oxigênio, água e solutos, bem como, facilitando a remoção ou oxidação de inibidores de germinação (FERREIRA & RANAL, 1999).

Diversos trabalhos comprovam a eficiência desses métodos de superação de dormência como os resultados obtidos por Rodrigues et al. (2012), os quais observaram o

aumento na germinação de sementes de alface, cv. Maioba, osmocondicionadas e tratadas com NaClO.

Freitas et al. (1990) também observaram o aumento substancial da germinação de sementes de capim-marmelada quando tratadas em hipoclorito de sódio até o período 12 horas de imersão.

2.6 Osmocondicionamento na germinação de sementes de araçá-boi

O osmocondicionamento consiste na hidratação controlada das sementes em uma solução osmótica, estimulando seu metabolismo sem, contudo, permitir a emissão da raiz primária (NASCIMENTO, 2004). Esse condicionamento ativa a degradação, translocação e assimilação de reservas, permitindo com que as sementes alcancem estado metabólico relativamente uniforme ao interromper o fornecimento de água.

O favorecimento da germinação ocasionada pelo osmocondicionamento deve-se ao acúmulo de solutos provenientes do início do metabolismo da semente, promovendo a emergência da radícula e a formação da plântula em menor espaço de tempo (ALBUQUERQUE et al., 2009). Para o osmocondicionamento são utilizados agentes osmóticos inorgânicos como o nitrato de potássio (KNO_3) e agentes osmóticos orgânicos como a sacarose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), a água (H_2O), entre outros (KISSMANN et al., 2011).

No processo de condicionamento, além de permitir melhor aeração das sementes, as moléculas de KNO_3 , permitem que os íons sais penetrem no interior das células das sementes influenciando diretamente no metabolismo das mesmas (MARCOS FILHO, 2005).

A eficiência do osmocondicionamento pode ser alterada pela duração do tratamento, tipo de solução e pelas características dos lotes de sementes utilizados, conforme observado para sementes de beterraba (COSTA & VILELA, 2006) e cebola (CASEIRO & MARCOS FILHO, 2005), cujo desempenho e a germinação das sementes mostraram-se reduzidos nas condições avaliadas.

Diversos trabalhos têm comprovado que o osmocondicionamento acelera a germinação, permitindo a emergência mais rápida e uniforme das plântulas no campo (NASCIMENTO & ARAGÃO, 2004; PEREIRA et al., 2008; ARAÚJO et al., 2011).

Nascimento (2004), afirma que a velocidade de germinação pode não sofrer influência da pré-embebição, sendo este, um tratamento que não necessariamente influencia a germinação de todos os tipos de sementes. De acordo com Nascimento & Aragão (2004) e Pereira et al. (2008) o osmocondicionamento é mais eficiente em sementes de baixo à médio vigor.

2.7 Biospeckle como ferramenta auxiliar na determinação da viabilidade de sementes de araçá-boi

A busca por métodos de avaliação da viabilidade das sementes, de modo não destrutivo e eficaz, faz com que novas técnicas promissoras sejam aprimoradas. A técnica de correlação de *speckle* tem se mostrado excelente alternativa para o estudo da atividade biológica por revelar o movimento aleatório intercelular, além de ser um teste não destrutivo e em tempo real.

O *speckle* pode ser classificado em estático ou dinâmico. No padrão estático não ocorre evolução temporal do *speckle*, porque os centros espalhadores de luz presentes na superfície do material não apresentam movimentação. Para amostras onde a superfície apresenta algum tipo de atividade, o padrão é denominado dinâmico, ou seja, os centros espalhadores de luz estão em movimentação, como por exemplo, sementes, folhas e superfícies recém pintadas (BRAGA JR, 2000; SILVA, 2007). Essa movimentação, proveniente da atividade metabólica, pode ser maior ou menor, dependendo do estado de maturação, crescimento ou deterioração do material biológico, bem como da quantidade de água, temperatura e iluminação (RODRIGUES, 2003).

O *speckle* é um fenômeno óptico puramente ligado à coerência da luz (LIMA, 2010), este surge quando incidimos luz laser na superfície de um material. O *speckle* dinâmico, quando proveniente de material biológico, é também conhecido como *biospeckle* (BRAGA JR, 2001). Esse termo é definido como sendo a figura de interferência formada ao incidir o laser em um processo dinâmico e observar o chamado fenômeno do ferverilhamento na atividade de um organismo vivo (RODRIGUES, 2003).

Neste trabalho foi utilizado um laser de diodo operando em modo contínuo (CW) com comprimento de onda 532 nm, e potência fixada em 20 mW, uma lente de dispersão de feixe para aumentar o spot do laser (diâmetro do feixe) de modo que atingisse área maior na semente. O feixe do laser incidiu na superfície das amostras durante um intervalo de tempo de 5 minutos (ANEXO 4). O espalhamento gerado na superfície da amostra foi captado por uma câmara CCD (charge coupled device), acoplada a um microcomputador (FARIAS et al., 2016). Um esquema do arranjo experimental descrito está ilustrado no Anexo 5.

De acordo com Rodrigues et al. (2007), se o objeto difusor se modifica, os grãos individuais do padrão de *speckle* também alteram. Isso permite supor que os padrões de *biospeckle* contêm informações sobre o movimento do objeto.

Uma técnica muito útil para a avaliação temporal e espacial de *speckle* capturados em instantes diferentes é a THSP (*Time History Speckle Pattern*), também conhecido como STS

(*Spatial Temporal Speckle*). É o que se tem proposto para a análise de nível de atividade de material biológico, como apresentados por Romero (1999) e Rabelo (2000). Essa ferramenta já havia sido utilizada também por Oulamara (1989), Xu et al. (1995) e Bergkvist (1997).

Devido à complexidade do *biospeckle* seria conveniente dispor de um modelo que descrevesse ao menos as características principais do fenômeno (BRAGA JÚNIOR, 2000). O padrão gerado pelo *biospeckle* é dinâmico e aleatório, e deve ser analisado com técnicas de processamento de padrão e tratamento estatístico, uma vez que a observação visual permite apenas a identificação da existência do fenômeno, mas não permite quantificá-lo (RABAL et al., 1998).

Neste contexto, a finalidade da THSP é a construção de uma imagem formada pela retirada sucessiva de linhas das imagens originais do material observado. Ela é construída a partir da cópia de pixels de uma linha, previamente selecionada, das imagens obtidas em sequência temporal e na posterior colagem uma nova imagem (LUCENA, 2012).

A formação da THSP possui padrões de speckle com 320 pixels de largura por 240 pixels de altura (320x240), neste caso é copiada a linha da posição x de cada padrão e colado uma abaixo da outra. A imagem resultante deste procedimento representa as linhas de pixels ao longo do tempo (ANEXO 6). Ela carrega informações temporais e espaciais das intensidades de pixels das imagens originais (LUCENA, 2012).

Os diferentes níveis de atividade na THSP e as variações de intensidade dos pixels são mostrados na direção vertical das diferentes linhas, enquanto a variação espacial, na direção horizontal, que são as colunas. Como resultado desta operação, obtém-se uma figura bidimensional que mostra a evolução temporal de uma mesma linha de *speckle* (LUCENA, 2012).

Neste trabalho, para cada semente utilizada foi captado um vídeo (ANEXO 7), o qual foi transformado em 94 imagens que foram comparadas duas a duas de modo que obtivesse apenas a diferença das atividades entre elas (ANEXO 8). Essas imagens foram editadas pelo programa GIMP (GNU Image Manipulation Program).

O *biospeckle* configura-se como uma valiosa ferramenta no auxílio a estudos de diversas áreas do conhecimento, especialmente a agronomia, podendo ser utilizado para avaliar o potencial germinativo de sementes (SILVA, 2007).

Braga Júnior et al.(2001), realizaram a análise de sementes com a técnica do *biospeckle*, e afirmaram que o uso do laser apresenta grande potencialidade, pois permite identificar danos em sementes com fins de avaliar a viabilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, K. S.; GUIMARÃES, R. M.; GOMES, L. A. A.; VIEIRA, A. R.; JÁCOME, M. F. Condicionamento osmótico de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 4, p.100-109, 2009.
- ANDRADE, R. A.; JESUS, N.; MARTINS, A. B. G. Embebição e germinação de sementes de Camu-camu. **Acta Scientiarum Agronomy**, p. 499-501, 2006.
- ANJOS, A. M. G.; FERRAZ, I. D. K. Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *Sororia*). **Acta Amazônica**, v.29, n.3, p.337-348, 1999.
- ARAUJO, P. C.; TORRES, S. B.; BENEDITO, C. P.; PAIVA, E. P. Condicionamento fisiológico e vigor de sementes de maxixe. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n. 3, p. 482-489, 2011.
- BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. **Seed: ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination**. San Diego: Academic Press, 1998, 666p.
- BERGKVIST, A. **Biospeckle-based study of the line profile of light scattered in strawberries**. 62 f. Dissertation (Master in Science) - Faculty of Technology at Lund University, La Plata, 1997.
- BEWLEY, D. D.; BLACK, A. M. **Seeds: physiology of development and germination**. NewYork: Plenum, p. 445-447, 1994.
- BORGES, R. C. F.; COLLAÇO JUNIOR, J. C.; SCARPARO, B.; NEVES, M. B.; CONEGLIAN, A. Caracterização da curva de embebição de sementes de pinhão-mansô. **Revista científica eletrônica de engenharia florestal**, v. 8, n. 13, p. 1-8, 2009.
- BOTEGA, J. V. L, BRAGA JR, R. A.; MACHADO, M. P. P.; LIMA, L. A.; FARIA, R. O. Avaliação da interferência do laser no material biológico vivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.4, p.483-486, 2009.
- BRAGA JR, R. A.; BORÉM, F. M.; RABAL, H. J.; TRIVI, M. R.; ARIZAGA, R.; DAL FABBRO, I. M.; SALEH, B. B. Avaliação da influência da umidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) na análise pela técnica do biospeckle laser. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.21, n.1, p.101-106, 2001.

BRAGA JR, R. A. Potencial do Bio-Speckle laser para Avaliação da viabilidade de sementes. **Ciência e Agrotecnologia**, 2001.

BRAGA JR., R.A. Seeds characterization by dynamic speckle patterns: a proposal. In: Environmental and Industrial Sensing Conference, Boston. **Anais...Boston: SPIE**, 2000, 1 CD Rom.

CARDOSO, G.L.; LOMÔNACO, C. Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambes. (Myrtace) em uma área de transição cerrado-vereda. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.26, n.1, p.131-140, 2003.

CARDOSO, V.J.M. Dormência: estabelecimento do processo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: ARTMED, p. 95-108, 2004.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Jaboticabal, FUNEP, p.590, 2012.

CASEIRO, R.F.; MARCOS FILHO, J. Métodos para a secagem de sementes de cebola submetidas ao condicionamento fisiológico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.4, p.887-892, 2005.

CASTRO, R. D.; HILHORST, H. W. M. Embebição e Reativação do Metabolismo. In: FERREIRA, A. G. e BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Artimed, Porto Alegre, p. 149-162, 2004.

CLEMENT, C. R. et al. Conservação on farm. In: NASS, L. L. (Org.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

CLEMENT, C.R. ARKCOLL, D.B. The peji-baye palm: economic potential and research priorities. A pupunha: potencial econômico e prioridades para a pesquisa. In: WICKENS, G., HAQ, N., e DAY, P. **New Crops for Food and Industry**. Chapman e Hall, New York. p. 304-322, 1989.

COSTA, C. J.; VILLELA, F.A. Condicionamento osmótico de sementes de beterraba. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.28, n.1, p.21-29, 2006.

FARIAS, E. E.; LIMA, E.; SILVA, A. M.; SILVA, J. F.; LUCENA, D. J. F.; OLIVEIRA, M. C.; SANTOS, C. I. C.; MOURA, M. L. S.; CHAGAS, E. A. **Aplicação da técnica de Biospeckle em Pesquisas da Região Amazônica**. UFRR/Boa Vista, p.18, 2016.

FERREIRA, G.; GUIMARÃES, V. F.; PINHO, S. Z.; OLIVEIRA, M. C.; RICHART A, BRAGA, J. F.; DIAS, G. B. Curva de absorção de água em sementes de atemoia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.) cv. gefner. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 28, n.1, p. 121-124, 2006.

FERREIRA, W.R.; RANAL, M.A. Germinação de sementes e crescimento de plântulas de *Brassica chinensis* L. var. Parachinensis (Bailey) Sinskaja (couve-da-malásia). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.3, p.353-361. 1999.

FREITAS, R. R.; CARVALHO, D. A.; ALVARENGA, A. A. Quebra de dormência de sementes de capim-marmelada. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.2, n.2, p. 31-35, 1990.

GENTIL, D.F.O.; FERREIRA, S.A.N. Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *sororia*). **Acta Amazônica**, Manaus, v.29, n.1, p.21-31, 1999.

GIACOMETTI, D; LLERAS, E. Mirtáceas subtropicales. In: HERNÁNDEZ B, J.E.; LEON, J. **Cultivos marginados: otra perspectiva de 1492**. Roma: FAO, p. 227-235. 1992, (FAO: colección Producción y protección vegetal, 26).

HAIG, D. WESTOBY, M. Seed size, pollination casts and angiosperm success. **Evolutionary Ecology**, London, v. 5, p. 231-247, 1991.

