



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL

**TECNOLOGIA DE SEMENTES DE *Stryphnodendron*
adstringens – Leg. - Mimosoidae: ANÁLISE DO VIGOR E DA
VIABILIDADE ATRAVÉS DO TESTE DE PH DE EXSUDATO
E DO TESTE DE TETRAZÓLIO**

Trabalho apresentado ao
Departamento de Engenharia
Florestal da Universidade de Brasília
como parte das exigências para
obtenção do título de Engenheiro
Florestal.

Aluno: Guilherme Vieira Bittencourt.

Orientadora: Rosana de Carvalho Cristo Martins

Co-orientadora: Mikaela Soares Silva

Brasília, Dezembro/2014

GUILHERME VIEIRA BITTENCOURT

**TECNOLOGIA DE SEMENTES DE *Stryphnodendron adstringens*
- Leg. - Mimosoidae: ANÁLISE DO VIGOR E DA VIABILIDADE
ATRAVÉS DO TESTE DE PH DE EXSUDATO E DO TESTE DE
TETRAZÓLIO**

Trabalho apresentado ao Departamento de Engenharia Florestal da Universidade de Brasília como parte das exigências para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Guilherme

08/12/2014

Universidade de Brasília
Faculdade de Tecnologia
Departamento de Engenharia Florestal

**TECNOLOGIA DE SEMENTES DE *Stryphnodendron*
adstringens – Leg. - Mimosoidae: ANÁLISE DO VIGOR E
DA VIABILIDADE ATRAVÉS DO TESTE DE PH DE
EXSUDATO E DO TESTE DE TETRAZÓLIO**

GUILHERME VIEIRA BITTENCOURT

Matrícula: 09/0006917

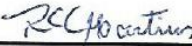
Projeto de Pesquisa apresentado
ao Departamento de Engenharia
Florestal da Universidade de
Brasília, como parte das exigências
para obtenção do título de
Engenheiro Florestal.

Orientador:


Profª Rosana de Carvalho Cristo
Martins (UnB).

Menção: SS


APROVADO POR:



Profª Rosana de Carvalho Cristo Martins, DSc (UnB)
(Orientador)



Engª Florestal Mikaela Soares Silva (UnB)
(Co-Orientadora)



Profª Ildeu Soares Martins, DSc (UnB)
(Examinador Interno)

RESUMO

BITTENCOURT, G, V. **Tecnologia de sementes de *Stryphnodendron adstrigens*– Leg. – Mimosoidae: Análise do vigor e da viabilidade pelo teste de pH de exsudato e teste de tetrazólio.** 2014. 24f. Monografia (Bacharel), Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, 2014.

Para atender ao aumento na procura por mudas de espécies arbóreas nativas do cerrado, visando à recuperação de áreas degradadas, reflorestamento e arborização urbana, entre outros, sobretudo a partir da década de 80 (ABDO e PAULA, 2006), é necessário que se tenha disponíveis sementes e mudas de qualidade (e em quantidade). Para que isso seja possível, é necessária a condução de pesquisas na área de análise de sementes que possam gerar informações sobre a qualidade das sementes, levando a uma padronização, agilização, aperfeiçoamento e estabelecimento dos métodos de análise. Nossa hipótese foi que a aplicação do teste de pH de exsudato pelo método massal é um bom indicador para a avaliação da qualidade de um lote de sementes de *Stryphnodendron adstrigens*, sendo que o uso do teste de tetrazólio comprovaria o vigor e a viabilidade do mesmo lote de sementes sendo usado para confirmar o resultado do teste de pH de exsudato. Foi feita a coleta de frutos de *Stryphnodendron adstrigens* em 2011 em uma área de cerrado sentido restrito na fazenda água limpa da Universidade de Brasília, esses frutos foram beneficiados e as sementes armazenadas no LASEVIFLOR no departamento de engenharia florestal da Universidade de Brasília. Em 2014 foi feita a análise do vigor e da viabilidade deste lote de sementes pelo teste de pH de exsudato através do método massal testando-se diferentes tratamentos de tempo de embebição, os resultados deste teste foram comparados com o teste de tetrazólio para o mesmo lote de sementes. Foram feitas análises estáticas e gerados gráficos para verificar se haviam diferenças estatísticas entre os tratamentos, como resultados observou-se que não houve diferença entre os tratamentos e que o teste de pH de exsudato superestimou os resultados positivos, comparado ao teste de tetrazólio, devido ao tegumento da semente não liberar solutos para o meio de embebição por ser muito rígido, ou seja, sementes que pareciam viáveis na verdade haviam perdido a viabilidade mas o tegumento rígido permanecia intacto o que levava a aparentar que a semente estava viável.

Palavras chave; *Stryphnodendron adstrigens*, teste de pH de exsudato, teste de tetrazólio.

