

Determinação de parâmetros genéticos em população de gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium*) através das características fisiológicas da semente

Determination of genetic parameters in a *Astronium fraxinifolium* population by seed physiological characteristics

Ananda Virgínia de Aguiar
Fernando Rodrigo Bortolozo
Mario Luiz Teixeira de Moraes
Marco Eustáquio de Sá

RESUMO: Sementes de gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium*), colhidas em dois anos, foram submetidas aos testes de germinação e de vigor (primeira contagem, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica), visando verificar o potencial de conservação e se variações na qualidade das sementes apresentavam associação com parâmetros genéticos. Foi observado que as estimativas de herdabilidade em nível de médias (h_m^2) foram de 0,91 e 0,97 para germinação; 0,90 e 0,96 para a primeira contagem; 0,93 e 0,97 para envelhecimento acelerado e 0,95 e 0,99 para a condutividade elétrica, para as colheitas de 1997 e 1998, respectivamente, evidenciando grande herdabilidade para todas as características estudadas. Constatou-se que a variabilidade genética foi mais influenciada pelas condições ambientais no início da formação dos botões florais e na época da colheita das sementes, do que pelo tempo (idade) de armazenamento.

PALAVRAS-CHAVE: *Astronium fraxinifolium*, Sementes, Conservação genética, Germinação, Vigor

ABSTRACT: Seeds of *Astronium fraxinifolium* (Anarcadiaceae) were collected in two years, and submitted to tests of seed germination and vigour (first count, aging and electric conductivity), in order to verify the potencial of conservation and if variations in the seed quality presented on association with genetic parameters. Coefficient of heritability in average (h_m^2) were 0.91 and 0.97 to germination; 0.90 and 0.96 to first count; 0.93 and 0.97 to aging and 0.95 and 0.99 to electric conductivity, for seeds collected in 1997 and 1998, respectively, evidencing a great heritability to all studied characteristics. Genetic variability was influenced more by environmental conditions of blooming and harvest of seeds than storage time.

KEYWORDS: *Astronium fraxinifolium*, Seeds, Genetic conservation, Germination, Vigour

INTRODUÇÃO

A utilização de métodos “ex situ” e “in situ” pode contribuir satisfatoriamente para a conservação genética das espécies, porém, essas técnicas estão longe de suprir todas as necessidades. Assim, a variabilidade genética de muitas espécies tem sido perdida por desmatamento, doença e extrativismo indiscriminado, além de outras modificações mais lentas e sutis. Dessa forma, os armazenamentos tecnológico e natural (banco de sementes) são técnicas relativamente seguras e econômicas contra essas perdas, assegurando valiosos germoplasmas das espécies que correm risco de extinção.

Os estudos sobre bancos de sementes são baseados somente em observações, e estes variam em função dos gradientes de pH (Pakeman e Marshall, 1997), da fertilidade do solo (Kitajima e Tilman, 1996) ou da umidade do solo (Kirkham e Kent, 1997; Bekker et al., 1998).

Além do crescimento das plantas (Monteith, 1977; Woodward, 1997), fatores ambientais controlam a produção de sementes e frutos pelas plantas (Pigott e Hunteley, 1981; Haugh, 1990). Entretanto, pouco se sabe como as condições edáfo-climáticas afetam os bancos de sementes, essenciais para a regeneração e manutenção de espécies de baixa ocorrência em comunidades de plantas (Grubb, 1977; Thompson et al., 1997).

O Brasil possui grande número de espécies arbóreas, mas há pouca informação sobre a produção de suas sementes. O gonçalo-alves (*Astronium fraxinifolium*), espécie da família Anacardiaceae, possui grande importância econômica, produzindo madeira de excelente qualidade, muito usada na construção civil e naval. Ecologicamente é classificada como planta decídua, heliófita, pioneira e seletiva xerófila, sendo encontrada em terrenos rochosos e secos, onde forma agrupamentos descontínuos. Floresce durante os meses de agosto e setembro, com a planta despida de sua folhagem. Pro-

duz anualmente grande quantidade de sementes, facilmente disseminadas pelo vento (Lorenzi, 1992).