KISSMANN, C.; SCALON, S.P.Q.; SCALON FILHO, H.; VIEIRA, M.C. Biorregulador e pré-condicionamento osmótico na germinação de sementes e no crescimento inicial da muda de carobinha (*Jacaranda decurrens* subsp. *Symmetrifoliolata* Farias & Proença) – Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.58-67, 2011.

LIMA, E. **Caracterização Experimental do Limiar Laser de Sistemas Espalhadores com Ganho**. Tese de Doutorado – Universidade Federal da Paraíba, 2010.

LUCENA, D. J. F. **Ferramenta para Cálculo de Descritores de Texturas a partir de um volume de Speckle**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Alagoas, 2012.

MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A.; CHAGAS, S. J. R. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 5, p. 1015-1020, 2005.

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

MARQUES, M. A.; PAULA, R. C. RODRIGUES, T. J. D. Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex. Benth). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.24, n.1, p.271-278, 2002.

McVAUGH, R. Tropical American Myrtaceae. Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. **Fieldiana Botany**, v.29, n.3, p.145-228, 1956.

MENDES, A. M. S. *Eugenia stipitata* ssp. *Sororia* McVaugh (araçá-boi) - **Myrtaceae: abordagem fisiológica e morfoanatômica da semente, germinação e plântula**. 117 f. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, 2011.

MENDONÇA, M. S.; BARBOSA, T. C. T. S.; ARAÚJO, M. G. P.; OLIVEIRA, M. G. P. Morfologia floral de algumas frutíferas ocorrentes em Manaus. Manaus: EDUA, 2001. 56.p.

NASCIMENTO, W. M. **Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa, Circular Técnica, v. 33, p. 12, 2004.

OLIVEIRA, J. R.; DUARTE, N. F.; GONÇALVES, L. D.; SOUZA, F. V. P.; SILVA, J. C. O.; SILVA, U. T. G. Aplicabilidade do laser Biospeckle nas Ciências Agrárias. In: II Semana de Ciência e Tecnologia IFMG, Campus Bambuí, 2009.

OULAMARA, A.; TRIBILLON G.; DUVERNOY J.; ARIZAGA, R.; TRIVI, M.R.; RABAL, H. J. Speckle time evolution characterization by co-occurrence matrix analysis. **Optics e Laser Technology**, v. 4-5, n.3, p.1-7, 1999.

PEREIRA, M.D.; DIAS, D.C.F.S.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Germinação e vigor de sementes de cenoura osmocondicionadas em papel umedecido e solução aerada. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.137-145, 2008.

PICÓN, B. C. **El cultivo de araza**. Iquitos, INIA, p.8, 1989.

PIETROVSKI, E.F.; MAGINA, M.D.A.; GOMIG, F.; PIETROVSKI, C.F.; MICKE, G.A.; BARCELLOS, M.; PIZZOLATTI, M.G.; CABRINI, D.A.; BRIGHENTE, I.M.C.; OTUKI, M.F. Topical anti-inflammatory activity of *Eugenia brasiliensis* lam. (Myrtaceae) leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v.60, n.4, p.479-487, 2008.

PINEDO, P. M.; RAMIREZ, N.; BLASCO, M. L. **Notas preliminares sobre elaraza (*Eugenia stipitata*), frutal nativo de la Amazônia Peruana**, Pub. Misc. 229, Instituto Nacional de Investigación Agrária, Lima, Peru, p. 58, 1981.

PINTO, W.S.;DANTAS, A. C. V.; FONSECA, A. A. O; LEDO, C. A. S. ; JESUS, S. C. CALAFANGE, P. L. P.; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 1059-1066, 2003.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, p. 289, 1985.

RABAL, H. J.; BRAGA JÚNIOR, R. A.; TRIVI, M. R.; DAL FABBRO, I. M. O uso do laser na agricultura. In: XXVII CONBEA, Poços de Caldas, 1998.

REYNERTSON, K.A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M.J.; KENNELLY, E.J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v.109, n.4, p.883-890, 2008.

RODRIGUES, D.L.; LOPES, H. M.; SILVA, E. R. Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. **RevistaTrópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n.1, p. 52, 2012.

RODRIGUES, S. **Análise do Biospeckle Laser na diferenciação de Tecidos Vivos e Mortos em Sementes**. 41f. Tese de mestrado – Universidade Federal de Lavras, 2003.

RODRIGUES, S. **Efeito Estocástico em Speckle Dinâmico**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de campinas, 2007.

RODRIGUES, S.; BRAGA JR., R.A.; RABELO, G.F.; FABBRO, I.M.D.; ENES, A.M. Aplicação do speckle dinâmico na análise de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.9, n.2, p.119-124, 2007.

ROGEZ, H.; BUXANT, R.; MIGNOLET, E.; SOUZA, J.N.S.; SILVA, E.M.; LARONDELLE, Y. Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **European Food Research and Technology**, Berlin, v.218, p.380-384, 2004.

ROMERO, G. G. **Estudio y caracterization de patrones de speckle quevarianen el tiempo.** 133 f. Tese (Doutorado em Física) - Facultad de Ciencias Exactas, Universidade Nacional de Salta, Salta, 1999.

SACRAMENTO, C. K.; BARRETTO, W. S.; FARIA, J. C. Araçá-boi: uma alternativa para agroindústria. **Bahia Agrícola**, Salvador, v.8, p.22-24, 2008.

SCHWARTZ, E.; FACHINELLO, J.C.; BARBIERI, R.L.; SILVA, J.B. Avaliação de populações de *Butia capitata* de Santa Vitória do Palmar. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, p.736-745, 2010.

SERT, M.A.; BONATO, C.M.; SOUZA, L.A. Germinação de sementes. In: SOUZA, L.A. (org.) **Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação**: Ponta Grossa: TODA PALAVRA, p.91-118, 2009.

SILVA, E.R. Estudo **das propriedades do biospeckle e suas aplicações**. Tese de mestrado, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2007.

SOUZA FILHO, M.S.M.; LIMA, J.R.; NASSU, R.T.; BORGES, M.F. Avaliação físico-química e sensorial de néctares de frutas nativas da Região Norte e Nordeste do Brasil: Estudo Exploratório. **Brazilian Journal Food Technology**, v.5, p.139-143, 2002.

SOUZA, E. B; PACHECO, M. V; MATOS, V. P; FERREIRA, R. L. C. Germinação de sementes de *Adenantha pavoninal* em função de diferentes temperaturas e substratos. **Revista Árvore**, v. 31, n. 3, p.437-443, 2007.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p. 1-26,1999.

XU, Z, JOENATHAN, C, KHORANA, B. M. Temporal and spatial properties of the time varying speckles of botanical specimens. **Optical Engineering**, v.34, n.5, p.1487-1502, 1995.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a caracterização biométrica, germinação e estudo de técnicas convencionais e modernas para superação de dormência de sementes de araçá-boi.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar a caracterização biométrica e obter a curva de absorção de água e o estudo do vigor de sementes de araçá-boi.

Avaliar a eficiência do osmocondicionamento promovido por nitrato de potássio e sacarose na germinação de sementes de araçá-boi, em diferentes tempos de imersão.

Estudar o uso da técnica do *biospeckle* na determinação da viabilidade e vigor das sementes correlacionando com o comportamento germinativo e desenvolvimento das plântulas no campo.

Estudar a possibilidade de uso da técnica do *biospeckle* como ferramenta auxiliar na redução do tempo para avaliação de tratamento de superação de dormência em sementes de araçá-boi.

ARTIGO I –BIOMETRIC CHARACTERIZATION, WATER ABSORPTION CURVE AND VIGOR ON ARACA-BOI SEEDS

Abstract - Araca-boi is a fruit which awakes great interest for presenting pulp of quality. Their seeds are recalcitrant and present a relatively short period of viability. The water absorption by seeds is a mechanism of growth resuming of the embryo with a subsequent of the tegument breakage by the radical. The seed electric conductivity is a vigor testing is directly related to the membrane permeability. Study of the curve of water absorption by the araca-boi seeds will contribute to characterize their germination process. In this context, studies concerned with seeds were conducted, which characterized the mass, biometrics, water content, electric conductivity and water imbibition by seeds. It was found that the populations studied plants, from Manaus-AM, produces small, medium and large seeds and which present 70.2%, 68.2% and 47.5% of moisture. The greatest water increase takes place in the first hour of absorption, regardless of the size of seeds and water absorption velocity is not influenced by their size. The imbibition curves characterized in the 144-hour period, independent of the size of seeds, show changes of two physiological phases. Both the large and medium seeds present smaller conductivity values, obtaining smaller percentages of germination for possessing increased vigor indices.

Key-words: viability, recalcitrant seeds, seeds, germination, native fruit.

INTRODUCTION

The Araca-boi (*Eugenia stipitata ssp. Sororia* McVaugh) is a promising alternative crop for the Amazon countries and although it is not yet widespread, arouses interest due the physical chemical characteristics of its fruit and sensory attributes of good acceptability^{23 - 21}.

Despite the ease of cultivation, the Araca-boi has physiological characteristics which requires care in seedling production process, since they have recalcitrant seeds which cannot tolerate dehydration or low storage temperatures and also feature viability period relatively short.

The reserve substances and other compounds present in the seed are essential for the propagation of native species because they are related to germination process, storage potential and seedling establishment¹⁸.

⁸ showed that the larger seeds were better nourished during its development and so their embryo are well constituted and have a higher amount of reserve substances, consequently, are most vigorous. The largest amount of reserves increases the probability of success in seedling establishment ¹³ because it allows for longer survival in unfavorable environmental conditions.

¹⁹ concluded that the size of the seed, in many species, is indicative of the physiological quality and so the biometric characterization of fruits and seeds is very important for taxonomy, identification of varieties and confirmation the occurrence of phenotypic variation ⁶⁻²⁰.

The germination is initiated after absorption of water, with subsequent rupture of the seed coat and further development of the radicle and main root. The absorption phase follows the standard in most species where the first phase occurs rapidly due to the osmotic potential difference between the seed and the substrate ¹⁶. In second germination phase characterized by a drastic reduction in the absorption speed and increasing solute diffusion for high rate metabolism regions, mainly in the embryo. Finally, in Phase III begins with the issuance of the primary root, and only occurs in non-dormant seeds. Thus these three phases generate the seed water absorption curve contributing to the standardization of tests for evaluation of seed quality ⁷⁻¹¹.

Although the understanding of germination course there are other important reviews. The electrical conductivity is considered as a seed vigor test, which evaluates the electrical current through of conductivity in the soaking solution and the loss of inner cell leached into the external environment involving biochemical processes entirely related to the disruption of cell membrane systems ¹⁷. In the electrical conductivity of seed testing, the lowest values correspond to lower release of exudates indicating greater vigor. In this context, the objective was to perform biometric characterization, get the water absorption curve and the study of the effect of Araca-boi seeds.

MATERIALS AND METHODS

Material Collection

The seeds used in this study were derived from fruits of different populations of *E. stipitata* in different stages of maturation collected in Manaus, Amazonas, in November of 2013. The seed extraction was performed manually followed by washing in running water with a sieve of aid for the complete removal of mucilage. Then were dried in the air for 2 hours with an average temperature of 25 ° C. Then the seeds were quantified and grouped in

three sizes in accordance with the masses: (1) Large: seeds with more than 0.78 g, (2) Medium: seeds between 0.77 g and 0.19 g and (3) Small: seedless than 0.18g.

Biometrics seeds and weighing the material

150 seeds were selected from each group, which remained in 25 ° C environment during 12 hours and then was obtained mass (g) with accuracy of 0.001 g. To determine the biometrics was measured length, width, and thickness (mm) of the seed with a digital caliper.

Water content (%)

20 seeds were used for each group and placed in plastic cups with four replications of five seeds. The seeds were soaked in water for 72 hours and weighed on a precision balance, 0.001 g, were then placed in an oven at 105 ° C for 24 hours⁴. The seed water content was calculated as follows:

$$\text{Water content (\%)} = 100 \times (P1 - P2) / P1$$

Where: P1 = mass of the wet sample; P2 = mass of dry sample.

Electrical Conductivity

The pattern of leaching of exudates was evaluated for seeds of the three groups, using four replications of 25 seeds, previously weighed on analytical balance with a precision of 0.001 g and packed in containers with 75 mL of distilled water, kept in 25 ° C ambient temperature, for 24 hours. After the period of soaking solution was stirred gently and the conductivity reading performed with a conductivity meter. The results are divided by its initial weight of the seed. Values are expressed in $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ for seed.

Soaking

We used 100 seeds randomly chosen from the three groups, placed in plastic cups, with four replications of 25 seeds. It was determined the initial mass of each repetition in each cup was and so added 75 mL of water in these. The seeds were soaked in water for periods of 1, 2, 3, 5, 9, 15, 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours at 24 ° C to room temperature.

At each time interval, shorter initially (1 hour) and then higher (24 hours) were performed successive weighing to evaluate the variation of the humid mass in each period and time. Every time the seeds were removed from the water and completely dry in absorbent paper, weighed and returned to the plastic containers.

The soaking of the seeds was measured by variation of mass identified in successive weighing up to 144 hours.

The data were analyzed by the computer program Sisvar¹⁰. The values were submitted to analysis of variance and the means compared by Tukey test at 5% probability¹².

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the determination of individual mass of 150 seeds confirm that the size separation performed in the initial sample into three groups composed of large seeds, medium and small was effective (Table I). The values of the mean of the masses obtained for the seeds were following: 1.37g, 0.64g and 0.08g for large seeds, medium and small, respectively.

Table I. Mean values * of length, width, diameter and mass of the Araca-boi seeds used in this study.