ABDO, M. R. V. N.; Paula, R. C. de. Temperaturas para a Germinação de Espécies de Capixingui (*Croton floribundus* – Spreng – Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Sementes.** Brasília, v. 28, n. 3. p. 135-140, 2006.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	07
2. OBJETIVOS.....	08
2.1. Objetivo Geral.....	08
2.2. Objetivos Especificos.....	08
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	09
3.1. Análise da qualidade de sementes.....	09
3.2. Teste de pH de exsudato.....	10
3.3. Teste de Tetrazólio.....	10
3.4. A espécie <i>Sthryphnodendron adstrigens</i> Marti (Mimosoideae).....	11
4. MATERIAIS E METÓDOS.....	12
4.1. Coleta.....	12
4.2. Teste de pH de exsudato.....	13
4.3. Teste de Tetrazólio.....	15

4.4. Análise Estatística.....	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5.1. Peso de mil sementes.....	16
5.2. pH de Exsudato.....	17
5.3. Teste de Tetrazólio.....	18
5.4. Anova.....	21
5.5. Teste de Tukey.....	23
6. CONCLUSÃO.....	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de se conservar as florestas tropicais e o fortalecimento da política ambiental promoveu um aumento da demanda de estudos sobre sementes de espécies nativas, insumo básico nos programas de recuperação e conservação de ecossistemas (CARVALHO ET al., 2006).

Para atender ao aumento na procura por mudas de espécies arbóreas nativas do cerrado, visando à recuperação de áreas degradadas, reflorestamento e arborização urbana, entre outros, sobretudo a partir da década de 80 (ABDO e PAULA, 2006), é necessário que se tenha disponíveis sementes e mudas de qualidade (e em quantidade). Para que isso seja possível, é necessária a condução de pesquisas na área de análise de sementes que possam gerar informações sobre a qualidade das sementes, levando a uma padronização, agilização, aperfeiçoamento e estabelecimento dos métodos de análise.

A semente é um fator fundamental no processo de produção de mudas. Para assegurar o sucesso da produtividade é necessário conhecer características das sementes, como o vigor e a viabilidade. Assim, ao se aplicar técnicas de avaliação da qualidade das sementes é importante que estas permitam a obtenção de resultados rápidos e confiáveis (MATOS, 2009), compatíveis com os resultados em campo.

Os testes de vigor baseados na integridade dos sistemas de membranas das sementes vêm se destacando dentro da tecnologia de sementes por identificar o processo de deterioração das mesmas na sua fase inicial e permitir que medidas corretivas sejam tomadas para reduzir ou minimizar o seu efeito na qualidade fisiológica da semente (MATOS, 2009).

Os teste de pH do exsudato baseia-se nas alterações do pH no meio de embebição, provocada pela exsudação de lixiviados, e têm apresentado correlações significativas com o teste de germinação para sementes de diferentes espécies (SANTANA ET al., 1998, citados por MATOS, 2009).

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico usado para se determinar rapidamente a viabilidade de sementes, também pode ser usado para se determinar danos por secagem, umidade, ou colheita e beneficiamento (Brasil, 2009).

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade de enzimas do grupo das desidrogenases, presentes nos tecidos vivos. (COSTA e SANTOS, 2010).

A espécie *Stryphnodendron adstringens*, conhecida pelo nome vulgar barbatimão, é uma planta arbórea nativa do Cerrado brasileiro, ocorrendo segundo (SILVA JÚNIOR, 2005) em cerrado sentido restrito, cerradão, no DF e nos estados BA, GO, MA, MG, MT, MS, SP e TO.

Esta espécie é amplamente utilizada na medicina popular, na indústria farmacêutica, curtumes e na produção de adesivos para painéis de madeira, devido à produção de taninos, compostos que chegam a 40% na casca e de 27 a 32% nas folhas. (Almeida ET al., 2010).

Embora alguns trabalhos na área de tecnologia de sementes de *Stryphnodendron adstringens* Marti já estejam ocorrendo (KISSMAN ET al., 2010, MARTINS ET al., 2008, FREITAS ET al., 2013, MEIRA e NOBRE 2014, PEREIRA ET al., 2014), ainda não foram exploradas técnicas rápidas de determinação de vigor e de viabilidade como o teste de pH de exsudato, empregado com sucesso em sementes de culturas agrícolas, mas com pouca pesquisa em sementes florestais, especialmente do bioma Cerrado (MATOS, 2009); e sem nenhuma referência para a espécie objeto deste trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi verificar a adequação do teste de pH de exsudato para a análise do vigor das sementes de *Stryphnodendron adstringens* Marti e comparar os resultados com o teste de tetrazólio que é um teste confiável para indicar a viabilidade de um lote de sementes.

2.2. Objetivos Específicos

Como objetivos específicos, determinar o protocolo para execução do teste de pH de exsudato, com a indicação do tempo de embebição e adoção do método massal como adequado para a avaliação do vigor das sementes de *Stryphnodendron adstringens* Marti.

A hipótese testada é de que o teste de pH de exsudato é capaz de promover a diferenciação entre lotes de sementes de *Sthryphnodendron adstrigens* Marti, apresentando alta associação com os resultados do teste de tetrazólio, em condições de laboratório.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Análise da Qualidade de Sementes

Toda a comercialização dentro e fora do país, e também a fiscalização e a legislação de sementes, encontram-se respaldadas pelos resultados dos testes realizados em Laboratórios de Análise de Sementes, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Para isso, são necessários trabalhos que auxiliem na padronização e interpretação desses testes.