A espécie não tem sido usada em programas de reflorestamento e as populações naturais foram, na sua maioria, destruídas pela exploração do homem, o que restringiu a sua ocorrência a pequenos fragmentos florestais e na vegetação que ocorre às margens de rodovias, principalmente na região centro-oeste. Assim, espécies como o gonçalo-alves, que se encontram nessa última situação, sofrem com a concentração de poluentes emitidos pelos veículos que trafegam nessa rodovia.

Os efeitos da poluição são observados primeiramente nas folhas, pois são as partes que mais apresentam os sintomas causados por esses fatores. Os sintomas são variáveis e geralmente dependem da espécie e do estágio de crescimento, do tipo e da concentração de poluentes e dos fatores ambientais a que está exposta. Geralmente, as condições do ambiente urbano alteram a frequência e a quantidade de frutos na árvore. A iluminação, por exemplo, é um dos fatores que mais influencia a floração das árvores (Heart, 1980). Thomas et al. (1973) afirmaram que o crescimento dos órgãos de reprodução das plantas é estimulado a iniciar ou inibir, quando o fotoperíodo é estendido por meio da luz elétrica ou até mesmo pelos faróis de carros, mesmo sendo de baixa intensidade.

A influência das condições climáticas na produção de sementes também foi observada por Pakeman (1999), quando estudou a relação entre a densidade do banco de sementes de *Calluna vulgaris* e o clima. Esse autor constatou que o clima mais frio e úmido pode reduzir o florescimento e a produção de sementes e a variação anual na produção de sementes pode ser considerável.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estimar alguns parâmetros genéticos, através da avalia-

ção de algumas características fisiológicas das sementes de uma população natural de gonçalo-

alves, coletadas à margem de rodovia em dois anos consecutivos.

MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de gonçalo-alves foram colhidas em setembro de 1997 e 1998, de 30 árvores de polinização livre localizadas à margem da rodovia MS 158, no município de Selvíria, MS. O local da colheita das sementes caracteriza-se pela altitude média de 327 m, latitude de 20° 19'S e longitude de 51°26'W. As sementes ficaram armazenadas em câmara seca (UR 40% e 20°C) até dezembro de 1998, quando foram avaliadas algumas características fisiológicas. O experimento foi conduzido em laboratório e as características fisiológicas das sementes foram avaliadas pelos testes de germinação (GE), primeira contagem (VI), envelhecimento acelerado (EV) e condutividade elétrica (CO). O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 30 tratamentos (progênies) e quatro repetições.

O teste de germinação foi conduzido com quatro sub-amostras de 50 sementes, por progênie, tomadas ao acaso. As sementes foram semeadas em caixas plásticas, tendo como substrato papel filtro, que foi umedecido com quantidade de água equivalente a três vezes o seu peso, sendo que as caixas foram colocadas em germinador regulado para a temperatura constante de 25°C, durante todo o teste. As avaliações foram efetuadas segundo os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), considerando-se germinadas as sementes que produziram plântulas normais. Foram realizadas duas contagens, aos

11 (primeira contagem) e 18 dias após a semeadura. Os dados de plântulas normais obtidos na primeira contagem foram utilizados como um dos testes de vigor.

Posteriormente foi feito o teste de envelhecimento acelerado, utilizando-se 200 sementes de cada árvore, as quais foram colocadas em caixas plásticas (gerbox) com tela e 45 mL de água destilada e deionizada, levadas para estufa incubadora com temperatura regulada a 42°C. Após 48 horas, as 200 sementes foram distribuídas em quatro repetições e colocadas para germinar, nas mesmas condições do teste anterior, realizando-se apenas uma contagem no 11º dia após semeadura.

