

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

TATIANE SANTOS CARVALHO

**CROMOSSOMOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA EM SEMENTES DE *Amburana cearensis*
A. C. SMITH**

**VITÓRIA DA CONQUISTA – BA
2018**

TATIANE SANTOS CARVALHO

**CROMOSSOMOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA EM SEMENTES DE *Amburana cearensis*
A. C. SMITH**

Monografia apresentada sob a forma de Artigo Científico à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB/*Campus* de Vitória da Conquista – BA, para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador (a): Prof^a Dra. Bárbara Dantas Fontes Soares

VITÓRIA DA CONQUISTA – BA
2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

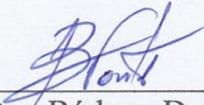
Campus de Vitória da Conquista – BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

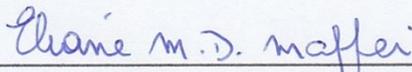
Título: Cromossomos e qualidade fisiológica em sementes de *Amburana cearensis* A. C. SMITH.

Autor: Tatiane Santos Carvalho

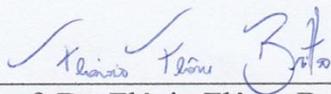
Aprovada como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ENGENHARIA FLORESTAL, pela Banca Examinadora:



Profª Dra. Bárbara Dantas Fontes Soares – UESB
Presidente



Profª Dra. Eliane Mariza Dortas Maffei



Prof. Dr. Flávio Flôres Britto

Data de realização: 24/05/2018

UESB – Campus Vitória da Conquista, Estrada do Bem Querer, Km 04
Telefone: (77) 3425-9380
Telefax: (77) 3424-1059
E-mail: ccengflor@uesb.edu.br

Ao meu Deus, principalmente.

Aos meus pais,

Célia e José,

com amor, confiança e insuflivo de sempre

DEDICO.

Ao meu Deus, primeiramente.

Aos meus pais,

Célia e José,

por todo amor, confiança e incentivo de
sempre

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, autor e consumidor da minha fé, por ter acreditado em mim e me proporcionado toda força requerida nesse ciclo, pois em razão das circunstâncias árduas vivenciadas ao longo da trajetória, às vezes me pairavam dúvidas sobre a chegada deste dia. *“Façais tudo para a glória de Deus”*.

À minha amada família: mãe e pai, por todo amor e esforços alçados para que eu ingressasse na Universidade, sempre me apoiando em tudo. Laura, por me ajudar tanto mesmo sem saber. Gabi, você é mais que uma prima, obrigada por estar comigo em todos os momentos.

À Victor, “Agro boy do sucesso”, que através do seu bom humor contagiante ter proporcionado leveza.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, acompanhada dos excelentes professores, pelo ensino de qualidade e por ter contribuído tanto para o meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal, durante esses anos.

À minha querida orientadora, representada na pessoa de Bárbara, sempre tão atenciosa, paciente e acima de tudo uma excelente profissional.

À professora Eliane Maffei, por toda assistência e receptividade.

Ao professor Luiz Humberto, pelo auxílio na obtenção das sementes de amburana.

Às funcionárias do labisa e tia Zete, sempre tão dóceis, e pelo café tão bom que sempre chegava na hora certa.

Muito obrigada a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha história, sigo determinada e disposta a novos desafios nessa jornada chamada vida.

“A natureza aguarda
com grande expectativa
à manifestação dos
filhos de Deus”

Romanos 8:19

**Essa monografia segue as normas para artigos científicos estabelecidas
pela Revista Ciência Florestal.**

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	9
INTRODUÇÃO.....	9
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
CONCLUSÕES.....	16
REFERÊNCIAS.....	16
ANEXO.....	18

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de *Amburana cearensis* provenientes do município de Anagé – BA, bem como estabelecer um protocolo eficiente para obtenção de cromossomos mitóticos para essa espécie. Para a avaliação da qualidade das sementes, foram empregados três tratamentos: (T1) Sem superação de dormência; (T2) Escarificação mecânica superficial; (T3) Choque térmico por imersão a 80°C. Para obtenção de cromossomos mitóticos, foram testadas duas técnicas, a técnica de secagem ao ar e a técnica de esmagamento, otimizando-se o tipo, o tempo e a concentração em antimitóticos, o tempo de hidrólise em HCl e os métodos de coloração em Orceína acética, Feulgen e Giemsa. O lote de sementes empregado nos testes não apresentou dormência, no entanto, constatou-se que o tratamento de escarificação mecânica superficial (T2) produziu um decréscimo na viabilidade das sementes, porém, foi determinante no vigor das mesmas. O protocolo estabelecido permitiu confirmar que a *A. cearensis* é um diplóide com $2n=2x=22$ cromossomos. De modo inesperado, verificou-se uma grande quantidade de células sincronizadas em prometáfase sem a indução específica para esse fim.

Palavras-chave: caatinga; citogenética; germinação; mitóticas.

ABSTRACT

This work was intended to evaluate the viability and vigor of seeds of *Amburana Cearensis* from the municipality of Anagé – BA, as well as to establish an efficient protocol for obtaining mitotic chromosomes for that species. For the evaluation of the quality of the seeds, three treatments were employed: (T1) without overcoming numbness; (T2) superficial mechanical chiseling; (T3) Thermal shock by immersion at 80°C. To obtain mitotic chromosomes, two techniques were tested, the air drying technique and the crushing technique, optimizing the type, time and concentration in antimitotic, the hydrolysis time in HCl and the methods of coloring in Orcein, Feulgen and Giemsa. The batch of seeds employed in the tests did not present numbness, however, it was found that the treatment of superficial mechanical rip (T2) produced a decrease in the viability of the seeds, however, was decisive in the vigor of them. The established protocol allowed to confirm that the *A. cearensis* is a diploid with $2n=2x=22$ chromosomes. Unexpectedly, a large number of synchronized cells were verified in prometaphase without the specific induction for that purpose.

Keywords: caatinga; cytogenetics; germination; mitotic.

INTRODUÇÃO

A Caatinga, bioma singular de ocorrência exclusiva no Brasil, apresenta uma gama de espécies vegetais lenhosas de reconhecida importância para o estudo da silvicultura. Entre essas, destaca-se a *Amburana cearensis* A.C. Smith, árvore silvestre pertencente à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae. Essa espécie é nomeada popularmente como umburana-macho, cumaru, imburana-de-cheiro e possui ampla distribuição no Nordeste Brasileiro, ocorrendo principalmente nos estados da Bahia, Alagoas, Ceará, Piauí e Paraíba, sendo também encontrada nas regiões mais áridas do Sudeste do País nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo (LORENZI E MATOS, 2002; LEAL et al., 2005).

Amburana cearensis apresenta porte regular, podendo atingir uma altura de até 10m em regiões de caatinga e 20m na zona da mata (LORENZI, 2008). Suas sementes são ricas em compostos fenólicos, sendo comumente utilizadas pela cultura popular no tratamento de doenças respiratórias (ALMEIDA et al., 2010). De acordo com Alvarez (2012), a árvore figura entre as espécies potencialmente indicadas para a arborização urbana no semiárido, sendo também recomendada para a recuperação de solos e áreas degradadas (MAIA, 2004). Em termos econômicos, sua madeira é tida como durável e de boa qualidade, sendo largamente empregada em carpintaria na fabricação de móveis e esquadrias.