Seed size	length (mm)	width (mm)	Diameter (mm)	Mass (g)
Small	7.17	6.09	4.90	0.08
Medium	14.27	10.55	8.06	0.64
Large	19.68	13.04	9.67	1.37

*Average of 25 seeds.

The values recorded in this study for large and medium seeds were superior to those obtained by ², which studied the morphology, germination and water content of the seeds found *Eugenia stiptata* average weight of 0.49 g. Thus the seeds obtained from the plant population established in Manaus-AM, were separated into three groups and were called small, medium and large. The results of the average water content of the seeds, the mean values of the humidity determined in an oven at 105 ° C for 24 hours were 47.5% for large seeds, medium seeds to 68.2% and 70.2% for small seeds.

⁷ demonstrated that the cotyledon seed finalize Phase I with water contents between 35 and 40% and from these levels would begin to Phase II. However these phases may be lengthen or shorten being dependent on properties inherent to seeds and environmental conditions.

Through statistical analysis of the results of water absorption there was no significant interaction between the sources of variation, seed size and immersion period.

The water is a factor that exerts decisive influence on the seed germination process. Rehydration tissue results from the absorption of water by the seeds with intensification of respiration and other metabolic activities, which provide energy and nutrients for the resumption of growth of the embryonic axis. When it absorbs water the seed cotyledons swell which causes the disruption of the seed coat facilitating the emergence of the root hypocotyl

axis and other internal structures of the seed ³. Therefore when starting the soaking process this will result in seed germination ¹⁶⁻¹, following the life cycle distributing plants in nature ²².

The Figure 1 depicts the wet weight of the seeds and so checking up the progress of cases through the water absorption curves by seed small, medium and large over the observed period.

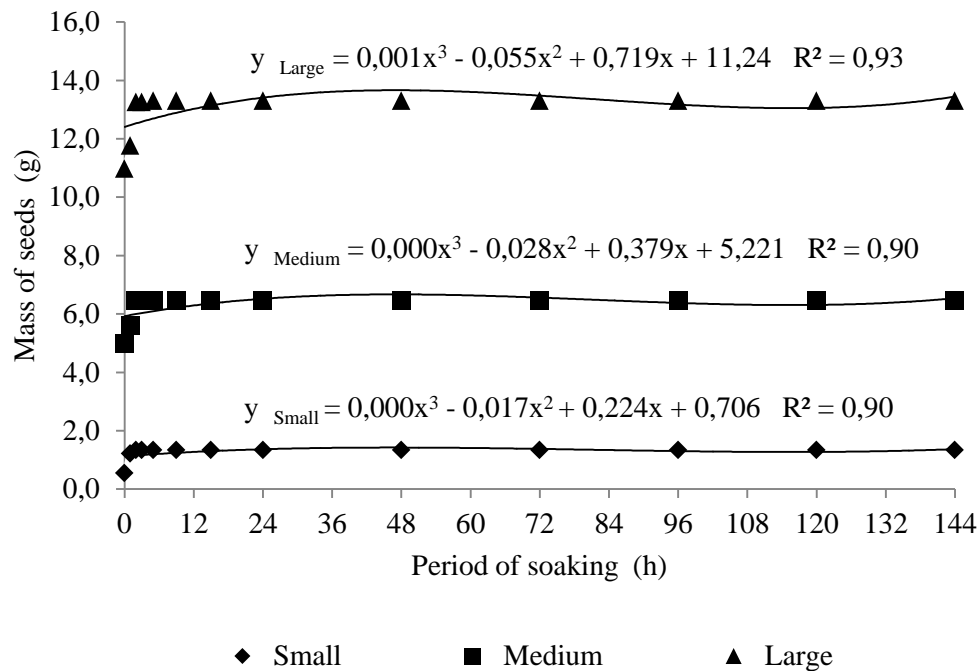


Figure 1. Mass (g) of seeds (small, medium and large) Araca-boi soaked in water until the period of 144 hours.

In Figure 2, we can see through the approximation of wet mass curve of large seeds (L), medium (M) and small (S) of Araca-boi the two physiological stages of soaking.

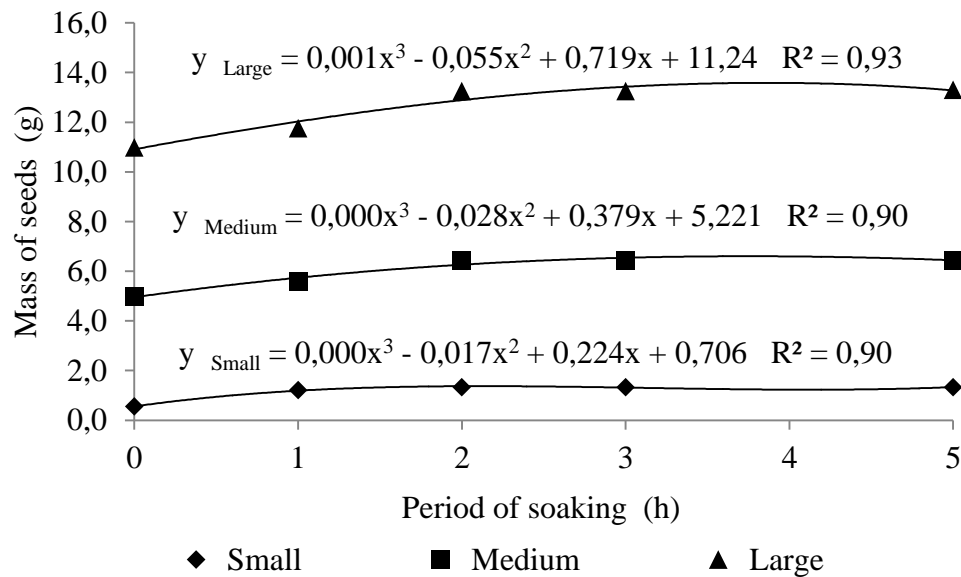


Figure 2. Mass (g) of seed (small, medium and large) of Araca-boi soaked in water until the period of 5 hours.

Regardless of the class the seeds present the phase I occurred in the first two hours, when there was rapid increase in the wet weight from this period there was stabilization of water absorption. Which characterizes the phase II (stationary) of the curve.⁹ on germination of two types of studies plum (sour and sweet) as a function of pre-soaking of the endocarps water (0h, 48h, 96h and 144h) found no effect of this treatment on germination.

⁸ demonstrated what the soaking is a purely physical process associated with the properties of colloids and depends on the binding of water to the seed matrix.⁵ points out that the matrix component is primarily responsible for the movement of water at the start of soaking but with greater availability of free water osmotic component becomes very participatory.

In Figure 3 there is an increase in the amount of water in seeds, in 144 hours of soaking.

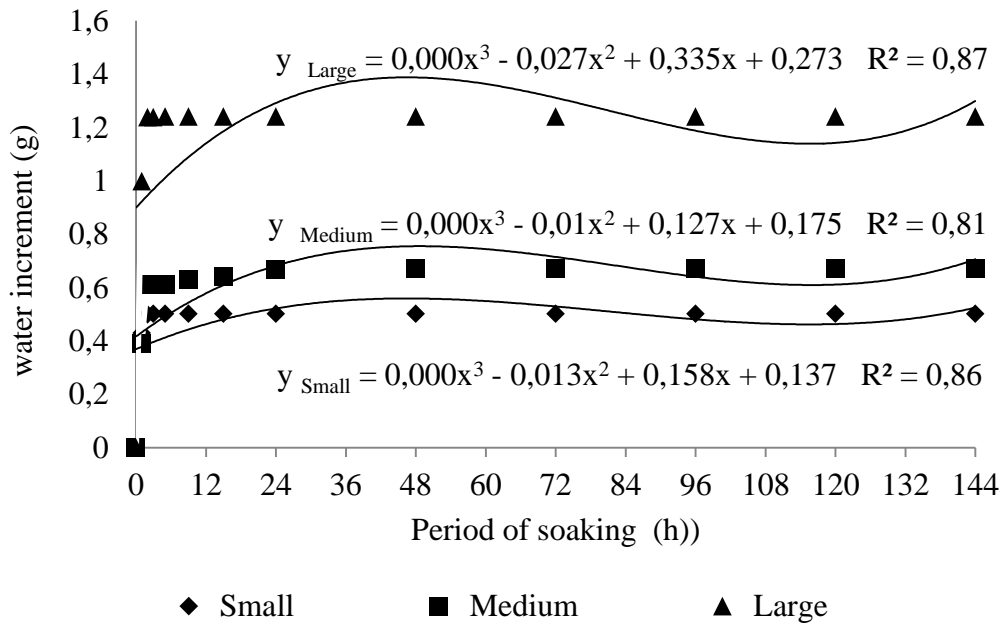


Figure 3. Water Increment (g) found in the seeds (small, medium and large) of Araca-boi immersed in water up to the period of 144 hours.

In Figure 4 there is a greater increase in the amount of water the seeds in the first two hours of soaking. In the following hours monitoring the seeds maintained constant pace in the gain amount of water (mass) approaching for medium and small seeds of Araca-boi.

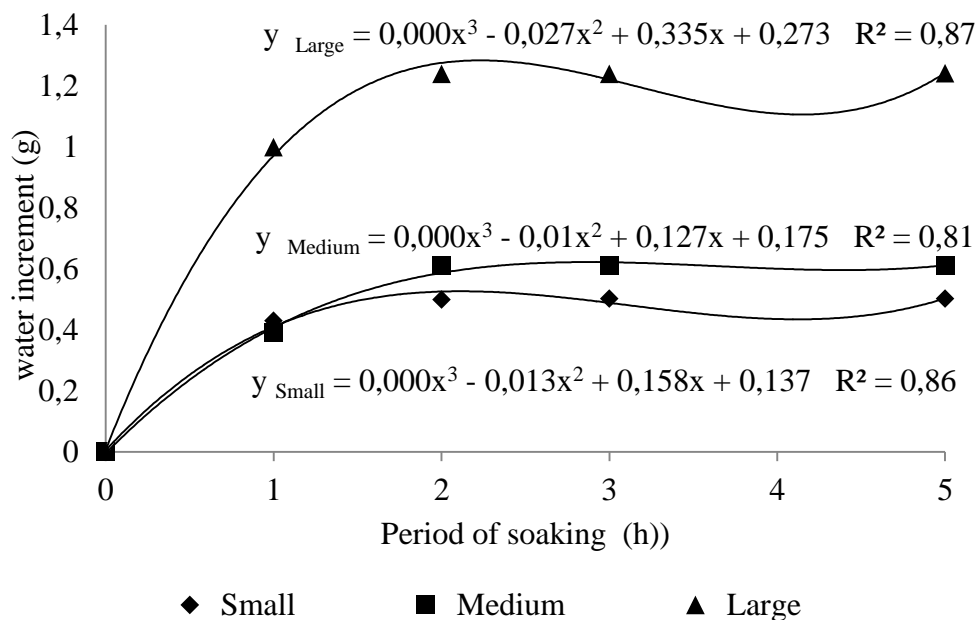


Figure 4. Water Increment (g) found in the seeds (small, medium and large) Araca-boi immersed in water until the period of 5 hours.

The process of the seed water soaking sequential triggers metabolic changes that culminate in root protrusion when referring to non-dormant viable seeds ⁷. The seeds

evaluated in this study since they presented dormancy showed no protrusion of radicle at the end of the weighing performed for 144 hours of immersion and thus not observed the Phase III.

¹⁴ found low germination of freshly collected seeds of *Caesalpinia ferrea* attributed to the low gain during soaking. This would be showing that the seeds presented cutaneous numbness. Similar result was observed in this study for both large seeds as for medium and small Araca-boi.

The speed of verified water absorption was not affected by seed size indicating no seed coat permeability difference of large seeds in relation to medium and small Araca-boi used in this paper.

The imbibition curves characterized the period of 144 hours regardless of the size of the seeds showed the changes of the first two physiological stages. The first phase lasted two hours and the second phase lasted until the end of the monitoring for 144 hours immersion. In this stage the soaking of seeds remained constant showing an important step towards the standardization of vigor tests.

The average electrical conductivity obtained for small seeds, medium and large of Araca-boi are shown in Table II. It was observed the relationship between seed size and electrical conductivity. Small seeds showed higher conductivities which gives an indication of lower force for greater release of electrolytes for immersion solution.

Table II. Mean values of electrical conductivity (EC) of immersed seeds in water within 24 hours germination and seedling emergence speed obtained from Araca-boi seeds at the end of 100 days.

Seed size	EC ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	Germination (%)	Emergence rate (Index)
Large	0.79a	71a	1.94
Medium	1.70a	64a	1.45
Small	12.04b	2 b	0.06

Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey test at 5% probability.

¹⁵ conducted an experiment using *Coffea arabica* L. and also concluded that small seeds had higher electrical conductivity. This may be due the fact that the small seeds have more specific area that large allowing faster absorption of water and releasing more electrolytes in reading solution.

The positive correlation between the electrical conductivity, the percentage of germination and seed emergence rate index is shown in Table 3. Note that the large and medium seeds had lower conductivity values, indicating higher zips and consequently, higher percentages of germination and emergence rate higher rates (Figure 5).