O teste de condutividade elétrica foi realizado, utilizando-se quatro repetições de 25 sementes de cada progênies, as quais foram pesadas, colocadas em copo plástico de 200 mL contendo 75 mL de água destilada e deionizada e colocadas em germinador regulado para a temperatura de 25°C, durante 24 horas. Após esse período, procedeu-se à leitura da condutividade elétrica da solução em condutivímetro marca DIGIMED mod. CD20, sendo os resultados expressos em mS/cm/g sementes.

Os esquemas de análise de variância utilizados nas análises individuais e conjuntas estão apresentados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. A seguir foram estimados os parâmetros genéticos, baseando-se em Vencovsky e Barriça (1992).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias, o coeficiente de variação experimental (CV_{exp}) e as estimativas para o teste F, encontradas para germinação, primeira contagem, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, envolvendo os anos de 1997 e 1998, são apresentados na Tabela 3. As sementes

colhidas em 1997 apresentaram melhores resultados, devido principalmente às condições climáticas favoráveis durante os meses de florescimento e frutificação, ao contrário de 1998 que teve um período de grande estiagem nessa mesma época (Figura 1).

Tabela 1. Esquema de análise de variância utilizada nas análises individuais.

(Analysis of variance Table used for the individual analyses)

FV	GL	QM	E(QM)	F
PROG	p-1	Q ₁	$S^2 + S_p^2$	Q ₁ /Q ₂
ERRO	(r-1)p	Q ₂	S^2	-

Tabela 2. Esquema de análise de variância utilizada nas análises conjuntas.

(Analysis of variance Table used for the cluster analyses)

FV	GL	QM	E(QM)	F
PROG (P)	p-1	Q ₁	$S^2 + ras_p^2$	Q ₁ /Q ₂
ANO (A)	a-1	Q ₂	$S^2 + r \frac{a}{a-1} S_{ap}^2 + rpVA$	Q ₂ /Q ₃
(P) x (A)	(p-1)(a-1)	Q ₃	$S^2 + r \frac{a}{a-1} S_{pa}^2$	Q ₃ /Q ₄
ERRO	(r-1)pa	Q ₄	S^2	-

Tabela 3. Estimativa de alguns parâmetros estatísticos para as características fisiológicas de sementes: germinação (GE), primeira contagem (VI), envelhecimento acelerado (EV) e condutividade elétrica (CO), em uma população de gonçalo-alves, colhidas em 1997 e 1998, em Selvíria, MS.

(Estimative of some statistic parameters physiological characteristics of seeds: germination (GE), first count (VI), aging (EV) and electric conductivity (CO), in a gonçalo-alves population, collected in 1997 and 1998, in Selvíria-MS)

Característica	Ano de colheita					
	1997			1998		
	Média	CV _{exp} (%)	F	Média	CV _{exp} (%)	F
GE (%)	69,60	12,83	11,74**	62,02	14,77	36,46**
VI (%)	58,65	18,05	10,51**	52,12	19,09	23,76**
EV (%)	56,60	16,99	15,38**	41,19	17,32	43,04**
CO (µS/cm/g)	117,68	13,31	20,13**	149,76	10,69	75,31**

(**) valores de F significativos em nível de 1% de probabilidade.

Kageyama e Piña-Rodrigues (1993) citam a ocorrência de variação do desempenho de sementes entre anos para algumas espécies como jacarandá-caviúna (*Dalbergia nigra*), jequitibá-branco (*Cariniana estrellensis*), jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*), louro (*Cordia trichotoma*), na Reserva Florestal da Vale do Rio Doce em Linhares, ES. Nesse local, os anos de 1987 a

1990 caracterizaram-se como mais secos em relação à média pluviométrica da região, tendo havido um rebaixamento gradual do lençol freático. Segundo levantamentos fenológicos feitos nesse período, o florescimento de algumas espécies arbóreas foi reduzido, chegando até, em alguns casos, a não ocorrência desse.