Devido às características do seu cerne, a amburana tem sido explorada nos locais de ocorrência, estando listada como espécie ameaçada de extinção (IBAMA, 2008). Em relatório divulgado pela União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais (IUCN), a *A. cearensis* encontra-se em perigo de extinção em virtude da exploração excessiva de sua madeira por parte de carvoarias, construções e fábricas de móveis, bem como a forte pressão antrópica exercida pela expansão do setor agropecuário. Estima-se uma redução do seu território em aproximadamente 50% nos últimos 10 anos (IUCN, 2017).

Diante deste contexto, analisar o vigor de sementes torna-se uma ferramenta essencial em programas de melhoramento e conservação, auxiliando assim na identificação de diferenças entre genótipos, principalmente quando todos os materiais analisados são viáveis, apresentando percentuais próximos de germinação (NERLING, 2017). A avaliação do vigor permite identificar lotes de sementes que apresentam maior probabilidade de sucesso após a sementeira, sendo também útil para fazer inferências acerca da qualidade fisiológica das sementes, juntamente com os testes de viabilidade (MARCOS FILHO, 2015).

57 Dentre os fatores que influenciam o processo germinativo, deve ser considerado, além da qualidade da
58 semente, a intensidade de dormência (URBEN FILHO E SOUZA, 1993). Segundo Marcos Filho (2005), a
59 dormência é um fator que condiciona as sementes a um estado de latência impossibilitando assim a protrusão da
60 raiz primária. Este recurso é eficaz para a preservação da perpetuidade das espécies, no entanto, estudos
61 direcionados à melhoria da qualidade fisiológica de sementes de essências florestais requerem a superação deste
62 mecanismo, quando existente, visando tornar viável à germinação para os mais diversos fins.

63 De acordo com Gadelha et al. (2005), a análise do efeito de tratamentos pré-germinativos sobre a
64 viabilidade e velocidade de germinação é relevante, pois quando positivos, permite uma maior uniformização
65 desse processo. Esta uniformidade na germinação, bem como o conhecimento da qualidade fisiológica de um
66 determinado lote de sementes, pode ser útil no planejamento de estratégias para se obter material viável e
67 vigoroso para as mais diversas finalidades, como exemplo, na obtenção de células meristemáticas, provenientes
68 de radículas recém emergentes, utilizadas em investigações citogenéticas. Estas informações são úteis,
69 sobretudo quando as sementes da espécie estudada não se mantêm viáveis por longos períodos, o que possibilita
70 um melhor planejamento para a realização destes tipos de análises nos períodos em que as sementes encontram-
71 se com alto poder germinativo.

72 No que diz respeito a análises genéticas da amburana, as principais investigações realizaram análise
73 genômica utilizando marcadores moleculares, principalmente com a finalidade de avaliar a variabilidade
74 genética entre e/ou dentro das populações naturais (CATELAN et al., 2004; NAKASU et al., 2005; SANTOS et
75 al., 2008). No entanto, poucos estudos que priorizem caracterizá-la geneticamente foram realizados, sendo ainda
76 escassos na literatura dados citogenéticos ao seu respeito. Segundo Guerra (2000), entre as principais
77 características estudadas pela citogenética estão o número e a morfologia dos cromossomos que em consonância
78 com outras características citológicas, auxiliam no entendimento de variações genéticas envolvidas na evolução
79 de um grupo, como também nas relações de parentesco entre as espécies (PEDROSA et al., 1999).

80 O conhecimento sobre o número de cromossomos e o nível de ploidia podem ser estrategicamente
81 usados em programas de melhoramento genético e conservação de uma espécie, permitindo a caracterização do
82 genótipo, na comparação de espécies ou híbridos, no conhecimento da diversidade genética da espécie, no
83 entendimento da sua estrutura citogenética, na identificação de alterações numéricas e estruturais dos
84 cromossomos, entre outros dados que auxiliam contribuindo para redução de tempo na seleção de genótipos
85 para cruzamentos direcionados.

86 Neste sentido, busca-se nesse trabalho avaliar a viabilidade e o vigor de sementes de *Amburana*
87 *cearensis* provenientes do município de Anagé – BA, bem como determinar um protocolo eficiente para
88 obtenção de cromossomos mitóticos para essa espécie.

90 MATERIAL E MÉTODOS

91 A pesquisa foi realizada no Laboratório de Citogenética do Departamento de Ciências Naturais,
92 Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, campus de Vitória da Conquista - BA.

93 Foram utilizadas sementes de *Amburana cearensis* recém-colhidas em árvores matrizes localizadas na
94 Fazenda Santo Antônio das Flores, situada no município de Anagé, BA. As coletas foram realizadas entre os
95 meses de agosto e setembro de 2016 e de 2017, sendo que depois de colhidas, as sementes foram mantidas em
96 laboratório, acondicionadas em sacos plásticos à temperatura ambiente até o uso.

98 Desinfestação das sementes

99 As sementes de amburana foram previamente submetidas a um tratamento de desinfestação, de modo a
100 eliminar possíveis patógenos misturados ou aderidos à superfície das sementes e que afetam a viabilidade das
101 mesmas, podendo se constituir em um fator limitante da germinação e do vigor.

102 Desse modo, sementes de amburana foram inicialmente selecionadas a partir da imersão destas em água
103 à temperatura ambiente, sendo eliminadas àquelas que flutuaram. Em seguida, as mesmas foram submetidas ao
104 processo de limpeza, sendo submersas primeiramente em um béquer com hipoclorito de sódio 1%, depois em
105 álcool 70% e, por último, em água destilada, por um período de 1 min em cada uma dessas etapas (Adaptado
106 de Moraes, et al., 2007).

108 Avaliação da qualidade das sementes

109 Sementes florestais em condições artificiais de germinação em laboratório podem requerer o uso de
110 tratamentos adicionais que visam anular um possível estado de repouso fisiológico. Neste contexto, o teste de
111 vigor e viabilidade foram avaliados em condições de tratamentos que possam verificar a ocorrência de
112 dormência em sementes de amburana.

113 Para a avaliação da qualidade das sementes, empregou-se três tratamentos: (T1) Sem superação de
114 dormência, que corresponde ao uso das sementes em seu estado natural; (T2) Escarificação mecânica
115 superficial; (T3) Choque térmico por imersão a 80°C, seguido de repouso na mesma água fora do aquecimento
116 por 24 horas (FLORIANO, 2004).

117 As sementes foram distribuídas em recipientes contendo vermiculita esterilizada em autoclave por 15
118 min, à temperatura de 121°C. Para esse substrato, adotou-se como padrão de umedecimento 60% da capacidade
119 de campo (BRASIL, 2013). Após a semeadura, os recipientes foram mantidos em câmara de germinação tipo
120 B.O.D. a 32°C, segundo indicação de Bello et al. (2008) com fotoperíodo de 12 horas durante 17 dias. Foi
121 realizada a contagem das sementes germinadas a partir do quarto dia, sendo consideradas aquelas que
122 apresentaram emissão de raiz primária com pelo menos 0,5 cm de comprimento.