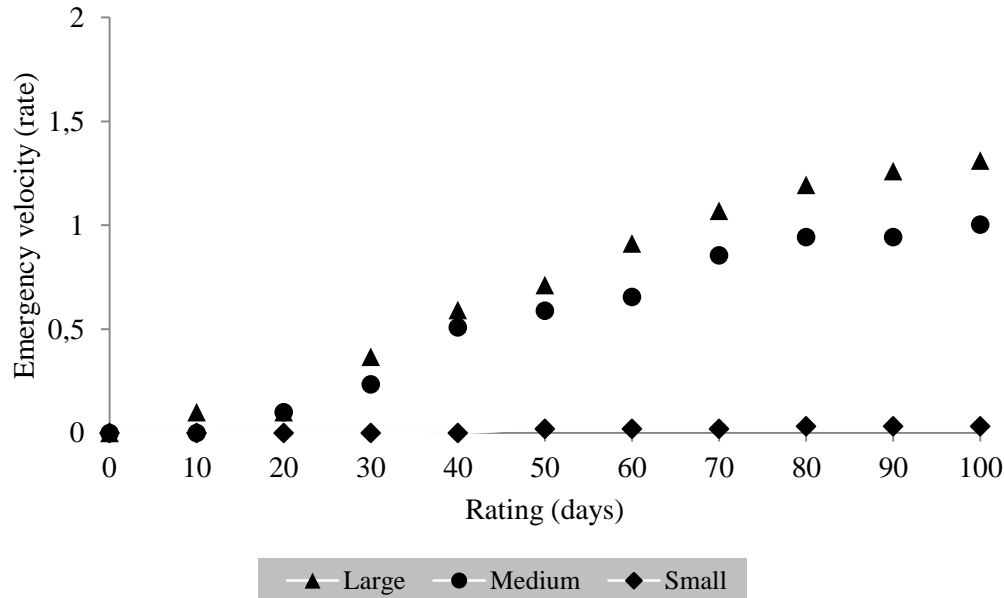


Figure 5. Emergency-Velocity (rate) of cumulative seedlings obtained from seeds of Aracaboi up to 100 days.

The result obtained in this study indicates that the different sizes of seeds observed relate to the degree of maturity of the same and which can be proven by the high water content and electrical conductivity of small seeds resulting in reduced germination of them. However, further studies can be carried out with the aim of better understanding of this aspect in seeds from other populations.

CONCLUSIONS

The populations studied plants, from Manaus-AM, produce small seeds, medium and large and have 70.2%, 68.2% and 47.5% moisture respectively.

The largest increment of water by the seed occurs the first time regardless of the size and water absorbing rate is not influenced by its size.

The inhibitions curves characterized during this period also regardless of the size of the seeds and show two physiological stages.

Large and medium seeds have lower conductivity values and then high germination percentage because they have higher levels of vigor.

ACKNOWLEDGEMENTS

The National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the doctor scholarship and scientific research and the State of the Environment Foundation Environment and Water Resources (FEMARH) for financial support.

REFERENCES

- 1 Andrade, R. A., Jesus, N., Martins, A. B. G. (2006). Embebição e germinação de sementes de Camu-camu. *Acta Scientiarum Agronomy*, 499-501.
- 2 Anjos, A. M. G., Ferraz, I. D. K. (1999). Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *Sororia*). *Acta Amazônica*, **29**, 3, 337-348.
- 3 Borges, R. C. F., Collaço Junior, J. C., Scarparo, B., Neves, M. B., Coneglian, A. (2009). Caracterização da curva de embebição de sementes de pinhão-manso. *Revista científica eletrônica de engenharia florestal*, **8**, 13, 1-8.
- 4 Brasil. (2009). Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de semente*. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Produção Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. Brasília, DF, 365.
- 5 Cardoso, V. J. M. (2004). Germinação. In: Kerbauy, G. B., *Fisiologia Vegetal*. Guanabara-Koogan, C. **17**, 386-407.
- 6 Cardoso, G.L., Lomônaco, C. (2003). Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambes. (Myrtace) em uma área de transição cerrado-vereda. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, **26**, 1, 131-140.
- 7 Carvalho, N. M., Nakagawa, J. (2012). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Jaboticabal, Funep, 590.
- 8 Carvalho, N.M., Nakagawa, J. (2000). *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 4ed. Jaboticabal: Funep, 588.
- 9 Costa, N. P., Bruno, R. L. A., Souza, F. X., Lima, E. D. P. A. (2001). Estádio de maturação do fruto e do tempo de pré-embebição de endocarpos na germinação de sementes de umezeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Câm.). *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, **23**, 3, 738-741.
- 10 Ferreira, D. F. (2011). Sisvar: a computer statistic alanalysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, **35**, 6, 1039-1042.
- 11 Ferreira, G.; Guimarães, V. F; Pinho, S. Z.; Oliveira, M. C.; Richart A, Braga, J. F.; Dias, G. B. (2006). Curva de absorção de água em sementes de atemoia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.) cv. gefner. *Revista Brasileira Fruticultura*, **28**, 1, 121-124.
- 12 Gomes, F. P. (2000). *Curso de estatística experimental*. 14 nd ed. Piracicaba, 477.

- 13 Haig, D., Westoby, M. (1991). Seed size, pollination casts and angiosperm success. *Evolutionary Ecology*, London, **5**, 231-247.
- 14 Lima, J. D., Almeida, C. C., Dantas, V. A. V., Silva, B. M., Moraes, W. S. (2006). Efeito da temperatura e do substrato na germinação de sementes de *caesalpinia ferrea* mart. extul. (leguminosae, caesalpinoideae). *Revista Árvore*, **30**, 4, 513-518.
- 15 Malta, M. R., Pereira, R. G. F. A., Chagas, S. J. R. (2005). Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, **29**, 5, 1015-1020.
- 16 Marcos Filho, J. (2005). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: Fealq, 495.
- 17 Marques, M. A., Paula, R. C., Rodrigues, T. J. D. (2002). Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes de jacarandá-da-bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. Ex. Benth). *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, **24**, 1, 271-278.
- 18 Mendes, A. M. S. (2011). *Eugenia stipitata* ssp. *Sororia* McVaugh (araçá-boi) - Myrtaceae: abordagem fisiológica e morfoanatômica da semente, germinação e plântula. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, 117.
- 19 Popinigis, F. (1985). Fisiologia da semente. Brasília: *Agiplan*, 289.
- 20 Pinto, W.S., Dantas, A. C. V., Fonseca, A. A. O., Ledo, C. A. S., Jesus, S. C., Calafange, P. L. P., Andrade, E. M. (2003). Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, **38**, 1059-1066.
- 21 Rogez, H., Buxant, R., Mignolet, E., Souza, J.N.S., Silva, E.M., Larondelle, Y. (2004). Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*) and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *European Food Research Technology*, **218**, 380-384.
- 22 Souza, E. B., Pacheco, M. V., Matos, V. P., Ferreira, R. L. C. (2007). Germinação de sementes de *adenanthera pavonina* L em função de diferentes temperaturas e substratos. *Revista Árvore*, **31**, 3, 437-443.
- 23 Souza Filho, M.S.M., Lima, J.R., Nassu, R.T., Borges, M.F. (2002). Avaliação físico-química e sensorial de néctares de frutas nativas da Região Norte e Nordeste do Brasil: Estudo Exploratório. *Brazilian Journal Food Technology*, **5**, 139-143.

ARTIGO II – OSMOPRIMING IN ARACA-BOI SEEDS GERMINATION

Abstract- Osmopriming is the controlled hydration of seeds in an osmotic solution, which stimulates their metabolism, translocation and assimilation of reserves, and thus allowed anticipation of the germination process. In this context, the objective of this study was to evaluate the osmopriming efficiency promoted by Sucrose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) and Potassium Nitrate (KNO_3) on the germination of araca-boi (*Eugenia stipitata*) seeds in different immersion times. To this end, seeds were osmoprimed in solutions of $C_{12}H_{22}O_{11}$, KNO_3 , $KNO_3 + C_{12}H_{22}O_{11}$ and H_2O in period of 6, 12 and 24 hours. During 70 days, germination percentage and speed of germination index were evaluated. The experiment consisted of a completely randomized design in a factorial 4 X 3 scheme, with four replications of 10 seeds. Araca-boi seeds Osmopriming in KNO_3 solution was efficient to promote germination and speed of germination index. Araca-boi seeds osmopriming in KNO_3 presented 99% germination until the 70th day of evaluation.

Keywords - *Eugenia stipitata*. Dormancy. Priming.

Introduction

Araca-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh) is a native fruit species of the Amazon, which belongs to the Myrtaceae family. It is widely distributed in the Western Amazon, and is usually grown in Peru, Bolivia, Ecuador, Colombia and Brazil on a small scale (CHÁVES FLORES & CLEMENT, 1984).

Araca-boi fruits have great potential for agro-industrial use due to the good physical and chemical characteristics and to sensory attributes that determine acceptability (ROGEZ *et al.*, 2004).

Araca-boi seeds germination is hypogeal, cryptocotylar and usually occurs at 50 to 280 days from the beginning to the end of the germination process (ANJOS & FERRAZ, 1999). Some studies had presented seeds dormancy as one of the major causes of the occurrence of this long germination period, as well as the slowness in the seedling emergence of this species.

Araca-boi seeds dormancy would occur due to the presence of germination inhibitors, such as abscisic acid and phenolic compounds, and leaching could remove dormancy caused by these inhibitors (Sert *et al.*, 2009).

Dormancy of araca-boi seeds would also be caused by seed husk impermeability (PINEDO *et al.*, 1981). Gentil and Ferreira (1999) confirmed that araca-boi seed husk present mechanical restriction of embryo expansion. In a study carried out by Mendes (2011), it was revealed that the partial removal of the seed husk on the side of the root protrusion favored the germination of araca-boi seeds.

Other inductive methods for overcoming seed dormancy may be used, such as osmopriming in organic and inorganic substances, aiming at the formation of a greater number of viable and uniform seedlings.

Osmopriming consisted in the controlled hydration of seeds in an osmotic solution, could stimulate the metabolism without the emission of the primary root (NASCIMENTO, 2004a). This conditioning activates degradation, translocation, and assimilation of reserves, allowed the seeds to achieve relatively uniform metabolic status by interrupting the water supply.

For osmopriming, inorganic osmotic agents, such as potassium nitrate (KNO_3); and organic osmotic agents, such as sucrose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$), water (H_2O), among others were used (KISSMANN *et al.*, 2011). Several studies had shown that osmopriming could speed up germination, and allow for more rapid and uniform emergence of seedling (NASCIMENTO; ARAGÃO, 2004, PEREIRA *et al.*, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2011).

Speed of germination index might not be influenced by pre-imbibition, which is a treatment that did not necessarily influence the germination of every kind of seeds (NASCIMENTO, 2004a; NASCIMENTO, 2004b). According to Nascimento and Aragão (2004) and Pereira *et al.* (2008), osmopriming was more efficient in seeds of low to medium vigor.

Araca-boi seeds used in this study had the main characteristic of long germination period. It would reach up to eight months to get 100% germination; thus, it required treatments to anticipate and uniform germination, and increase the speed of germination index for obtaining plantlets.

The objective of this study was to evaluate the osmopriming efficiency promoted by Sucrose ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) and Potassium Nitrate (KNO_3) on the germination of araca-boi seeds in different immersion times.

Material and methods

Seeds used in this study were obtained from ripe fruits of *E. stipitata*. Fruits were collected in the city of Manaus, in November 7th-9th, 2013. Seeds extraction was carried out manually, followed by washing under running water, with the aid of a sieve, for the complete

removal of mucilage. Afterwards, seeds were placed to dry in natural environment for two hours, at average temperature of 25°C. Then, medium sized seeds (mass of 64g) were selected for the experiment establishment.

All the seeds were stored in containers, immersed in distilled water, which was changed every three days until the experiment completion. The experimental design was completely randomized with four replications of 10 seeds, in a factorial 4 X 3, with four osmopriming treatments and three conditioning times. The first factor was composed of four osmopriming: 1 - sucrose solution (30 g L⁻¹); 2 - KNO₃ solution (4.5 g L⁻¹ with osmotic potential of -1,1MPa, and concentration based on the Van't Hoff equation (HILLEL, 1971); 3 - sucrose solution + KNO₃; and only distilled 4 - H₂O. The second factor was composed of three osmopriming periods (6, 12 and 24 hours).

Seeds were removed from the container and then immersed in a NaClO solution at 2% active chlorine for 60 minutes, for disinfection. Then, washed in distilled water and packed in plastic boxes (Gerbox®), which had been previously lined with filter paper moistened with osmopriming solutions equivalent to 2.5 times the paper weight, according to each treatment. Subsequently, the plastic boxes (Gerbox®) containing the seeds were kept in a B.O.D chamber (Biochemical Oxygen Demand) at 10°C, in the dark, wrapped with plastic bag to prevent solution evaporation, in the periods established.

In order to quantify the germination percentage, seeds were washed in distilled water, and put back in plastic boxes (Gerbox®) after each conditioning period (6, 12 and 24 hours). Plastic boxes had been previously lined with filter paper, and distilled water was added to cover one third of the seeds. Then, seeds were incubated in B.O.D chamber at 25°C, for 70 days. Every other 7 days, germination percentage and speed of germination index (IVG) were determined according to Maguire (1962), in which $IVG = N1/D1 + N2/D2 + Nn/Dn$, where N1, N2 and Nn = number of germinated seeds in the first, second, to the last count; and D1, D2 ... Dn = number of days from sowing to the first, second and last count.

Data were submitted to the normality and homogeneity tests, and to analysis of variance, using the software SISVAR (FERREIRA, 2011). The comparison of means was carried out using the Tukey tests, both at 5% probability (GOMES, 2000). For greater reliability, the experiment had three times, and at the end, joint analysis of data was carried out.