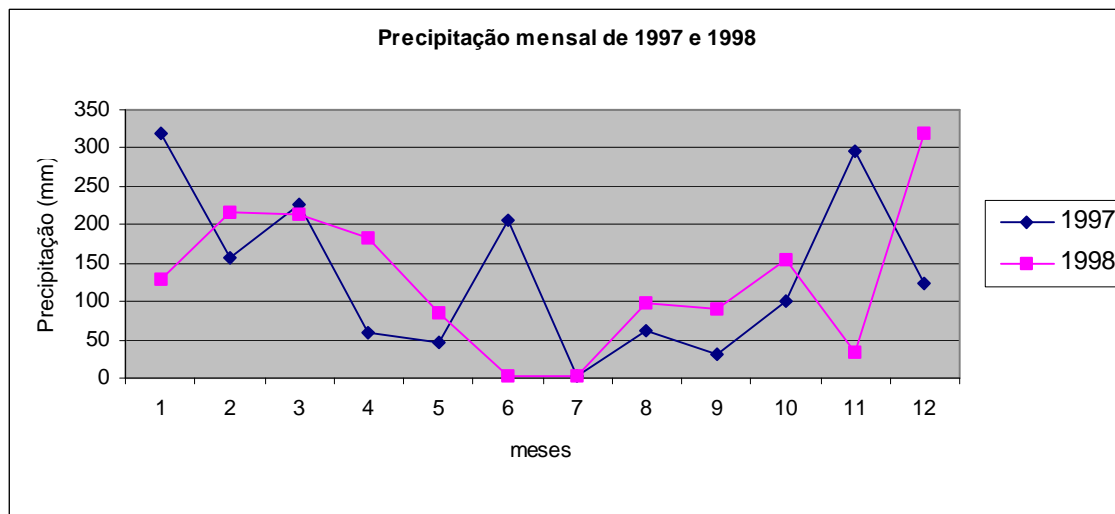


Figura 1. Dados de precipitação média mensal dos anos de 1997 e 1998, de Ilha Solteira, SP, a 14 km de Selvíria, MS. (Mean of monthly rainfall data of Ilha Solteira-SP, to 14 km of Selvíria-MS)

Constatou-se, também, que as sementes utilizadas foram atacadas por fungos, o que afetou a germinação. Em algumas progênies, o ataque de fungos foi tão intenso que causou a morte de todas as sementes utilizadas nos testes de germinação e vigor. Kageyama e Piña-Rodrigues (1993) citam que o ataque de fungos, principalmente em sementes de espécies florestais é um fato continuamente relatado em trabalhos de tecnologia de sementes, sendo os gêneros mais detectados: o *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trochoderma* (Piña-Rodrigues e Vieira, 1986).

Com exceção da condutividade, as demais características apresentaram maior CV_{exp} em 1998 (Tabela 3). Houve significância entre as progênies para todas as características, nos dois anos estudados, evidenciando a variabilidade genética da população para esses caracteres.

As estimativas das variâncias genéticas e fenotípicas encontram-se na Tabela 4. Essas estimativas são fundamentais para que se possa obter as estimativas dos parâmetros genéticos, permitindo que se investigue as possíveis causas do acréscimo, decréscimo ou mesmo a manutenção da estimativa de um parâmetro em função do ambiente, por exemplo.

As estimativas para o coeficiente de variação genética ($CV_g = (100 \cdot \hat{S}_p^2) / \hat{m}$), para a relação ($\hat{b} = CV_g / CV_{exp}$) e herdabilidade em nível de média ($\hat{h}_m = \hat{S}_p^2 / \hat{S}_m^2$) envolvendo os anos de 1997 e 1998, são apresentadas na Tabela 5.

Verifica-se que no ano de maior estresse, a população de gonçalo-alves evidenciou maior variabilidade genética. Resultados semelhantes foram obtidos por Ellis (1984), trabalhando com sementes de três cultivares de milho, armazenadas sob condições parecidas às do presente trabalho. O autor observou também, que as curvas de sobrevivência das sementes apresentaram o mesmo formato, diferindo entre si apenas em relação ao tempo de deterioração controlada, mas apresentando todas o mesmo desvio padrão, porém diferentes médias de viabilidade.