123

124 ***Dormência e viabilidade das sementes***

125 A viabilidade de um lote de sementes pode ser expressa em termos de sementes vivas capazes de
126 germinar (Franzin e Roversi, 2001) e, neste contexto, a viabilidade das sementes foi mensurada pela
127 porcentagem média de sementes que emitiram raízes ao longo do período avaliado, para cada um dos
128 tratamentos empregados, enquanto que a ocorrência de dormência foi verificada pela relação dos índices de
129 viabilidade entre sementes submetidas aos tratamentos de superação de dormência e o tratamento em que as
130 sementes não sofreram indução de nenhuma natureza.

131

132 ***Vigor das sementes***

133 A velocidade com que um lote de sementes germina em condições controladas de laboratório pode ser
134 determinada e usada para avaliar o vigor das mesmas. Deste modo, o vigor foi estabelecido pelos cálculos do
135 índice de velocidade de germinação das sementes (IVG), segundo Maguire (1962) e pelo coeficiente de
136 velocidade de germinação (CVG) (Kotowski, 1926), cujas expressões estão descritas abaixo:

137

Fórmula de Kotowski, 1926;

Fórmula de Maguire, 1962;

$$CVG = \frac{G1 + G2 + G3 + \dots + Gi}{G1T1 + G2T2 + G3T3 + \dots + GiTi} \times 100$$

$$IVG = \frac{G1}{T1} + \frac{G2}{T2} + \frac{G3}{T3} + \dots + \frac{Gi}{Ti}$$

CVG é o coeficiente de velocidade de germinação;

G1 até Gi é o número de sementes germinadas ocorrido a cada dia;

T1 até Ti é o tempo (dias).

IVG é o índice de velocidade de germinação;

G1 até Gi é o número de sementes germinadas ocorrido a cada dia;

T1 até Ti é o tempo (dias).

138

139 ***Análise estatística***

140 O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos:
141 (T1) Sem superação de dormência; (T2) Escarificação mecânica superficial; (T3) Choque térmico por imersão a
142 80°C, com três repetições por tratamento, contendo 30 sementes por repetição.

143 Os dados referentes à viabilidade das sementes de amburana foram submetidos à análise de variância e
144 as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade utilizando o programa Assisat.

145

146 ***Determinação de protocolo para obtenção cromossômica***

147 As preparações citológicas, para a obtenção de cromossomos mitóticos, foram obtidas a partir do
148 meristema apical de radículas saudáveis de amburana.

149 Como pré-tratamento, radículas com 0,5 a 1,0 cm de comprimento foram submetidas à ação de
150 antimitóticos (colchicina a 0,05% e 8-hidroxiquinoleína (8 HQ) a 0,002 Mol). A exposição da região
151 meristemática em colchicina (0,05%) se deu pelo período de 2h em temperatura ambiente, enquanto que a 8 HQ,
152 acrescida de 15 gotas de Dimetilsulfóxido (DMSO) em 100 mL do antimitótico, foi testada em diferentes
153 temperaturas e tempos de exposição, que variaram entre 2h; 2h 30; 3h; 4h; 4h 30 em temperatura ambiente e
154 pela combinação de períodos iniciais de incubação em temperatura ambiente, variando de 2 a 4 horas, com
155 posterior transferência para o refrigerador (aproximadamente 5°C), por período complementar e com duração
156 total de 24 horas das radículas no referido tratamento (CARVALHO et. al, 2017).

157 Em seguida, as radículas foram lavadas duas vezes em água destilada por um período de 5 min para
158 cada troca e fixadas em Carnoy 3:1 (3 partes de álcool etílico P.A. : 1 parte de ácido acético glacial P.A.) com

159 três trocas sucessivas a intervalos de 15 min cada e armazenadas em geladeira por 24 horas. Após este período,
160 as raízes foram transferidas para eppendorf de 2 mL contendo etanol 70% e estocadas em geladeira até o
161 momento da utilização.

162 As radículas fixadas passaram por três lavagens em água destilada por um período de 5 min cada,
163 posteriormente, foram transferidas para eppendorf com capacidade de 2 mL e hidrolisadas com HCl 1N, em
164 banho-maria à 60°C (GUERRA, 2002), sendo testados diferentes tempos de exposição, que variaram entre 8, 12
165 e 20 min. Posteriormente, as radículas foram submetidas a choque térmico em água destilada à temperatura de
166 aproximadamente 5°C para interromper a hidrólise.

167 Com relação ao preparo das lâminas, foram testadas duas técnicas. A primeira, sugerida por Carvalho e
168 Saraiva (1993) e conhecida como “técnica de secagem ao ar”, consistiu na dissociação das células
169 meristemáticas em ácido acético 45%, em seguida, as lâminas foram secas em movimentos rápidos contra o ar e
170 coradas em solução de Giemsa 2%, em temperatura ambiente, por cinco minutos. Após este período, as lâminas
171 foram lavadas três vezes em água destilada e secas ao ar.

172 A segunda técnica de preparo das lâminas testada foi a de esmagamento, variando-se o método de
173 coloração em orceína a 2% e 3%, Feulgen a 2% e Giemsa a 2% (GUERRA, 2002). As raízes foram transferidas
174 para vidro relógio com orceína acética aquecida por 1 min em placa aquecedora (50°C), sendo realizados testes
175 iniciais com tempos entre 2 e 10 min, no entanto, em razão da dificuldade em se obter núcleos corados
176 adequadamente, estes períodos foram aumentados de forma gradativa, sendo testados os tempos de 20 min; 30
177 min; 1h; 1h 30min; 2h; 3h; 4h de exposição. As radículas coradas com Feulgen ficaram expostas a esse corante
178 pelo período de 2h, enquanto que os meristemas corados com Giemsa ficaram imersos nesta solução por um
179 período que variou de 2 a 5 min. Após este período, a região meristemática foi excisada e macerada em ácido
180 acético 45%, com posterior esmagamento entre lâmina e lamínula.

181 Para as análises dos resultados referentes ao sucesso das técnicas empregadas para o preparo das
182 lâminas, bem como para os tratamentos com os antimetabólitos, tempos de hidrólise e ação dos corantes nos
183 tempos e concentrações testados, assim como a observação de cromossomos, as lâminas confeccionadas foram
184 analisadas em microscópio Nova Optical Systems, utilizando objetivas de 40X e 100X. As imagens de interesse
185 foram capturadas por câmera digital e editadas no programa PhotoScape.

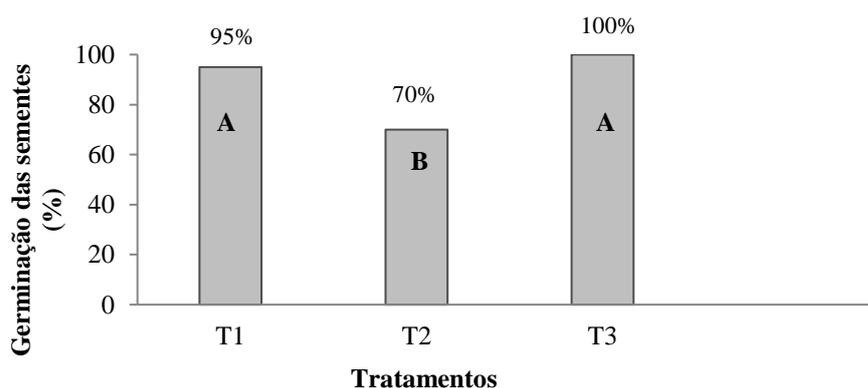
186

187 RESULTADOS E DISCUSSÃO

188

189 Dormência e Viabilidade das sementes

190 A germinação das sementes de *A. cearensis* submetidas à escarificação mecânica superficial teve início
191 a partir do quarto dia após a sementeira. Porém, este tratamento apresentou a menor taxa de protrusão radicular,
192 afetando a viabilidade de 30% do material (Figura 1). De acordo com Pereira e Bianchetti (1977), choques
193 mecânicos em qualquer fase do processamento de sementes podem vir a influenciar diretamente sobre sua
194 viabilidade.