Results and discussion

There was no significant effect of the interaction between the factors tested. Significant effect was found for the factor osmopriming solution, (Table 1). From the results obtained in

the germination test, it was found that until the 70th day, osmopriming treatments using KNO₃ solution provided higher germination percentages. These results proved the efficiency of the osmopriming of araca-boi seeds in KNO₃ solution comparing to other treatments, obtained 99% of germinated seeds.

Table 1 - Mean values of germination percentage and speed of germination index of araca-boi seeds at 70 days after submission to osmopriming in C₁₂H₂₂O₁₁, KNO₃, C₁₂H₂₂O₁₁ + KNO₃ and H₂O

Solution	Germination percentage
KNO ₃	99 a
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	37 b
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ + KNO ₃	27 c
H ₂ O	7 d
Speed of germination index	
KNO ₃	2.14 a
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	1.53 b
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ + KNO ₃	1.51 b
H ₂ O	0.04 c

Means followed by the same lowercase letter in the column do not differ by the Tukey test at 5% probability.

Figure 1 showed the behavior of speed of germination index (IVG) of araca-boi seeds during 70 days of evaluation conditioned in different treatments with osmopriming active solution and water. It was found that the IVG was higher in seeds osmoprimed in KNO₃ solution. These results were similar to those observed for the germination percentage.

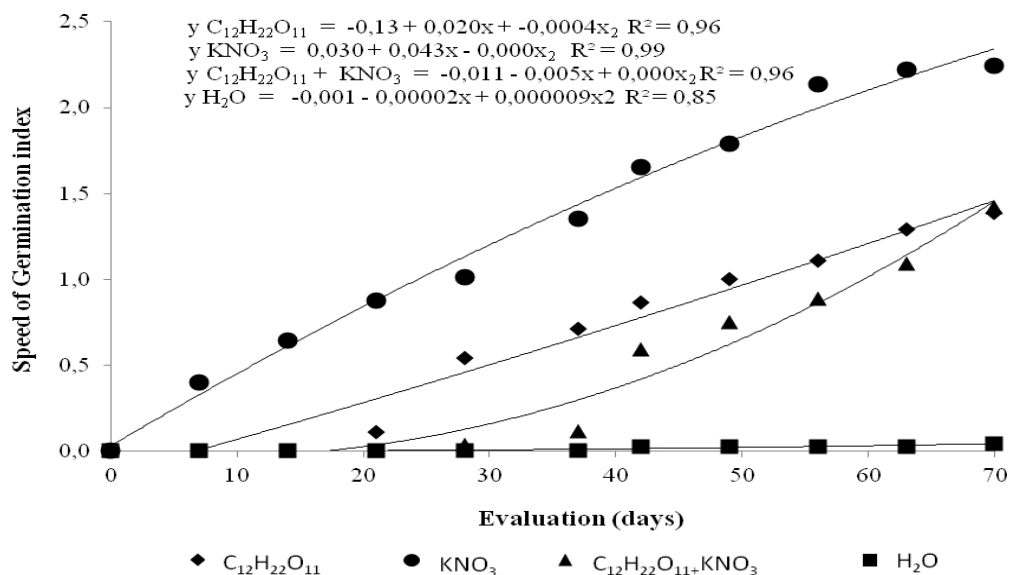


Figure 1 – Speed of germination index of Araca-boi seeds osmoprimed in $C_{12}H_{22}O_{11}$, KNO_3 , $KNO_3 + C_{12}H_{22}O_{11}$ and H_2O until the 70th day.

Araca-boi seeds used in this study had as main characteristic the long germination period, and would require up to eight months to reach 100% germination. In the present study, it was found that osmopriming carried out in KNO_3 solution was efficient in promoting araca-boi seeds germination, showing higher speed of germination, which were significantly higher than the other treatments.

It was also found that seeds treated with osmopriming of KNO_3 solution initiated germination at 7 days after experiments establishment, followed by sucrose treatment. Seeds subjected to osmopriming only in water initiated germination between 42 and 49 days after settlement (Figure 1), reaching a maximum of 7% germination (Table 1). Thus, osmopriming with KNO_3 provided higher germination percentage and it also favored higher speed of germination index.

Sert *et al.* (2009) found that leaching in water may be an effective method for removing the dormancy caused by inhibitors. Castro and Hilhorst (2004) also stated that water imbibition of seeds promotes faster and more uniform germination. However, although water contributed to the leaching of inhibitor compounds, and in some instances, to the increase of the germination percentage and rate, in this study, it was the treatment that presented the lowest results when compared to the others.

In the osmopriming process, KNO_3 molecules allowed better aeration of the seed and penetration of salts ions in the seeds' cells, which directly influenced their metabolism

(MARCOS FILHO, 2005). This could explain the treatments efficiency using KNO_3 in osmopriming of araca-boi seeds.

Similar results to this study were obtained in lettuce seeds by Rodrigues *et al.* (2012). The authors observed that the osmoprimed seeds showed increase in speed of germination index. In experiments carried out with bell pepper seeds, osmopriming in KNO_3 also favored speed of germination index, especially in fruit seeds collected at early maturing (ALBUQUERQUE *et al.*, 2009). Contrary results were also observed in studies on beet (COSTA and VILELA, 2006) and onion seeds (CASEIRO and MARCOS FILHO, 2015), in which performance and seed germination reduced after osmopriming. This demonstrated that possibly osmopriming process efficiency depends on the species.

Increase on germination efficiency promoted by osmopriming in melon and carrot seeds of low vigor was observed by Nascimento and Aragão (2004) and Pereira *et al.* (2008), respectively. On the other hand, lettuce and coffee seeds with high viability, when subjected to osmopriming, showed no increase in the germination efficiency (FESSEL *et al.*, 2001; PERTEL *et al.*, 2001).

Depending on the species, speed of germination index may not be influenced by pre imbibition, which is a treatment that not necessarily accelerates seeds speed of germination index of every species (NASCIMENTO, 2004a; NASCIMENTO, 2004b). This result was related to the characteristics of each species, to the lot and to other morphogenetic properties of seeds, even if osmopriming induced more significant effects in seeds of low and medium vigor, such as those used in this work. Seeds are of low vigor because seeds immersed and imbibed in distilled water did not present more than 7% germination (Table 1 and Figure 1) in 70 days of evaluation.

Conclusions

Osmopriming of araca-boi seeds in KNO_3 solution was efficient to promote germination and to increase speed of germination index.

Araca-boi seeds osmoprimed in KNO_3 presented 99% germination until the 70th day of evaluation.

Acknowledgements

The authors thank the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and the State Foundation for the Environment and Water Resources (FEMARH) for the financial support.

References

- Albuquerque KS, Guimarães RM, Gomes LAA, Vieira AR, Jácome MF (2009). Condicionamento osmótico de sementes de pimentão. *Revista Brasileira de Sementes*, 31(4):100-109.
- Anjos AMG, Ferraz IDK (1999). Morfologia, germinação e teor de água das sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *Sororia*). *Acta Amazônica*, 29(3):337-348.
- Araújo PC, Torres SB, Benedito CP, Paiva EP (2011). Condicionamento fisiológico e vigor de sementes de maxixe. *Revista Brasileira de Sementes*, 33(3):482-489.
- Caseiro RF, Marcos Filho J (2005). Métodos para a secagem de sementes de cebola submetidas ao condicionamento fisiológico. *Horticultura Brasileira*, 23(4):887-892.
- Castro RDC, Hilhorst HWM (2004). Embebição e reativação do metabolismo. In: Ferreira AG, Borghetti F. *Germinação: do básico ao aplicado*. Porto Alegre: Artmed, pp.149-162.
- Chaves Flores WB, Clemente CR (1984). Considerações sobre o araçá-boi (*Eugenia Stipitata* McVaugh, *Myrtaceae*) na Amazônia Brasileira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA. Florianópolis. Anais... Florianópolis: SBF, pp.167-177.
- Costa CJ, Villela FA (2006). Condicionamento osmótico de sementes de beterraba. *Revista Brasileira de Sementes*, 28(1):21-29.
- Ferreira DF (2011). Sisvar: A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, 35(6):1039-1042.
- Fessel SA, Vieira RD, Rodrigues TJD, Fagioli M, Paula RC (2001). Eficiência do condicionamento osmótico em sementes de alface. *Revista Brasileira de Sementes*, 23(1):128-133.
- Gentil DFO, Ferreira SAN (1999). Viabilidade e superação da dormência em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata* ssp. *Sororia*). *Acta Amazônica*, 29(1):21-31.
- Gomes FP (2000). *Curso de estatística experimental*. ed. Piracicaba, 477p.
- Hillel D (1971). *Soil and water: physical principles and processes*. New York: Academic Press, pp. 288.
- Kissmann C, Scalon SPQ, ScalonFilho H, Vieira MC (2011). Biorregulador e pré-condicionamento osmótico na germinação de sementes e no crescimento inicial da muda de carobinha (*Jacaranda decurrens* subsp. *Symmetrifoliolata* Farias & Proença) – Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(1):58-67.
- Maguire J D (1962). Speed of germination-and in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. *Crop Science*, 2(2):176-177.
- Marcos Filho J (2005). *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Piracicaba: FEALQ, pp.495.

- Mendes AMS (2011). *Eugenia stipitata* ssp. *Sororia* McVaugh (araçá-boi) - Myrtaceae: abordagem fisiológica e morfoanatômica da semente, germinação e plântula. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas, Manaus. pp.117.
- Nascimento WM (2004a). Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças. Brasília: Embrapa, Circular Técnica, pp.33:12.
- Nascimento WM (2004b). Muskmelon seed priming in response to seed vigor. *Scientia Agric.* 61(1):114-117.
- Nascimento WM, Aragão FAS (2004). Musk melon seed priming in relation to seed vigor. *Scientia Agrícola*, 61(1):114-117.
- Pereira MD, Dias DCFS, Dias LAS, Araújo EF (2008). Germinação e vigor de sementes de cenoura osmocondicionadas em papel umedecido e solução aerada. *Revista Brasileira de Sementes*, 30(2):137-145.
- Pertel J, Dias DCFS, Dias LAS, Alvarenga EM (2001). Efeito do condicionamento fisiológico na germinação e no vigor de sementes de café (*Coffea arabica* L.). *Revista Brasileira de Armazenamento, Especial*, 3:39-45.
- Pinedo PM, Ramirez N and Blasco ML (1981). Notas preliminares sobre el araza (*Eugenia stipitata*), frutal nativo de la Amazônia Peruana, Pub. Misc. 229, Instituto Nacional de Investigación Agrária, Lima, Peru. pp.58
- Rodrigues DL, Lopes HM and Silva ER (2012). Embebição, condicionamento fisiológico e efeito do hipoclorito de sódio na germinação de sementes de alface. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, 6(1):52.
- Rogez H, Buxant R, Mignolet E, Souza JNS, Silva EM, Larondelle Y (2004). Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *European Food Research Technology*, 218:380-384.
- Sert MA, Bonato CM and Souza LA (2009). Germinação de sementes. In: Souza LA (org.) *Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação*: Ponta Grossa: Toda Palavra, pp.91-118.

ARTIGO III - BIOSPECKLE AS TOOL AUXILIARY IN EVALUATION DORMANCY OVERCOMING ARACA-BOISEEDS

Abstract - The araca-boi is a native fruit of the Amazon known for its organoleptic properties of fruit, however it presents the seed dormancy. The use of coherent light in the evaluation of biological activity has great potential for allowing identify damage in seeds. This technique is based on the phenomenon known as dynamic speckle or *biospeckle*. So we proposed the use of *biospeckle* technique in determining the viability and vigor correlating with the germination behavior and seedling development in the field. The seeds used in Experiment 1 were grouped according to their dimensions in large, medium and small. Then were subjected to the following treatments to break dormancy: (A) control, (B) removal of seed coat with sandpaper aid and (C) removal of seed coat with scalpel. In the osmoconditioning experiment similar seed size were used. To break dormancy were placed in germination boxes, previously lined with filter paper soaked in potassium nitrate solution for 24 h at 25°C. Then the images were obtained by *biospeckle* technique of seed groups submitted to these two different treatments. The use of biospeckle technique was efficient in determining the viability and vigor of the seeds of araca-boi. Large seeds and medium were more active. The speed emergence of large and medium sized seeds and seedling development observed in the experiment corroborate with the data of the activity observed by *biospeckle* technique. Similarly seeds osmoconditioned in KNO₃ for 24 h had higher emergence rate and activity observed by *biospeckle* analysis.

Terms for indexing: dynamic speckle, *Eugenia stipitata*, germination, laser.

Introduction

The *Eugenia stiptata*, Araca-boi, is a fruit species from the Amazon showing great potential agro-industrial presenting fruit of interest physical and chemical characteristics and sensory attributes of high acceptability (Rogez et al., 2004).

The major difficulty in the cultivation of this fruit is the long period for seed germination and seedling emergence which relates to the seed dormancy. This may be related to dormancy hardness and impermeability to water and gases integument, the presence of immature embryo and germination inhibitors (Sert and Bonato, 2009).

Another important factor is the size of the seed, since this characteristic influence on the germination, emergence and also in the germination speed of the same (Costa et al., 2006).

The research for methods of assessing the viability of seeds non-destructive and effectively makes promising new techniques are developed. The *biospeckle* or dynamic speckle is a known phenomenon by using coherent light in the evaluation of the biological activity of living tissue or to study the dynamics of particulate systems.

This phenomenon can be seen when a beam of coherent light is dispersed to cover a surface that displays some kind of dynamic activity (Rodrigues, 2007).