A variação entre indivíduos dentro de uma população, é um processo que começa bem antes da produção de sementes. Segundo Grime (1983), a alta variação em nível individual ocorre na época de florescimento e pode ser atribuída às variações genéticas e à plasticidade das espécies. Alta habilidade competitiva favorecerá indivíduos da população, maximizando sua eficiência reprodutiva e a capacidade de deixar descendentes.

Tabela 4. Estimativas das variâncias do erro (\mathbf{S}^2) entre progênies ($\hat{\mathbf{S}}_p^2$), aditiva ($\hat{\mathbf{S}}_A^2$) e fenotípica ($\hat{\mathbf{S}}_{fm}^2$) em nível de média encontradas para algumas características fisiológicas de sementes de uma população de gonçalo-alves, como: germinação (GE), primeira contagem (VI), envelhecimento (EV), condutividade elétrica (CO), que foram colhidas em dois anos 1997 e 1998.

(Estimates of the error variance (\mathbf{S}^2) among progenies variance ($\hat{\mathbf{S}}_p^2$), genetic additive variance ($\hat{\mathbf{S}}_A^2$), phenotypic at the mean level ($\hat{\mathbf{S}}_{fm}^2$) found for the following physiological characteristics of seeds of gonçalo-alves population: germination (GE), first count (VI), aging (EV) and electric conductivity (CO), collected in 1997 and 1998)

Ano	Características	Variâncias			
		\mathbf{S}^2	$\hat{\mathbf{S}}_p^2$	$\hat{\mathbf{S}}_A^2$	$\hat{\mathbf{S}}_{fm}^2$
1997	GE (%)	79,78	214,18	856,73	234,13
	VI (%)	112,09	266,53	1066,12	294,55
	EV (%)	92,51	332,60	1330,42	355,73
	CO ($\mu\text{S/cm/g}$)	245,52	1173,92	4695,70	1235,31
1998	GE (%)	83,91	743,86	2975,43	764,84
	VI (%)	98,99	563,18	2252,71	587,93
	EV (%)	50,87	534,62	2138,47	547,33
	CO ($\mu\text{S/cm/g}$)	256,11	4757,78	19031,12	4821,81

Tabela 5. Estimativa do coeficiente de variação genética (CV_g), a relação $\text{CV}_g/\text{CV}_{\text{exp}}$ (b), herdabilidade, em nível de média (\hat{h}_m^2) para as características fisiológicas de sementes: germinação (GE), primeira contagem (VI), envelhecimento (EV), condutividade elétrica (CO), em uma população de gonçalo-alves, obtidas para os anos de 1997 e 1998, em Selvíria, MS.

(Estimates of the coefficient of genetic variation (CV_g), the $\text{CV}_g/\text{CV}_{\text{exp}}$ ratio (b), heritability at the mean level (\hat{h}_m^2) for the physiological characteristics of seeds: germination (GE), first count (VI), aging (EV) and electric conductivity (CO), in a gonçalo-alves population, collected in 1997 and 1998, in Selvíria –MS)

Características	Ano de colheita					
	1997			1998		
	CV_g (%)	\hat{b}	\hat{h}_m^2	CV_g (%)	\hat{b}	\hat{h}_m^2
GE (%)	21,03	1,64	0,91	43,98	2,98	0,97
VI (%)	27,84	1,54	0,90	45,54	2,39	0,96
EV (%)	32,22	1,90	0,93	56,13	3,24	0,98
CO ($\mu\text{S/cm/g}$)	29,11	2,19	0,95	46,06	4,31	0,99

(1) b= $\text{CV}_g/\text{CV}_{\text{exp}}$

Os resultados obtidos ($\hat{b} = \text{CV}_g/\text{CV}_{\text{exp}}$) demonstraram que, entre as características avaliadas, a condutividade elétrica seria a mais

indicada a ser usada para selecionar as progênies que produziram as sementes de melhor qualidade fisiológica (Tabela 5).