195

196 FIGURA 1. Porcentagem média de sementes germinadas de *Amburana cearensis* submetidas a três tratamentos.
197 T1: Sem superação de dormência, T2: Escarificação mecânica superficial e T3: Choque térmico à 80°C. Médias
198 seguidas pela mesma letra não diferem a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. CV% = 3.97.

199

200 A maior porcentagem de sementes germinadas foi observada naquelas tratadas com choque térmico a
201 80°C (T3), conforme recomendações de Floriano (2004), correspondendo a um percentual de germinação de
202 100%. Neste método, o mergulho das sementes em água nessa temperatura pode ter dissolvido a cutícula
203 externa das sementes, facilitando assim a entrada de água para a germinação do embrião (OLIVEIRA, 2003).

204 O tratamento 1 (T1), sem superação de dormência, apresentou um percentual de germinação
205 correspondente a 95% (Figura 1). Estes resultados indicam que as sementes utilizadas na pesquisa estavam
206 altamente viáveis e não apresentavam dormência, uma vez que a média do percentual de germinação observada
207 no tratamento de choque térmico para indução de quebra de dormência (T3) não diferiu estatisticamente em
208 relação ao tratamento 1, cujas sementes utilizadas estavam em estado natural de conservação e não foram
209 submetidas a tratamentos para a superação de dormência, portanto, as sementes submetidas a ambos os
210 tratamentos apresentaram alta viabilidade, indicando que os inibidores da germinação tegumentar não estão
211 presentes no lote de sementes analisadas.

212

213 **Vigor das sementes**

214 Considerando que as sementes com maior velocidade de germinação são as mais vigorosas, é possível
215 afirmar que sementes pré-tratadas com escarificação mecânica apresentaram maior vigor em relação àquelas
216 submetidas ao choque térmico e sem superação de dormência, com base nos valores dos coeficientes de
217 velocidade de germinação (CVG) e índice de velocidade de germinação (IVG), expressos na (tabela 1). Estes
218 dados são importantes para prever o desempenho das sementes em condições de campo e/ou laboratório, uma
219 vez que o IVG/CVG estão diretamente relacionados com o vigor das sementes.

220

221 TABELA 1. Velocidade de germinação em sementes de *Amburana cearensis* submetidas a diferentes
222 tratamentos.

223

224 Tratamentos	225 CVG (%)	226 IVG
227 T1 Sem Superação de 228 dormência	229 9,64	230 1,92
231 T2 Escarificação mecânica 232 superficial	233 25,45	234 4,15
235 T3 Choque térmico a 80°C	236 8,93	237 1,91

238

239 O método da escarificação mecânica foi o mais efetivo no que concerne ao vigor das sementes, em
240 função da ruptura do tegumento que envolvia o embrião, permitindo, assim, melhor hidratação e
241 desenvolvimento, confirmando os resultados obtidos no experimento de Belisário e Pasin (2006). Entretanto,
242 este método tido como o mais eficiente para o processo de embebição, também foi o que apresentou o maior
243 número de sementes inviáveis durante o experimento, ocasionando uma redução nos valores médios das taxas
244 de germinação. Como as sementes utilizadas na pesquisa não apresentavam dormência, talvez o rápido
245 desenvolvimento de embriões, proporcionado pela rapidez da embebição induzida pela escarificação prévia,
246 tenha acelerado também o seu processo de germinação, caracterizando o seu maior vigor quando comparado aos
247 demais tratamentos, porém, o mecanismo que possibilitou uma maior embebição também pode inicialmente
248 acarretar maior possibilidade de danos ao embrião e decréscimo da viabilidade de algumas sementes submetidas
249 à escarificação.

250 Oliveira et al. (2012), estudando a influência de pré tratamentos na superação de dormência em
251 sementes de *Parkia gigantocarpa*, espécie pertencente à mesma família da amburana, obtiveram resultado
252 semelhante ao encontrado no tratamento de escarificação, sendo este menos eficaz apenas quando comparado ao
253 tratamento de imersão em ácido sulfúrico. Ainda de acordo com os autores, o tratamento de escarificação
254 mecânica em *P. gigantocarpa*, proporcionou maior restrição ao desenvolvimento do embrião. Esta informação é
255 relevante para estudos citogenéticos, uma vez que o comprometimento da região meristemática ocasionada pela
256 má formação do embrião poderá impossibilitar a emissão de radículas com aparência estrutural saudável,
257 morfológicamente uniformes e com a extremidade apical da zona meristemática preservada, assim como o
258 processo de embebição.

259 Desse modo, com os dados obtidos na investigação da germinação, foi possível prever a qualidade do
material biológico para fins de estudos citogenéticos. Assim, as sementes de *A. cearensis* coletadas na Fazenda
Santo Antônio das Flores, situada no município de Anagé – BA, produziu uma alta porcentagem de sementes
viáveis, cuja germinação, imediatamente após a coleta, se deu em quantidade e qualidade suficientes para a
realização das investigações citogenéticas, revelando, ainda, que para investigações desta natureza, é necessário
uma programação para a realização do processo de obtenção das células meristemáticas nos períodos de

260 produção de sementes da espécie, período este em que o vigor e a viabilidade das sementes estão altos e se
261 perdem rapidamente nos meses subsequentes à coleta, como observado nos primeiros lotes utilizados neste
262 estudo.

263

264 **Determinação de protocolo para obtenção de cromossomos**

265 Através das investigações realizadas, foi possível determinar que o antimitótico mais eficiente dentre os
266 que foram testados para a obtenção de cromossomos em radículas de amburana foi o 8-hidroxiquinoleína a uma
267 concentração de 0,002 M, acrescido de 15 gotas de DMSO em 100 mL do antimitótico. Os melhores tempos de
268 exposição das radículas a esse tratamento foram os de 2h 30 e 4h 30, ambos a temperatura ambiente. As lâminas
269 montadas com meristemas pré-tratados nesses períodos, apresentaram um maior número de células
270 meristemáticas, e conseqüentemente, um maior número de células bloqueadas em metáfase no tempo de 4 h 30
271 e sincronizadas em pró-metáfase no tempo de 2 h 30. A colchicina não se mostrou adequada em razão do alto
272 grau de compactação do material genético.

273 O tempo mais apropriado para a hidrólise das radículas foi o de 20 min à temperatura de 60°C em HCl
274 1N. Este tratamento possibilitou através de leves e coordenadas batidas com um bisturi, uma melhor dissociação
275 das células facilitando assim o espalhamento das mesmas na lâmina após o contato com a lamínula, sob uma
276 leve pressão manual.