The *biospeckle* is an interference pattern formed by the diffuse reflection of coherent light scattered by interacting with an object that has some type of activity biological or not. The interference pattern changes over time due to structures that scatter the light (Oliveira et al., 2009).

Rodrigues et al. (2007) have postulated that the diffuser object modifies the individual grains of the speckle pattern also change. This suggests that the *biospeckle* patterns contain information about the subject's movement.

In biological material activity analysis level which has been proposed with the use of laser is the analysis of information derived from the autocorrelation function of the Temporal and Spatial Pattern of Speckle (Spatial Temporal Speckle-STS) as presented by (Rabelo, 2000), and (Romero, 1999). This tool also already been used for (Bergkvist, 1997), (Oulamara et al., 1999) and (Xu et al., 1995).

Another STS analysis of the properties is the calculation of the scattering intensities module also termed by some authors as the moment of inertia (mi) which is obtained by Occurrence Matrix (MOC) proposed by (Arizaga et al., 1999).

Due to the complexity of *biospeckle* would be very useful to have a model to describe at least the main features of the phenomenon (Braga Jr, 2000). The pattern is generated by the dynamic and random *biospeckle* and should be analyzed with standard processing techniques and statistical processing since the visual inspection only permits the identification of the existence of the phenomenon but does not quantify it (Rabal et a., 2000).

The *biospeckle* appears as a valuable tool in the studies of different areas of knowledge especially agronomy and can be used to assess the potential germination of seeds (Seitz, 1979).

Braga Jr (2001) conducted the analysis of seeds with the technique of *biospeckle* and demonstrated that the use of laser has great potential since it identifies damage in seeds for purposes of evaluating the feasibility.

In studies conducted in bean seed (*Phaseolus vulgaris L*), Rodrigues et al. (2007) separated living and dead tissue using the *biospeckle* analysis. Bergkvist (1997), emphasize that the incidence of the laser does not significantly affect the activity sheets confirming Seitz

(1979) and Rabelo (2000), what evaluated the influence of laser in oranges metabolism showing that the tissue subjected to a low-power laser did not alter the results *biospeckle* in the time.

The objective of this work was to study the use of *biospeckle* technique in determining the viability and vigor correlating with the germination behavior and seedling development in the field. For this two experiments were conducted in order to evaluate the possibility of *biospeckle* technique use as a tool in reducing the time to evaluate treatment of overcome dormancy in *E. stipitata* seeds.

Material and Methods

Material collection

The seeds used in this study were derived from fruits of different populations of *E. stipitata* collected in the city of Manaus in the period 7-9 November 2013. The seed extraction was performed manually followed by washing under running water with the aid of sieve for complete removal of mucilage. Then were placed to dry in the air for 2 hin average temperature of 25° C.

Experiment 1

Choice of seed

The seeds were quantified and separated according to their size into three groups: (1) Large, seeds weighing more than 0.78 g; (2) Medium, seeds with mass between 0.77 g and 0.19 g and (3) Small, seeds mass less than 0.18g.

Treatments to break dormancy

We selected 96 seeds from each group (Small, Medium and Large) and sequentially numbered from 01 to 288. The seeds were subjected to the following treatments to break dormancy: a) intact seed (control), b) removal of seed coat with grip tape aid, c) with a scalpel and were then submerged in water for 12 hours. After this period the seeds were taken to the Plasma Laboratory of Atomic Spectroscopy (LaPEA) of the Federal University of Roraima in order to employ the *biospeckle* technique.

Experiment 2

Choice of seed

In this experiment all the seeds were selected having the same size obtaining as uniform as possible.

Treatments to break dormancy

80 seeds evenly selected and 40 was separated from the seeds used as control samples then were immersed in a solution of NaClO (2%) in active chlorine for 60 minutes for disinfection. Then washed in distilled water and placed in pre-germination boxes lined with filter paper impregnated in solution of potassium nitrate (KNO_3 -1MPa osmotic potential and its concentration was based on the Van't Hoff equation (Hillel 1971) for 24 hours for osmopriming. The osmopriming was carried out in BOD (Biochemical Oxygen Demand) with temperature of the 10° C. The pre-germination boxes have been involved with plastic bags to prevent evaporation of the solution. After treatment seeds were rinsed in distilled water and were then submerged in water for 12 hours. After this period the seeds were taken to the Plasma Laboratory of Atomic Spectroscopy (LaPEA) of the Federal University of Roraima in order to employ the *biospeckle* technique.

Obtain images in the experiments

Seeds were removed from the water and after the 5 minutes was carried out by the reading laser. The time of image acquisition was around 12 seconds where each treatment consisting of 32 seeds. 288 videos were generated at the end of all the readings of the samples.

The experimental apparatus consisted of He-Ne laser whose wavelength was 632 nm, CCD camera and biconvex lens to the laser divergence in order to ensure that all seed would be illuminated and a microcomputer coupled. The Figure 1 shows the layout of the experimental apparatus used.

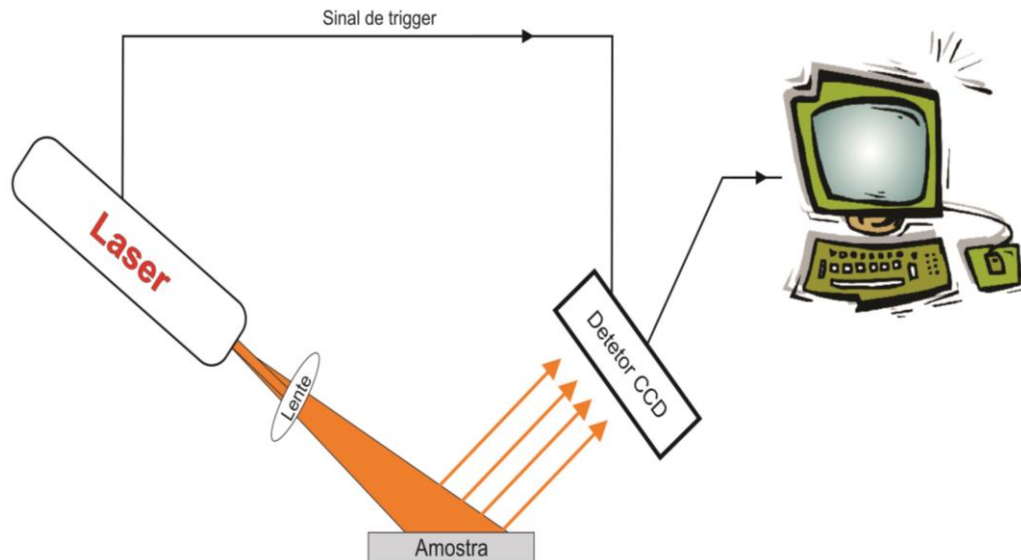


Figure 1: Scheme of the experimental apparatus used in LaPEA.

Images of interpretation

Each 12-second video was converted into 94 pictures. After obtained these images they were edited by Gimp.

The images were compared two by two superimposed so that at the end obtains only the difference between them. After editing these images we obtained 15 patterns of differences for each seed and through these differences we determined the changes occurred through three tracks of pixels of the images chosen randomly.

To interpret the results it was established an area with different activity in the image and given the value of 1 (white color) and the region that showed no difference that is lack of activity received 0 (black color).

Sowing

After the generated images of the experiment 1 the seeds were sown in bed containing sand + sawdust (1:1), evaluated the percentage of emergency and the emergency rate (index), shoot length with ruler aid and number of leaves. At the end of 100 days we assessed the length of the root system, dry weight of shoot and root system using a digital balance with precision 0,001 g.

The experimental design was completely randomized in a factorial 3 x 3 wherein the three seed sizes and three treatments to break dormancy with 9 treatments and four replicates of 8 seeds per replication totaling 288 seeds.

In experiment 2 the seeds were sown in bed containing sand + sawdust (1: 1) being evaluated the percentage of emergency and the emergency rate (index). The design was

completely randomized with two treatments to break dormancy and four replicates of 10 seeds per replication totaling 80 seeds.

The analyzes were done using the software System for Analysis of Variance - SISVAR (Ferreira, 2011). Qualitative data were submitted to Tukey test at 1% probability (Gomes, 2000).

Comparison with the data obtained in the field

The characteristics evaluated after sowing were then compared to images obtained by *biospeckle* to verify if the activities observed with the technical corroborate those obtained in the field.

Results

From Figure 2 it can be seen the difference of activity in large and small seed of *E. stipitata*.

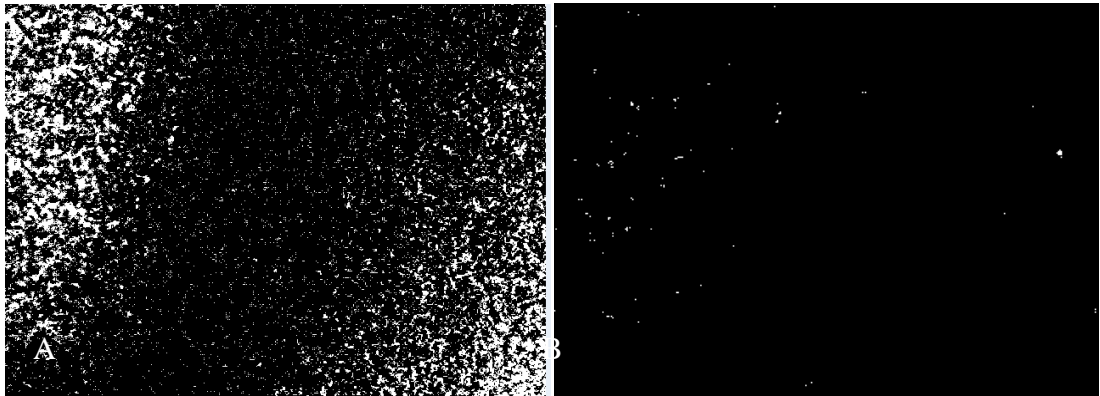


Figure 2 - Activity of images (MOC standard) obtained by *biospeckle* technique used to evaluate the feasibility of large (A) and small (B) seeds of *E. stipitata*.

Most sequence of observed activity in the images generated by *biospeckle* technique in experiment 1 was obtained by large and medium seeds of *E. stipitata*, while small seeds had low activity. The treatments used to speed up the germination process did not influence the activities presented (Figures 3).

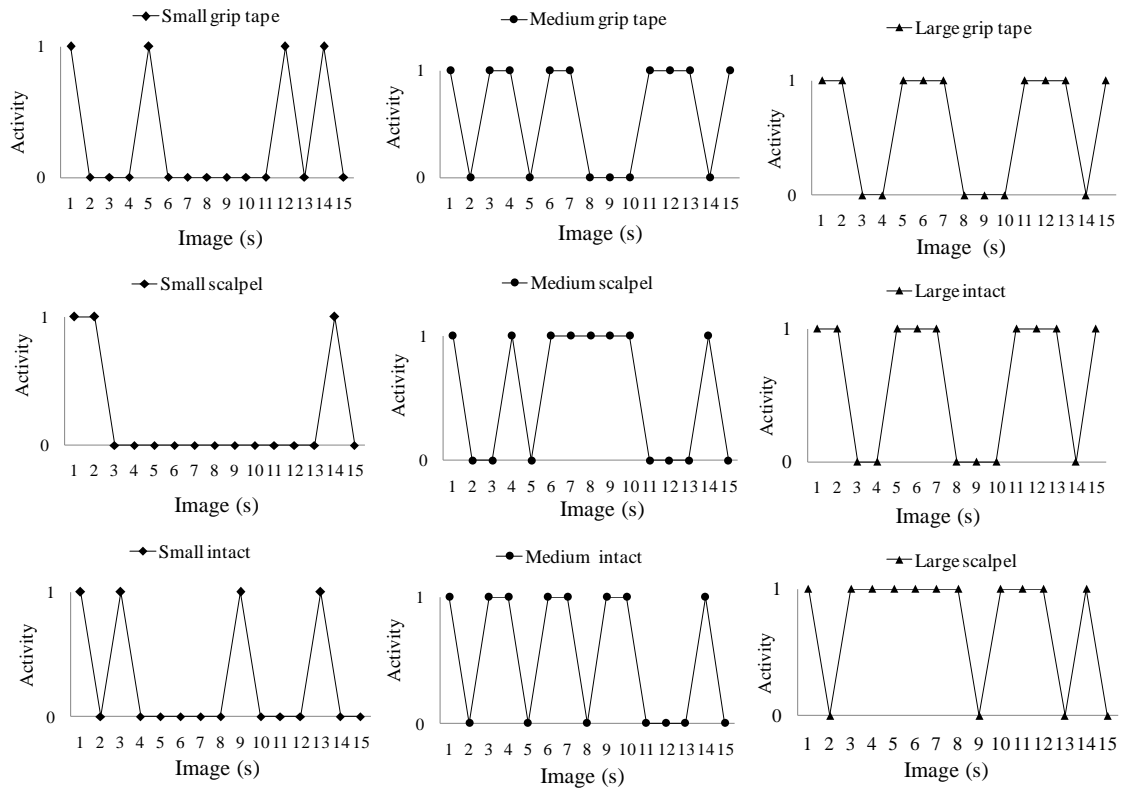


Figure 3 - Activities made by smaller seeds, medium and large after treatments for acceleration of germination process recorded by the technique of *biospeckle*.

We can see that the small seeds showed low activity and consequently had low germination rates. This result is related to the behavior of seeds in the field where it was observed that the seeds sizes were significant in germination percentage and the treatments used to break dormancy also did not influence the field germination (Table 1).