As estimativas de herdabilidade foram altas para as características estudadas, evidenciando que o controle genético para estes caracteres é alto.

As estimativas obtidas na análise conjunta, para efeito de anos e da interação progênies x ano, encontram-se na Tabela 6. A interação progênies X ano apresentou significância para todas as características. Isso evidencia que as progênies apresentaram um comportamento diferenciado em função dos anos, fato este que tem grande significância para a colheita de sementes, quer para fim de fomento ou de conservação genética. Quanto ao efeito ano, a significância encontrada para condutividade elétrica e envelhecimento foram interessantes para evidenciar que ocorreu diferença entre os anos, a qual pode estar ligada à fase de formação ou armazenamento das sementes. Ao que tudo indica, as diferenças climáticas entre os dois anos, o período de estiagem que ocorreu no início da formação dos botões florais em 1998 (junho) e a maior ocorrência de chuvas na época da colheita das sementes (primeira quinzena de setembro) (Figura 1), contribuiu para o maior número de sementes deterioradas, conseqüentemente, baixa germinação de sementes e maior

condutividade no ano de 1998 em relação ao de 1997 (Tabela 3). Os dados também evidenciaram um comportamento diferenciado entre as progênies nos dois anos estudados, ou seja, progênies que sofreram mais o efeito de estresse que outras, esses resultados foram evidenciados com maior expressividade no ano de 1998. (Tabela 3)

As espécies arbóreas que se encontram às margens de rodovias, como o gonçalo-alves, sofrem um estresse mais intenso do que as que se encontram dentro de uma floresta, porque além do estresse devido às mudanças climáticas, elas são submetidas a outros fatores que influenciam a produção de sementes viáveis, como os poluentes expelidos pelos carros, a intensidade da luz dos faróis e outros. Esses fatores, por um lado, contribuem para maior expressão da variabilidade genética entre as plantas, resultando em indivíduos com comportamento diferenciado dentro da mesma população. Por outro lado, as conseqüências das mudanças climáticas globais e locais induzidas pelo homem podem restringir a produção do banco de sementes dessa espécie, bem como a probabilidade de regeneração após a perturbação, através da redução da sobrevivência das plântulas.

Tabela 6. Estimativas dos valores de F para os efeitos de ano e da interação progênies x ano, na análise conjunta para as características fisiológicas de sementes de uma população de gonçalo-alves colhidas em dois anos 1997 e 1998.

(Estimates of F values year and progenies x years interaction effects, in together analysis for physiological characteristics of seeds in a gonçalo-alves population, collected in 1997 and 1998)

Características				
FV	GE (%)	VI (%)	EV (%)	CO (mS/cm/g)
ANO	1,64 ^{ns}	1,57 ^{ns}	11,62 [*]	6,82 [*]
PROG x ANO	96,31 ^{**}	16,71 ^{**}	23,92 ^{**}	44,62 ^{**}

(ns) – valores de F não significativos; (* e **) valores de F significativos em nível de 5% e 1% de probabilidade

CONCLUSÕES

Após a análise e interpretação dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

✓ A população de gonçalo-alves apresentou grande variabilidade genética para as características fisiológicas de sementes, o que pode ser responsável pela manutenção da mesma em condições de estresses quando à margem de rodovias;

✓ nível de vigor das sementes, no período de dois anos, foi mais influenciado pelas condições ambientais no início da formação dos botões florais e na época da colheita das sementes, do que pelo tempo de armazenamento em câmara seca.