277 Quanto à montagem das lâminas, a técnica de esmagamento permitiu uma maior quantidade de células
278 meristemáticas, conseqüentemente, foi possível a observação de um maior número de células em metáfase,
279 enquanto que a técnica de secagem ao ar proporcionou um melhor espalhamento das células meristemáticas,
280 porém em número bastante reduzido, devido às perdas provenientes da secagem ao ar.

281 Com relação à coloração, o Feulgen (2%) foi o corante que mais evidenciou o DNA, no entanto, os
282 núcleos corados com orceína acética (2%) pelo período de 4h também apresentaram cromossomos com
283 coloração adequada para análise. O Giemsa (2%) não permitiu uma coloração satisfatória dos núcleos desta
284 espécie.

285 Para a obtenção de cromossomos e análises citogenéticas, adotou-se, portanto, a técnica de
286 esmagamento de meristemas submetidos aos seguintes tratamentos: (1) antimitótico 8 HQ a uma concentração
287 de 0,002 M, acrescido de 15 gotas de DMSO em 100 mL do antimitótico, pelo período de 2h 30 e 4h 30; (2)
288 hidrólise em HCl 1N à temperatura de 60°C durante 20 min; (3) coloração em orceína acética 2% no período de
289 4 horas.

290

291 **Análise citogenética**

292 *Amburana cearensis*, pertencente à família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, é um diplóide com
293 $2n=2x=22$ cromossomos (Figura 2 A), conforme citado por Melloni (2007). A contagem cromossômica
294 constatada corrobora os trabalhos realizados por Battistin e Vargas (1989), onde foi verificado que o número
295 cromossômico da maioria das espécies já estudadas de Papilionoideae é $2n= 22$.

296

297

298

299

300

301

302

303

304

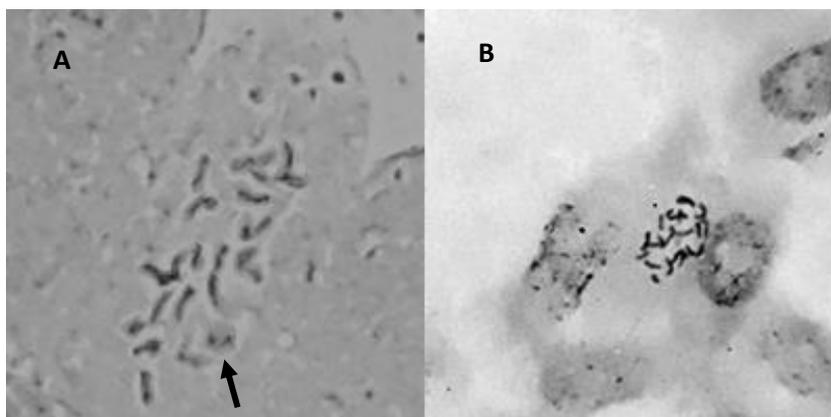
305

306

307

308

309



310

311 FIGURA 2. Microfotografias das células meristemáticas das raízes de *Amburana cearensis*. 2 A– Metáfase
312 mitótica apresentado $2n= 22$ cromossomos; Seta indicando Região Organizadora do Nucléolo (NOR). 2 B –
313 Cromossomos mitóticos. Aumento de 1000x.

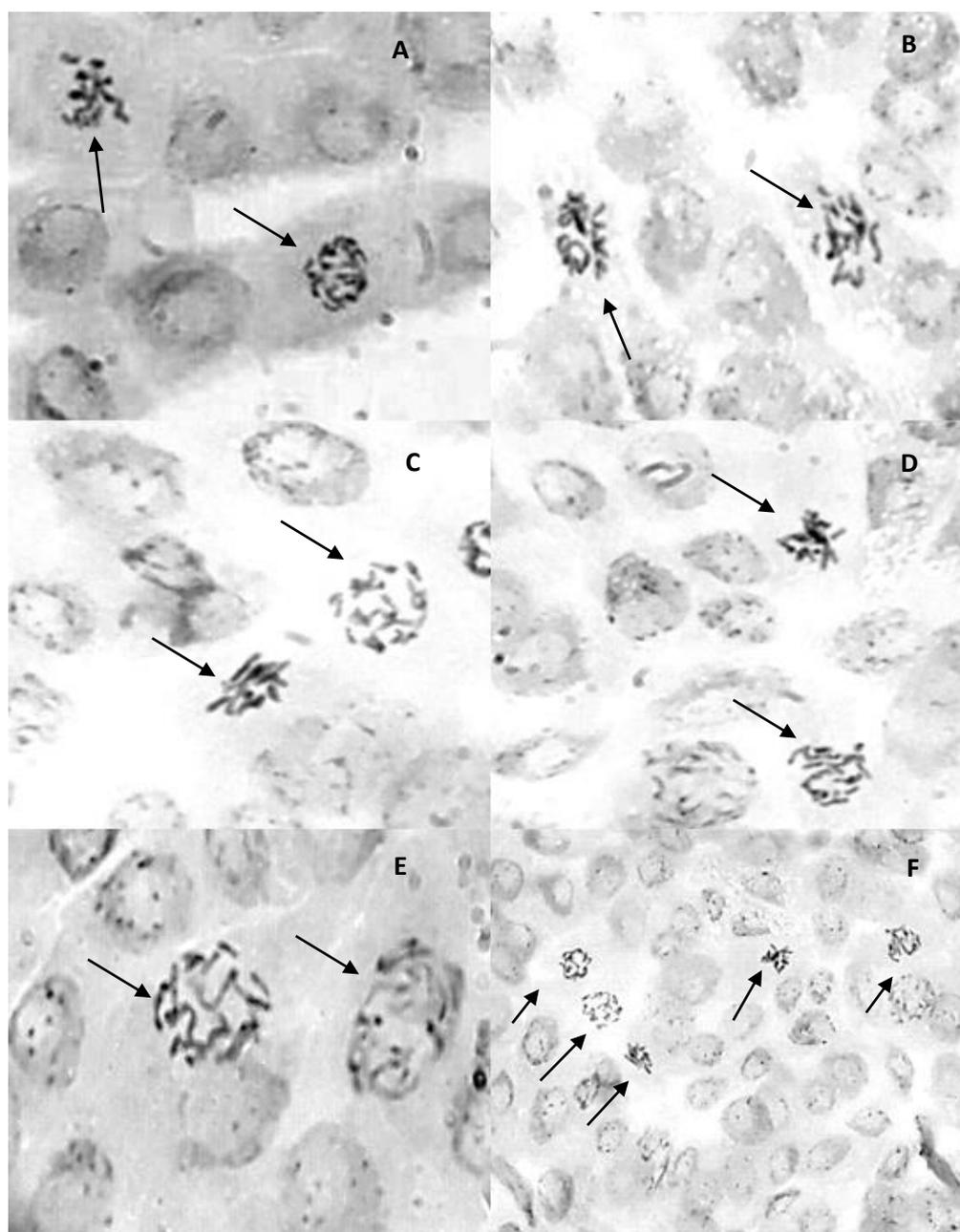
313

314 Segundo Goldblatt (1981) em algumas espécies do gênero *Lupinus* (subfamília Papilionoideae), os
315 números cromossômicos variam de $n=7$ até $n=26$. Apesar de não terem sido encontrados dados como este para
316 o gênero *Amburana*, é possível correlacionar essas informações com o número de cromossomos encontrados
317 para a espécie, uma vez que os dois gêneros pertencem à mesma subfamília. Ainda de acordo com o mesmo
318 autor, o número básico de cromossomos encontrado para grupos papilionados varia de $x=10$ a 12 , sendo
319 constantes em muitos gêneros, mostrando evidências de parentesco entre espécies.