Table 1 - Values of mean squares and their significance for the emergence data of large, medium and small *E. stipitata* seed after treatments to break dormancy

Variation sources	Degrees of release	Square mean
Treatments	2	506.77 ^{ns}
Seeds size	2	19272.44 ^{**}
Treatments x Seeds size	4	89.65 ^{ns}
Error	27	172.34
Total	35	
C.V. (%)		17

^{ns, **} not significant and significant in 1% in Tukey test, respectively. C.V.% = percent coefficient of variation.

Large and medium seeds of *E. stipitata* showed high percentages of germination in the field highlighting the activities observed by *biospeckle* technique. Smaller seeds, which showed low activity, had the lowest percentage of seeds germinated over 140 days of cultivation (Table 2).

Table 2. Emergency Percentage of large, medium and small *E. stipitata* seeds sowed in substrate sand + sawdust over 140 days of cultivation

Seed size	Emergency Percentage
Large	77 a
Medium	70 a
Small	3 b

Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey test at 5% probability.

The percentage of emergence of large and medium seeds did not differ statistically at the end of 140 days showing the positive correlation with the images seen by the technique of *biospeckle* which showed no difference between the activities presented by large and medium sized seeds.

Large and medium seeds also had higher emergency velocity showing good development in the field (Figure 4).

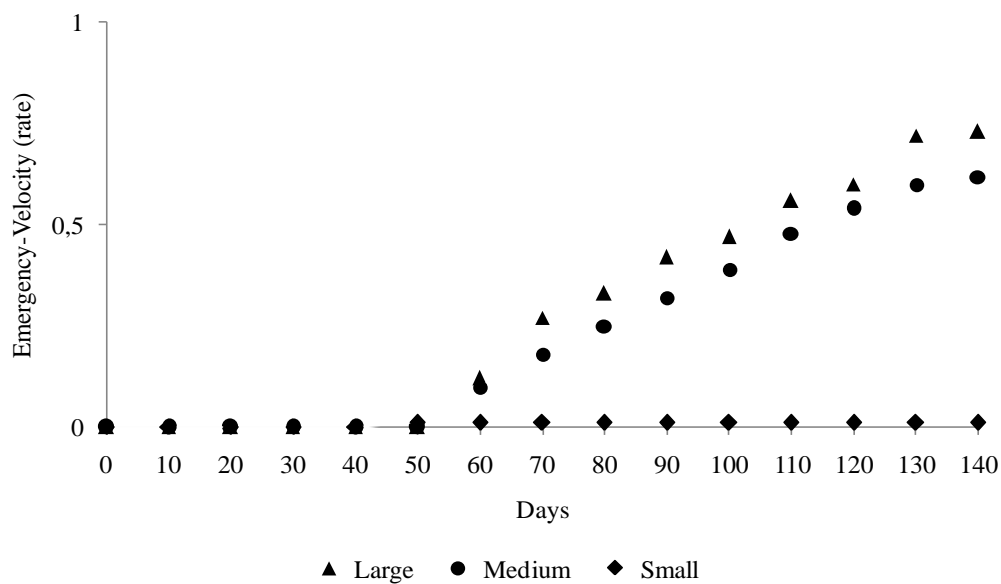


Figure 4 – Emergency-velocity (rate) of cumulative seedlings obtained from large, medium and small seeds *E. stipitata* to 140 days.

Large and medium seeds presented emergency rate similar to the 60 days of cultivation about and from this date there was a greater emergence speed index of large seeds. This result did not influence the emergence percentages of large and medium sized seeds which did not differ statistically at the end of 140 days of cultivation (Table 2).

The characteristics evaluated up to 140 days of cultivation proved that large and medium seeds besides larger germination percentage also showed better seedling development (Table 3).

Table 3. Shoot length (SL), length of the root system (LRS), dry weight of shoot (DWS), dry root weight (DRW) and number of leaves (NL) in leaves of *E. stipitata* emerged to os140 days of cultivation in substrate sand + sawdust after feasibility analysis by *biospeckle*

Seed size	SL (cm)	LRS (cm)	DWS (g)	DRW (g)	NL
Large	15.61 a	12.85 a	0.210 a	0.110 a	20 a
Medium	11.91 b	11.17 a	0.120 b	0.060 b	18 a
Small	0.92 c	1.25 b	0.003 c	0.002 c	3 b
C.V (%)	3.89	4.01	3.32	2.09	2.28

Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey test at 5% probability.

Figure 5 shows that most sequence of the activity observed in the images generated by *biospeckle* technique in experiment 2 was obtained by the seeds osmoconditioned in KNO_3 for 24 hours while the seeds witnesses showed low activity.

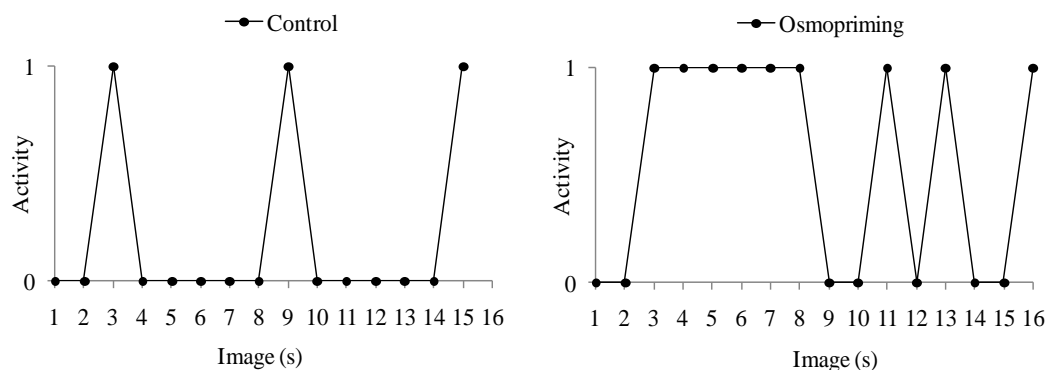


Figure 5 - Activities presented by the osmoconditioned seeds in KNO_3 for 24 hours and seeds used as witnesses recorded by the technique of *biospeckle*.

Table 4 it is observed that there was significant effect of treatment used in breaking dormancy of seeds.

Table 4. Values of mean squares and significance for emergency osmoconditioned seeds in KNO_3 for 24 hours

Variation sources	Degrees of release	Square mean
Treatments	1	190125**
Error	6	12.5 ^{ns}
Total	7	
C.V (%)	7	

^{ns, **} not significant and significant in 1% in Tukey test, respectively. C.V.% = percent coefficient of variation.

Note that the osmoconditioned seeds in KNO_3 for 24 hours showed high activity and therefore had high germination rates. There was a statistical difference between the seeds of *E. stipitata* osmoconditioned in KNO_3 for 24 hours and the witnesses (Table 5).

Table 5. Seed emergency percentage of *E. stipitata* osmoconditioned in KNO_3 for 24 hours sown in substrate sand + sawdust over 63 days of cultivation

Treatments	Emergency Percentage
Osmopriming	100 a
Control	2.5 b

Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey test at 5% probability.

The percentage of emergence of osmoconditioned seeds differ statistically witnesses reaching 100% of emergency at the end of 63 days showing a positive relationship with the images seen by *biospeckle* technique that showed differences between the activities provided by the osmoconditioned seeds and witnesses.

In the osmoconditioned process the KNO_3 molecules allows better aeration of the seed anions salts influx within the cells of the seeds directly influencing the cellular metabolism.

The speed of emergence of osmoconditioned seed was proportional to emergence percentages (Table 5).

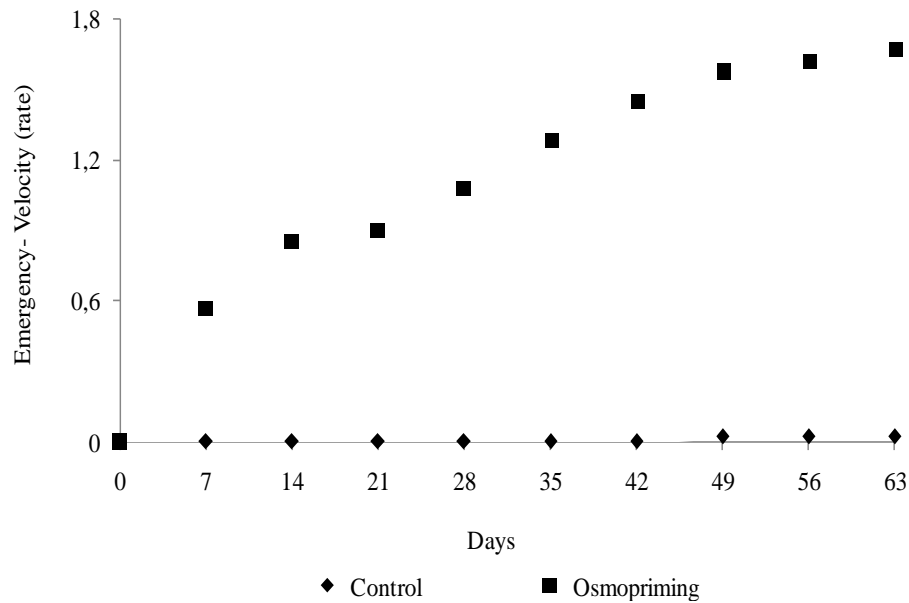


Figura 6 – Emergency-Velocity (rate) of cumulative seedlings obtained from osmoconditioned seeds *E. stipitata* to in KNO_3 for 24 hours up to 63 days.

The osmoconditioned seeds also had higher emergency velocity demonstrating the positive relationship between images acquired by *biospeckle* technique and the behavior of seeds in the field.

Discussion

The images obtained through this technique indicate the index of the biological activity of seeds can be used to evaluate the germination potential (Silva, 2007).

According to (Braga Jr, 2001) the use of the laser offers great potential for identify damage to seeds in the evaluation of viability. This information corroborates studies in bean (*Phaseolus vulgaris* L), by (Rodrigues et al., 2007). The authors managed to separate living tissues of dead using *biospeckle* technique.

In studies on the influence of seed size in the germination of early bacuripari (*Rheedia gardneriana*), (Nascimento, 2004) observed higher speeds and germination percentages for larger seeds. Further emergency rate were also observed by large and medium seeds of jambovermelho (*Sysygiumm alaccense*) (Carvalho, 2012).

The seedlings emerged of the large seeds had higher shoot lengths and greater dry mass of shoot and root. However, in relation to the length of the root system and the number of leaves, medium and large seeds seedlings did not differ statistically, presenting this way, uniformity.

These results showed the efficiency of the use of *biospeckle* technique in determining the viability of the seeds of *E. stipitata* and in its place demonstrating that large and medium seeds presented more viable and more germination percentage.

According to (Carvalho, 2012) the larger seeds generally were better nourished during its development having well-formed embryos and greater amount of reserve substances and consequently the most vigorous.

Popinigis (1997) stated that the size of the seed in many species is indicative of their physiological quality. Thus, within the same batch the small seeds have a lower germination and vigor of the seeds of medium and large size.

This result is related to the behavior of seeds in the field where it was observed that osmoconditioned seeds showed higher germination percentage. According to (Silva, 2007), the images obtained by the technique *biospeckle* indicate the biological activity index of the seeds which can be used to evaluate the germination potential of the same.

The osmoconditioned is the controlled hydration of the seeds in an osmotic solution stimulating your metabolism without, however, allow the emission of the primary root (Nascimento, 2004). This conditioning active degradation, uptake and translocation of reserves allowing the seeds to achieve relatively uniform metabolic state by interrupting the water supply.

Conclusions

The use of the technique *biospeckle* is efficient to determine the viability and vigor of the seeds of *E. stipitata*. Large and medium seeds have higher activities.

The emergence of large and medium seeds, emergency speed and seedling development relate to the activity observed by *biospeckle* technique.

The seeds osmoconditioned in KNO_3 for 24 hours had higher activities.

The emergence of seeds osmoconditioned in KNO_3 for 24 hours and the emergence speed relate to the activity observed by *biospeckle* technique.

Acknowledgements

The National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for the doctor scholarship and scientific research and the State of the Environment Foundation Environment and Water Resources (FEMARH) for financial support.