AUTORES

ANANDA VIRGÍNIA DE AGUIAR é Pós-graduanda do Departamento de Fitotecnia da FEIS / UNESP e Bolsista da FAPESP. Caixa Postal 31 – 15385-000 - Ilha Solteira, SP. E-mail: ananda@agr.feis.unesp.br

FERNANDO RODRIGO BORTOLOZO é graduando em Agronomia na FEIS / UNESP - Caixa Postal 31 – 15385-000 - Ilha Solteira, SP

MARIO LUIZ TEIXEIRA DE MORAES é Professor Livre-Docente do Departamento de Fitotecnia, Economia e Sociologia Rural – FEIS / UNESP - Caixa Postal 31 – 15385-000 - Ilha Solteira, SP. E-mail: teixeira@agr.feis.unesp.br

MARCO EUSTÁQUIO DE SÁ é Professor Doutor do Departamento de Fitotecnia, Economia e Sociologia Rural – FEIS / UNESP – Caixa Postal 31 - 15385-000 - Ilha Solteira, SP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEKKER, R.M.; OOMES, M.L.M.; BAKKER, J.P. The impact of groundwater level on soil seed bank survival. **Seed science research**, v.8, p.339-404, 1998.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. SECRETARIA NACIONAL DE DEFESA AGROPECUÁRIA. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDN/CLV, 1992. 365p.
- ELLIS, R.H. The meaning of viability. In: DICKIE, J.B.; LININGTON, S.H.; WILLIAMS, J.T., ed. **Seed management techniques for genebanks**. Rome: International Board for Plant Genetic Resources, 1984. p.146-178
- GRIME, J.P. **Plant strategies and vegetation processes**. New York: John Wiley, 1983. 222p.
- GRUBB, P.J. The maintenance of species richness in plant communities: the importance of regeneration niche. **Biological reviews**, v.52, p.107-145, 1977.
- HAUGH, M.N. Agrometeorological aspects of crops in the United Kingdom and Ireland: a review for sugar beet, oilseed rape, peas, wheat, barley, oats, potatoes, apples and pear. **Joint research center**, 1990.
- HEART, R.L. Initial events in injury to plants by air pollutants. **Annual review of plant physiology**, v.31, p.395-490, 1980.
- KAGEYAMA, P.Y.; PINÁ-RODRIGUES, F.C.M. Fatores que afetam a produção de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PINÁ-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. 350p.
- KIRKHAM, F.W.; KENT, M. Soil seed bank composition in relation to above-ground vegetation in fertilized and unfertilized hay meadows on Somerset peat moor. **Journal of applied ecology**, v.34, p.889-902, 1997.
- KITAJIMA, K.; TILMAN, D. Seed banks and seedling establishment on an experimental productivity gradient. **Oikos**, v.76, p.381-391, 1996.

- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 368p.
- MONTEITH, J.L. Climate and efficiency of crop production in Britain. **Philosophical transactions of the Royal Society of London B**, v.281, p.277-294, 1977.
- PAKEMAN, R.J.; CUMMINS, R.P.; MILLER, G.R.; ROY, D.B. Potencial climatic control of seedbank density. **Seed science research**, v.9, p.101-110, 1999.
- PAKEMAN, R.J.; MARSHALL, A.G. The seedbanks of Breckland heaths and heath grasslands, eastern England, and their relationship to the vegetation and the effects of management. **Journal of biogeography**, v.24, p.375-390, 1997.
- PIGOTT, C.D.; HUNTLEY, J.P. Factors controlling the distribution of *Tilia cordata* at the northern limit of its geographical range. **New phytologist**, v.87, p.817-839, 1981.
- PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VIEIRA, J.D. Teste de germinação. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M., ed. **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.70-90
- THOMAS, M.; RANSON, S.L.; RICHARDSON, J.A. **Plant physiology**. London: Longman, 1973. 1062p.
- THOMPSON, K.; BAKKER, J.P.; BEKKER, R.M. **The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486p.
- WOODWARD, F.I. Life at the edge: a 14-year study of *Verbena officinalis* population's interactions with climate. **Journal of ecology**, v.85, p.899-906, 1997.