320 Em estudos realizados por Vargas (2005), verificou-se que a maioria dos cromossomos de *Cratylia*
321 *argentea* e *C. mollis*, ambas pertencentes à subfamília Papilionoideae, apresentam configuração metacêntrica e
322 submetacêntrica, o que pôde ser constatado preliminarmente nesta pesquisa para a espécie em estudo.

323 As radículas submetidas a 8-hidroxiquinoleína a $0,002\text{ M}$ por um período de exposição de 2h 30,
324 apresentaram de modo inesperado, uma grande quantidade de células sincronizadas em prometáfase sem a
325 indução de nenhum tratamento específico para esse fim. As melhores imagens foram capturadas por câmera
326 digital (Figura 3).

327



328

329

330 FIGURA 3. Microfotografias das células meristemáticas das raízes de *Amburana cearensis*. Células
331 sincronizadas em prometáfase. 1A a 1E Aumento de 1000x. 1F Aumento de 400X.

332

333 CONCLUSÕES

334 O lote de sementes empregado no teste não apresentou dormência, no entanto, constatou-se que o
335 tratamento de escarificação mecânica superficial (T2) produziu um decréscimo na viabilidade das sementes,
336 porém, foi determinante no vigor das mesmas.

337 Sementes de *Amburana cearensis* coletadas entre os meses de agosto e setembro produziram uma alta
338 porcentagem de sementes viáveis e vigorosas, cuja germinação, imediatamente após a coleta, se deu em
339 quantidade e qualidade suficientes para a realização das investigações citogenéticas.

340 Foi possível estabelecer um protocolo eficiente para obtenção de cromossomos somáticos em *Amburana*
341 *cearensis*, permitindo confirmar que a espécie é um diplóide com $2n=2x=22$ cromossomos.

342 De modo inesperado, verificou-se uma grande quantidade de células sincronizadas em prometáfase sem a
343 indução específica para esse fim. Após um refinamento da técnica, será possível sua utilização como método
344 padrão para a caracterização citogenética da espécie.

345

346 REFERÊNCIAS

347 ALMEIDA, J. R. G. S. et al. *Amburana cearensis* – uma revisão química e farmacológica. **Scientia Plena**, [s.l],
348 v.6, n.11, 2010.

349 ALVAREZ, I. A. et al. Arborização urbana no semiárido: espécies potenciais da Caatinga. **Embrapa Florestas**,
350 Paraná, dez. 2012. Disponível em:
351 <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/947072/1/Doc.243arborizacaourbana.pdf>> Acesso em:
352 30 Abr. 2018.

353 BATTISTIN, A.; VARGAS, M. G. A. Cytogenetic study of seven species of *Centrosema* (DC.) Benth
354 (LEGUMINOSAE – PAPILIONOIDEAE). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 319-
355 329, June 1989.

356 BELISÁRIO, P. R.; PASIN, L. A. P. Efeitos do tratamento térmico e escarificação mecânica na quebra de
357 dormência em sementes de *Andenantha pavonina* (olho-de-dragão). In: X Encontro Latino Americano de
358 Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba.
359 **Anais...** Paraíba, 2006.

360 BELLO, E. P. de B. C. e S. et al. Germinação de sementes de *Amburana acreana* (Ducke) A. C. Sm. submetidas
361 a diferentes condições de temperatura e de estresse hídrico. **Rev. bras. sementes [online]**, Londrina, vol.30,
362 n.3, p. 16-24, 2008.

363 BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instruções para análise de sementes de
364 espécies florestais, de 17 de janeiro de 2013, Brasília: MAPA, 2013. 98 p.

365 CARVALHO, C. R., SARAIVA, L. S. A new heterochromatin banding pattern revealed by modified HKG
366 banding technique for maize chromosomes. **Heredity** 70: 515-519, 1993.

367 CARVALHO, T. S., SOARES, B. D. F., MAFFEI, E. M. D. Determinação de Protocolo para obtenção de
368 cromossomos mitóticos em *Amburana cearensis* A. C. SMITH. In: 69º Reunião Anual da SBPC, 2017, Belo
369 Horizonte. **Anais eletrônicos: resumos dos trabalhos**. Belo Horizonte, MG: Sociedade Brasileira para o
370 Progresso da Ciência, 2017.

371 CATELAN, R. C.; NAKASU, E. Y. T.; CIAMPI, A. Y. Desenvolvimento e aplicação de marcadores
372 microssatélite na avaliação da diversidade genética de *Amburana cearensis*. In: ENCONTRO DO TALENTO
373 ESTUDANTIL DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 9., 2004, Brasília, DF.
374 **Anais eletrônicos: resumos dos trabalhos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004.

375 FLORIANO, E. P. **Germinação e dormência de sementes florestais**, Caderno Didático nº 2, 1ª ed./ Eduardo P.
376 Floriano Santa Rosa, 2004. 19 p. il.

377 FRANZIN, S. M.; ROVERSI, T. **O que é vigor de sementes?** 2001. Disponível em:
378 <<http://coral.ufsm.br/sementes/images/vigor.pdf>>. Acesso em 15 Abr. 2018.

379 GADELHA, L. N. S.; et al. Tratamentos Pré-Germinativos e Luz na Germinação de sementes de *Hovenia dulcis*
380 Thunb. In: 57º Reunião Anual da SBPC, 2005, Fortaleza. **Anais eletrônicos: resumos dos trabalhos**.
381 Fortaleza, CE: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 2005.

382 GOLDBLATT, P. Cytology and the phylogeny of Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H.
383 **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 427-463.

384 GUERRA, M. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal, e**
385 **humana** / Marcelo Guerra, Maria José de Souza. -- Ribeirão Preto, SP: Fundação de Pesquisas Científicas de
386 Ribeirão Preto, 2002. 131 p.

387 IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Lista oficial de espécies**
388 **da flora brasileira ameaçada de extinção**. Portaria nº.37-N de 3 de abril de 1992. Disponível em:
389 <<http://www.ibama.gov.br>>. Acesso em: 15 Abr. 2018.

390 IUCN; **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2017-3. Disponível em: <www.iucnredlist.org>.
391 Acesso em: 03 Abr. 2018.

392 KOTOWSKI, F. Temperature relations to germination of vegetable seed. **Proceedings of the American**
393 **Society for Horticultural Science** 23: 176-184, 1926.

394 LEAL, L. K. A. M. et al. Amburoside A, a glucoside from *Amburana cearensis*, protects mesencephalic cells
395 against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. **Neuroscience Letters**, v.388, n.2, p.86-90, 2005.
396 Disponível em: <http://www.cpatsa.embrapa.br/public_eletronica/downloads/OPB2298.pdf>. 19 Abr. 2018.