References

- Arizaga R., Cap N, Rabal H, Trivi M (1999). Activity image in dynamical speckle. In: Guzman, A. (ed.). Third Iberoamerican Optics Meeting, Proceeding SPIE, 3572, pp.310-314.
- Bergkvist A (1997). *Biospeckle*-based study of the line profile of light scattered in strawberries. Dissertation (Master in Science) - Faculty of Technology at Lund University, La Plata. P.62.
- Botega JVL, Braga Jr, RA, Machado MPP, Lima LA, Faria RO (2009). Avaliação da interferência do laser no material biológico vivo. Rev. Bras. de Eng. Agrí. EAmbi., 13: 4, 483–486.
- Braga Jr RA, Borém FM, Rabal HJ, Trivi MR, Arizaga R, Dal Fabbro IM, Saleh BB (2001). Avaliação da influência da umidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) na análise pela técnica do biospeckle laser. Rev. Eng. Agrí., 21: 1, 101-106.
- Braga Jr RA (2000). Seeds characterization by dynamic speckle patterns: Environmental and Industrial Sensing Conference, Boston, United States.
- Carvalho NM, Nakagawa J (2012). Sementes: ciência, tecnologia e produção, Jaboticabal.
- Costa RS, Oliveira IVM, Môro FV, Martins ABG (2006). Aspectos morfológicos e influência do tamanho da semente na germinação do jambo-vermelho. Rev. Bras. de Fruti. 28: 1, 117-120.
- Ferreira DF (2011). Sisvar: a computer statistic analysis system. Ciên. e Agrotec. 35: 6, 1039-1042.
- Gomes FP (2000). Curso de estatística experimental. 14º Ed. Piracicaba, BRA.
- Nascimento WM (2004). Condicionamento osmótico de sementes de hortaliças. Circular Técnica, Brasília. 33: pp. 12.
- Oliveira IVM, Andrade RA, Martins ABG (2003). Influência do tamanho da semente na precocidade de germinação de bacuripari (*Rheedia gardneriana*): Reunião anual da sociedade interamericana de horticultura tropical, Fortaleza, BRA, pp. 88.
- Oliveira JR., Duarte NF, Gonçalves LD, Souza FVP, Silva JCO, Silva UTG (2009). Aplicabilidade do laser Biospeckle nas Ciências Agrárias: II Semana de Ciência e Tecnologia IFMG, Bambuí, BRA.
- Oulamara A, Tribillon G, Duvernoy J, Arizaga R., Trivi MR., Rabal HJ (1999). Speckle time evolution characterization by co-occurrence matrix analysis. Opt.e Las. Tech., 4 (5): pp. 1-7.
- Popinigis F (1997). Fisiologia da semente. Brasília, BRA.
- Rabal HJ, Braga Jr RA, Trivi MR, DaLFabbro IM (1998). O uso do laser na agricultura: XXVII CONBEA, Poços de Caldas, BRA.

- Rabelo GF (2000). Avaliação da aplicação do speckle dinâmico no monitoramento da qualidade da laranja. Tese Doutorado. Campinas, BRA, pp. 149.
- Rodrigues S (2007). Efeito Estocástico em *Speckle* Dinâmico. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de campinas, BRA.
- Rodrigues S, Braga Jr RA, Rabelo GF, Fabbro IMD, Enes AM(2007). Aplicação do speckle dinâmico na análise de sementes de feijão *Phaseolus vulgaris* L. Rev. Bra. de Prod. Agro. 9: 2, 119-124.
- Rogez H, Buxant R., Mignolet E, Souz, JNS, Silva EM, Larondelle Y (2004). Chemical composition of the pulp of three typical Amazonian fruits: araçá-boi (*Eugenia stipitata*), bacuri (*Platonia insignis*), and cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). Euro. Food Res. Tech. 218: pp. 380-384.
- Romero GG (1999). Estudio y caracterization de patrones de speckle que varian em el tiempo. Tese (Doutorado em Física) - Facultad de Ciencias Exactas, Universidade Nacional de Salta, Salta. pp. 133.
- Seitz K (1979). Cytoplasmic streaming and cyclosis of chloroplasts: Encyclopedia of plant physiology. Berlin, GER: Haupt W, Felnlieb ME, pp. 150-169.
- Sert MA, Bonato CM, Souza LA (2009). Germinação de sementes: Sementes e plântulas: germinação, estrutura e adaptação. Ponta Grossa, BRA: Souza LA. pp. 91-118.
- Silva ER (2007). Estudo das propriedades do biospeckle e suas aplicações. Tese de mestrado, Universidade de São Paulo. São Paulo, BRA.
- Xu Z, Joenathan C, Khorana BM (1995). Temporal and spatial properties of the time varying speckles of botanical specimens. Opt. Eng. 34: 5, 1487 -1502.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Quanto ao tamanho de sementes, as populações de plantas estudadas provenientes de Manaus-AM, produzem sementes pequenas, médias e grandes e tem 70,2%, 68,2% e 47,5% de umidade, respectivamente.

Quanto à embebição de água, o maior incremento de água pela semente ocorre na primeira hora, independentemente do tamanho e da taxa de absorção.

Quanto às curvas de embebição caracterizadas durante este período, mostram duas fases fisiológicas, independentemente do tamanho das sementes.

Quanto ao osmocondicionamento das sementes de araçá-boi, a solução contendo KNO_3 é eficiente para promover a germinação e para aumentar a velocidade de índice de germinação das sementes.

Quanto às sementes de araçá-boi osmocondicionadas em solução de KNO_3 , apresentam 99% de germinação até os 70 dias de avaliação.

Quanto ao uso do biospeckle, a técnica é eficiente para determinar a viabilidade e o vigor das sementes de *E. Stipitata*, sendo que sementes grandes e médias apresentam maiores atividades.

Quanto à emergência e desenvolvimento das plântulas em campo, essas se relacionam com a atividade observada pela técnica do biospeckle.

Quanto à emergência de sementes osmocondicionadas em solução de KNO_3 por 24 horas e a velocidade de emergência, também se relacionam com a atividade observada pela técnica biospeckle.

Tendo em vista os resultados obtidos, podemos observar que houve grande avanço dos trabalhos realizados, entretanto, existem outros estudos que podem ser desenvolvidos para aprimorar técnicas promissoras como o uso do *biospeckle*, que é uma técnica eficaz e não destrutiva que pode auxiliar na avaliação da viabilidade e vigor de sementes com tratamentos pré-germinativos.

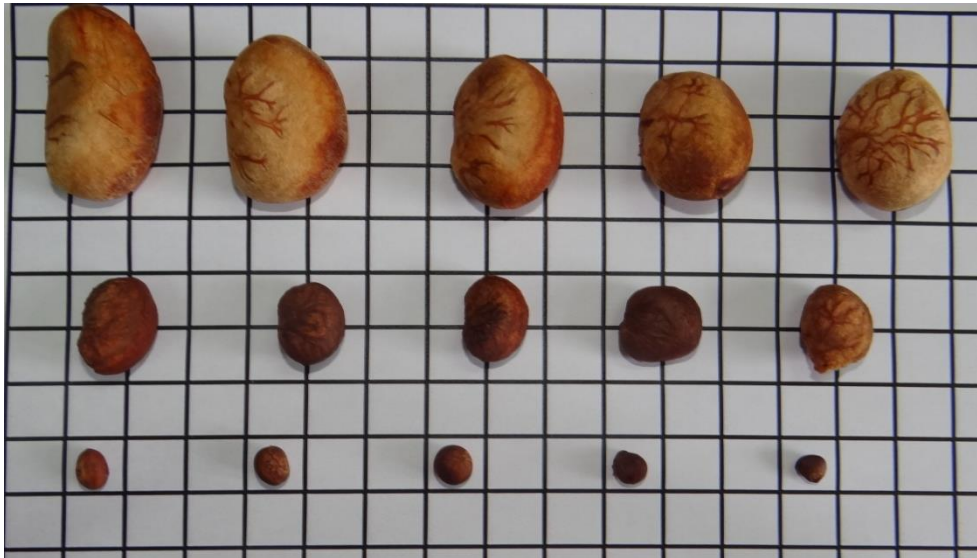
ANEXOS



Anexo 1 – Planta de araçá-boi com aproximadamente 2,5 metros de altura.



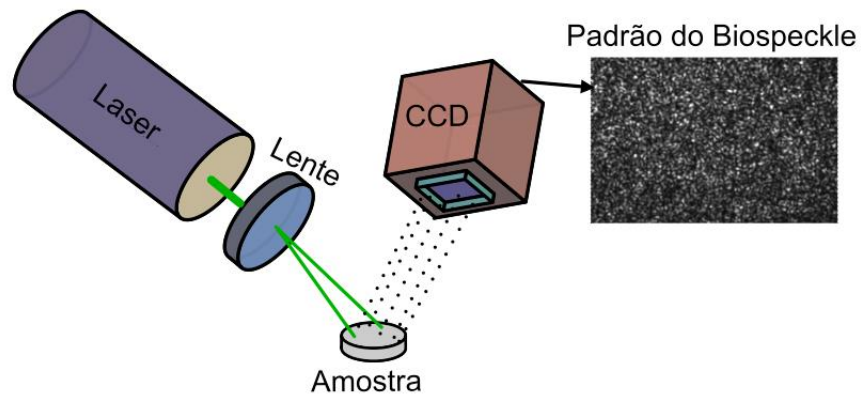
Anexo 2 – Frutos de araçá-boi coletados na cidade Manaus-AM.



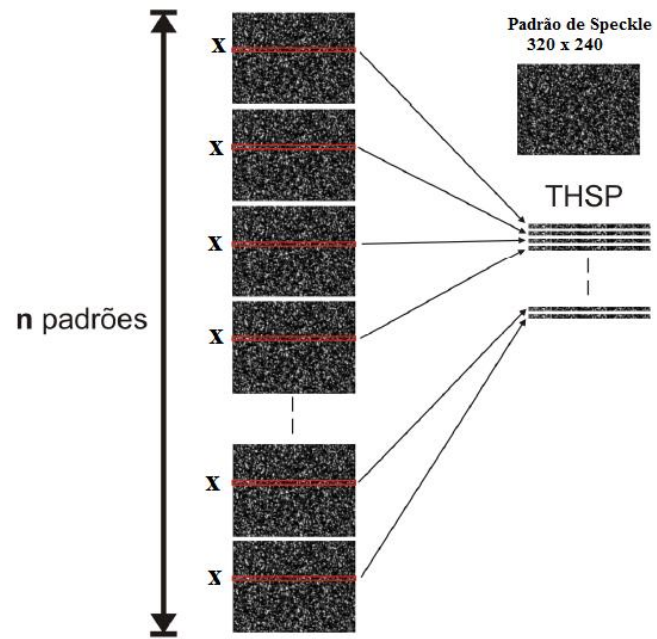
Anexo 3 – Aspecto morfológico de diferentes tamanhos de sementes de araçá-boi encontrados neste trabalho.



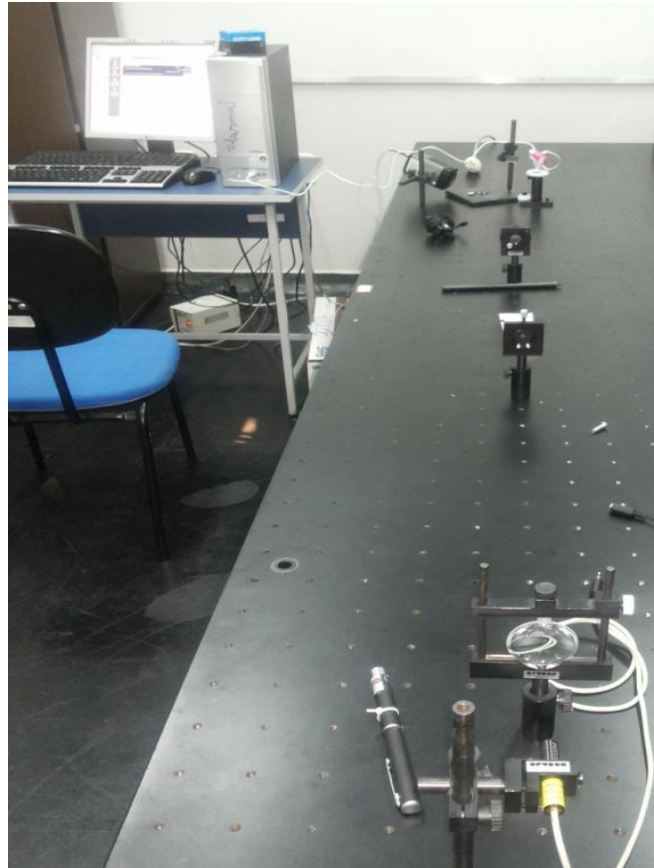
Anexo 4 – Incidência do Laser sobre as amostras de sementes de araçá-boi.



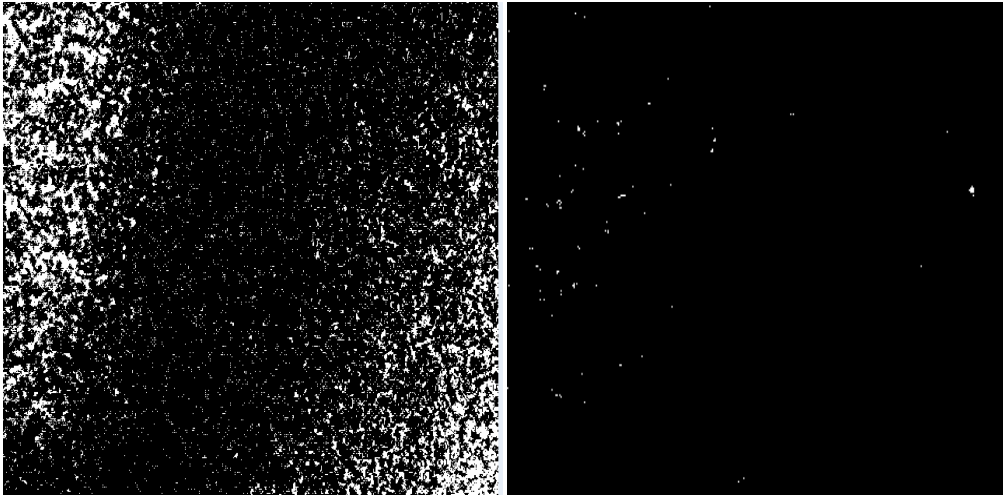
Anexo 5 - Representação esquemática da montagem experimental utilizada para captura dos dados.



Anexo 6 - Esquema de formação da evolução temporal dos padrões de *speckle*.



Anexo 7 – Vídeo das amostras de sementes de araçá-boi captado por uma câmera.



Anexo 8 – Imagens de sementes de araçá-boi editadas pelo programa GIMP (GNU Image Manipulation Program).