397 LORENZI, H; MATOS, J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto
398 Plantarum, 2002. 512p.

399 LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**.
400 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. p. 194.

401 MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. **Crop**
402 **Science**, [sl], v.2, n.2, p.76-177, 1962.

403 MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: Leitura e Arte, 2004. 413 p.

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

405 MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia**
406 **Agrícola**, v.72, n.4, p.363-374, 2015.

407 MELLONI, M. N. G. **Citogenética de espécies arbóreas**. Trabalho de Graduação. 2007. 48 f. Faculdade de
408 Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

409 MORAES, R. M.; CALDAS, L. S.; SILVEIRA, C. E. S.; SOUZA, A. V.; BERTONI, B. W.; PEREIRA, A. M.
410 S. Micropropagação e Banco de Germoplasma “in vitro” para produção e conservação de plantas nativas do
411 Cerrado. In: PEREIRA, A.M.S. (Org.). **Recursos genéticos e conservação de plantas medicinais do Cerrado**.
412 Ribeirão Preto: Editora Legis Summa, 2007. v. 1, p. 185-214.

413 NAKASU, E. T. et al. Aplicação de marcadores microssatélites em *Amburana cearensis* e *Cedrella fissilis* na
414 definição de estratégias de conservação. In: ENCONTRO DO TALENTO ESTUDANTIL DA EMBRAPA
415 RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, 10, 2005, Brasília, DF. **Anais eletrônicos**: Brasília, DF:
416 Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005.

417 NERLING, D. **Qualidade fisiológica de sementes na obtenção de linhagens e híbridos de milho**. 2017. 153
418 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

419 OLIVEIRA, A. K. M. de. et al. SUPERACÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE *Parkia*
420 *gigantocarpa* (FABACEAE - MIMOSIDAE), **Ciência Florestal** [online], Santa Maria, vol.22, n.3, p.533-540,
421 Jul/Set. 2012.

422 OLIVEIRA, L. M.; DAIVIDE, A. C.; CARVALHO, M. L. M.; Avaliação de métodos para quebra de dormência
423 e para a desinfestação de sementes de Canafístula (*Peltophorum dubium*), **Revista Arvore**, vol 27, no.5.
424 Set/Out, p. 597-603, 2003.

425 PEDROSA, A., et al. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco. **Acta Táxonotry Brasília**, São
426 Paulo, n.13, p.49-60, 1999.

427 PEREIRA, L. A. G.; BIANCHETTI, A. Fatores que afetam a viabilidade das sementes. **EMBRAPA-CNPSo**.
428 **Boletim Técnico**, 2, Londrina, Abr. 1977. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/AI-
429 SEDE/39138/1/bolTec002.pdf> Acesso em: 29 Abr. 2018.

430 SANTOS; C. A. F.; RODRIGUES, M. A.; ZUCCHI, M. I. Variabilidade genética do umbuzeiro no Semi-Árido
431 brasileiro, por meio de marcadores AFLP. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.43, n.8, p.1037-1043, ago. 2008.

432 URBEN FILHO, G., SOUZA, P. I. M. **Manejo da cultura da soja sob cerrado: época, densidade e**
433 **profundidade de semeadura**. In.: ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. M. **Cultura da soja nos cerrados**. Belo
434 Horizonte: Potafos, 1993. 535p.

435 VARGAS, S M. **Citogenética de acessos de Cratylia sp. (Fabaceae – Papilionoideae)**. 2005. 48 p.
436 Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

ANEXO

Diretrizes para Autores / Instructions to authors

1. A revista CIÊNCIA FLORESTAL publica artigos técnico-científicos inéditos, resultantes de pesquisa de interesse da área florestal. Também são aceitas notas técnicas e artigos de revisão. Os textos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol.

[Ciência Florestal publishes original scientific and technical articles resulting from researches on Forestry Engineering. Technical notes and review articles are also accepted. The texts can be written in Portuguese, English and Spanish.]

2. Para submeter um trabalho para publicação são cobrados os seguintes valores:

§1Taxa de submissão: R\$50,00 (cinquenta reais). O pagamento dessa taxa não garante a publicação do trabalho.

§2Taxa de publicação: R\$250,00 (duzentos e cinquenta reais). Esse valor deve ser recolhido somente quando solicitado pelo editor.

Os valores devem ser depositados na conta corrente n. 38588-3, da agência do Banco do Brasil n. 1484-2 (FATEC - CNPJ: 89.252.431/0001-59). O comprovante do depósito da taxa de submissão deverá ser postado como documento suplementar, na submissão do trabalho. O comprovante da taxa de publicação deverá ser enviado a CIÊNCIA FLORESTAL, quando solicitado, via e-mail. Os valores depositados não serão devolvidos.

[Tramitation charges: 1) Submission fee: US\$ 30.00. The payment of this fee does not guarantee the paper publication. 2) Publication fee: US\$ 150.00. This value is charged only after the acceptance of the paper. The values must be deposited in the bank account # 38588- 3, Banco do Brazil, agency # 1484-2. The deposit receipt shall be sent along with the paper. The receipt of the publication fee must be sent to Ciência Florestal by fax (55 55 3220 8444/22) or by e-mail (cienciaflorestal@ufsm.br), informing the paper name which belongs to this receipt. The values deposited will not be funded.]

3. Os manuscritos devem ser submetidos à revista via online por meio da PLATAFORMA SEER. O autor que submete o artigo assume toda e qualquer responsabilidade pelas informações, que os demais autores estão de acordo com a submissão e que o artigo é inédito. Os conceitos e afirmações emitidas no artigo são de exclusiva responsabilidade dos autores. Contudo, o Conselho Editorial reserva-se o direito de solicitar ou sugerir modificações no texto original.

[The manuscripts should be submitted by PLATAFORMA SEER. The author registering the work assumes the responsibility for all information, and that the other authors are in agreement with this work and that the article has not been published before. The concepts and assumptions appearing in the article are of fully responsibility of the authors. However, The Editing Committee has the right of asking for modifications in the original text.]

4. Os artigos devem ser organizados da seguinte forma:

[The articles must be organized in this sequence:]

4.1. Artigo científico e nota técnica: Título, Resumo, Introdução com Revisão de Literatura e objetivos, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências. Antes do item Referências, quando apropriado, mencionar a aprovação pela Comissão de Ética e Biossegurança da Instituição.

[Scientific article and technical note: title, abstract, introduction and literature review, materials and methods, results and discussion, conclusions, acknowledgements and references. Before the item references write when appropriate, mention its approval by the Ethics and Biosecurity Committee of the Institution.]

4.2. Artigo de revisão bibliográfica: Título, Resumo, Introdução, Desenvolvimento, Considerações finais, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

[Article of bibliographical review: title, abstract, introduction, development, final considerations, acknowledgements, references.]

5. O manuscrito deve ser editado no Microsoft Word, com espaço simples, linhas numeradas continuamente e sem os nomes dos autores, fonte Times New Roman, tamanho 11, tabulação de 1,25 cm, formato A4, com 2 cm de margens esquerda, inferior e superior, e 1,5 cm de margem direita, orientação retrato e máximo de 12 páginas.

[The paper must be edited in Microsoft Word, simple space, lines numbered continuously and without the authors' names, letter type Times New Roman, size 11, tab 1.25 cm, size A4, with 2.0 cm of left, inferior and superior margins and 1.5 cm in the right margin, portrait orientation and maximum of 12 pages.]

6.O Título do manuscrito, com no máximo duas linhas, deve ser centralizado e em negrito, com letras maiúsculas (exceto nomes científicos), redigido em português ou espanhol, seguido da versão em inglês (esta em não- negrito).

[The paper title, up to 2 lines, must be centralized and in bold type, in capital letters and followed by the Portuguese version.]

7. O Resumo deve ser apresentado em um único parágrafo, contendo o máximo de 300 palavras) e redigido em dois idiomas, sendo um deles o inglês. As palavras RESUMO e ABSTRACT devem ser redigidas em letras maiúsculas, negrito e centralizadas.

[The abstract has to be presented in a single paragraph and written in two languages, being the Portuguese language one of them. The words RESUMO and ABSTRACT must be in capital letters.]

8. Logo após o texto do Resumo e do Abstract devem ser incluídos os termos Palavras-chave e Keywords, respectivamente, com alinhamento à esquerda, seguidas de dois pontos e em negrito, contendo até quatro termos (não contidos no título), separados por ponto e vírgula.

[ABSTRACT and RESUMO must be followed by Keywords and Palavras-chave, respectively, aligned to the left, containing up to four words, separated by semicolons.]

9. Os grandes itens (**INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODO, RESULTADOS E DISCUSSÃO, CONCLUSÃO, AGRADECIMENTOS e REFERÊNCIAS**) devem ser escritos em letras maiúsculas, negrito e alinhados à esquerda. Os demais obedecem a seguinte sequência:

MATERIAL E MÉTODO - (item primário) - todo em maiúsculas e negrito.

Caracterização do local - (item secundário) - só a inicial maiúscula e em negrito.

Solo - (item terciário) - só a inicial maiúscula, em negrito e itálico.

Horizonte A - (item quaternário) - só a inicial maiúscula, em itálico.

[The primary titles must be written in capital letters, aligned to the left. The other ones must obey the sequence as follows:

MATERIAL AND METHOD – (primary item) – fully in capital letters and in bold type.

Characterizing the local – (secondary item) – In bold type but the first letter in capitals.

Soil – (tertiary item) – The initial in capitals, in bold type and in italics.

Horizon A – (quaternary item) – only the initial letter in capitals, in italics.]

10. As siglas e abreviaturas, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, deverão ser colocadas entre parênteses, precedidas do nome por extenso.

[The acronyms and abbreviations, when they first appear in the paper, must be within brackets, preceded by their full names.]

11. Figuras (gráficos e fotografias), devem possuir resolução mínima de 300dpi, **PODENDO SER EM CORES**, sem-contorno. As dimensões (largura e altura) não podem ser maiores que 17 cm, sempre com orientação da página na forma retrato (fonte: Times New Roman, tamanho da fonte: 11, não-negrito e não-itálico).

[Figures (graphs and photographs), with minimum resolution of 300dpi, can be in color, no boundary. The dimensions (height and width) cannot be larger than 17 cm, always with portrait page orientation, letter type of Times New Roman, size 11, non-bold type and no italics.]

12. As figuras e tabelas devem ser auto-explicativas e alocadas no texto logo após sua primeira chamada. A identificação destas deve ser expressa em dois idiomas (a usada na versão do trabalho e o inglês, se o trabalho for em inglês, a outra será o português). As tabelas devem ser produzidas em editor de texto (Word) e não podem ser inseridas no texto como figuras. Para tabelas com conteúdo numérico, as vírgulas (ou pontos) devem ficar alinhadas verticalmente e os números centralizados na coluna.

[The figures and tables must self-explanatory and located in the text right after they are mentioned. Their identification must be expressed in two languages, being the English language one of them. The tables must be produced in Word text editor and cannot be put in the text as being figures. For the tables which include numbers, the points must be aligned vertically and the numbers must be centralized in the column.]

13. Nomes científicos devem ter gênero e espécie escritos por extenso (Ex: *Araucaria angustifolia*) e em itálico (em negrito quando dentro de títulos ou itens escritos da mesma forma).

[Scientific names must be fully written (ex: *Araucaria angustifolia*) and in italics.]

14. Fórmulas editadas pelo módulo Equation Editor, do Microsoft Word, devem obedecer à fonte do texto, com símbolos, subscrito/sobrescrito etc., em proporções adequadas.

[Formulae edited by the module Equation Editor, of Microsoft Word, must obey the text letter, with symbols, subscript/superscript, etc, in suitable proportions.]

15. Citações bibliográficas serão feitas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, usando o sistema "autor-data". Todas as citações mencionadas no texto obrigatoriamente devem ser relacionadas na lista de Referências (e vice-versa), de acordo com a norma NBR 6023 da ABNT.

[Bibliographical quotations will be carried out in accordance with NBR 10520 from ABNT, using the system author- date. All quotations mentioned in the text must listed down in the reference list, in compliance with NBR 6023 from ABNT.]

16. No momento apropriado o autor será solicitado a inserir os nomes de todos os participantes, que devem ser posicionados logo abaixo do título em inglês, e identificados com número sequencial sobrescrito. O chamamento dos autores deve ser indicado no rodapé da primeira página, antecedido do número de identificação, devendo conter: título de graduação (Ex: Engenheiro Florestal), maior titulação (Ex: Dr.), descrição da função/profissão (Ex: Professor do Departamento de Ciências Florestais, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria), endereço (Ex: Av. Roraima, 1000, CEP 97105-900, Santa Maria (RS), Brasil.) e e-mail (Ex: cienciaflorestal@ufsm.br) sem o ponto final.

[In its final version, all authors names must be inserted immediately below the paper title and identified with its superscript sequence number. The authors calling must be indicated as footnote at the first page.]

17. Os manuscritos submetidos à revista passam pela triagem inicial do comitê de área, são enviados para revisores ad hoc, devolvidos aos autores para correções e, posteriormente, passam pela avaliação final do Conselho Editorial. Além disso ainda passam pelas correções de língua estrangeira (inglês e espanhol), língua portuguesa e referências. Os artigos aceitos são publicados na ordem de aprovação e para os não-aceitos é feita a comunicação aos autores. Os artigos são disponibilizados no formato "pdf", no endereço eletrônico da revista (www.ufsm.br/cienciaflorestal).

[The manuscripts subjected to Ciência Florestal are submitted to the area committee which will decide the need of sending to ad hoc reviewers. The trial version is returned to the authors for corrections and, later, are finally evaluated by the Editing Committee. The accepted articles are published preferably in the order of their

approval. Offprint will not be provided. The articles are available, in 'pdf' format, at the following electronic address: www.ufsm.br/cienciaflorestal.]

18. Em caso de dúvidas sobre formatação, consultar os artigos já publicados no site ou o e-mail cienciaflorestal@ufsm.br.

[For further information and doubts consult the published articles and the Editing Committee through the e-mail: cienciaflorestal@ufsm.br.]

19. Consulte também, no item AJUDA, "Um Trabalho Exemplo" no rodapé da janela superior CAPA.

Setembro/2017.