De acordo com Lima Jr. ET al. (2010), a maneira mais segura de se conhecer a qualidade de um lote de sementes é através da análise física e fisiológica, bem como a análise das peculiaridades de cada espécie para que se possa interpretar corretamente os resultados obtidos. Isto representa garantia para produtores, comerciantes e agricultores, e outros que lidam com a semente como produto a ser comercializado por possibilitar a aquisição de lotes de sementes com qualidade.

A análise da qualidade de sementes florestais é importante também para o estabelecimento de protocolos que auxiliem na previsão da produção de mudas de espécies a serem empregadas para diversos fins e avaliação da adequação das condições de armazenamento das sementes com vistas ao seu uso futuro, em boas condições (BRASIL, 2009).

A qualidade da semente pode ser avaliada através de características físicas (teor de água, massa de 1.000 sementes, número de sementes por quilograma massa de material seco) ou fisiológicas (viabilidade e vigor) (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; LEONHARDT ET al., 2001; FARIA ET al., 2009).

3.2. Teste de pH de exsudato

O processo de deterioração tem como alteração bioquímica inicial a desestruturação do sistema de membranas ao nível celular (KOOSTRA e HARRINGTON, 1973). As sementes em avançado grau de deterioração liberam mais íons H^+ , tornando o meio em que se encontram mais ácido. A desestruturação de membrana leva a um desequilíbrio na sua capacidade de regular o fluxo de solutos, em ambos os sentidos, tanto na célula como na organela (RIBEIRO, 2000).

A perda da integridade ou descontinuidade das membranas, com a consequente lixiviação de íons e metabólitos voláteis, ocorre em função do grau de deterioração das sementes. As sementes com baixa viabilidade e vigor apresentam maior lixiviação de solutos que sementes vigorosas (HAMPTON, 1995).

O teste de pH do exsudato é um método bioquímico que se baseia nas reações químicas que ocorrem no processo de deterioração, indicando a redução da viabilidade das sementes (PIÑA-RODRIGUES ET al., 2004). Para a realização do teste foram formuladas soluções indicadoras de pH que são substâncias orgânicas que mudam gradualmente de coloração, dentro de uma faixa de pH relativamente estreita (OHLWEILER, 1974). As principais soluções indicadoras empregadas no teste de pH de exsudato são: fenolftaleína e carbonato de sódio (MATOS, 2009).

3.3. Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases que catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias (FRANÇA NETO ET al., 1999). Neste processo, os íons H^+ liberados durante a respiração dos tecidos vivos são transferidos pelas enzimas desidrogenases e interagem com o tetrazólio, o qual é reduzido a um composto vermelho, estável e não difusível chamado de trifetil formazan (BRASIL, 2009).

Esta reação se processa no interior das células vivas e não há difusão do composto, então temos uma separação nítida dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos e que não colorem (BRASIL, 2009).

A intensidade e localização das partes coloridas e descoloridas são utilizadas para a interpretação do teste. As sementes viáveis tendem a absorver a solução de tetrazólio lentamente, desenvolvendo coloração mais suave do que sementes deterioradas, que adquirem coloração rosa forte (COSTA e SANTOS, 2010).

Os tecidos mortos, nos quais não há atividade dessas enzimas, são caracterizados pela coloração branca ou amarelados e textura flácida (FRANÇA NETO ET al., 1999).

3.4. A espécie *Sthryphnodendron adstringens* Marti (Mimosoideae)

Segundo Silva e Higa (2006), a oferta de sementes e mudas de espécies florestais nativas é significativamente inferior à demanda atual e potencial, enquanto a relação das espécies recomendadas para restauração ambiental é ampla.

Barbatimão *Sthryphnodendron adstringens* Marti é uma espécie que varia de arbusto a árvore decídua de pequeno porte a médio porte em áreas de cerrado sentido restrito a cerradão. Os troncos apresentam diâmetros de até 30 cm, ritidoma cinza escuro, com fissuras e cristas sinuosas e descontínuas. (SILVA JÚNIOR, 2005).

As folhas do barbatimão são compostas, paribipinadas, alternas, espiraladas, com até 24 folíolos e 20 foliólulos, ambos alternos. Os foliólulos são largo-elípticos a suborbiculares ou assimétricos, de até 3 cm de comprimento e 2 cm de largura. (SILVA JÚNIOR, 2005).

As sementes de barbatimão são elipsoides de cor castanha, de até 0,8 cm de comprimento, sendo que são produzidas muitas por fruto (SILVA JÚNIOR, 2005).

Sthryphnodendron adstringens é uma espécie florestal que é muito utilizada na medicina popular, havendo uma grande exploração extrativista dessa espécie, segundo (BORGES FILHO; FELFILI 2003) esse extrativismo ocorre sem manejo adequado.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos

de saúde e 85% usam plantas medicinais ou preparações destas. Desde então, a OMS tem expressado a sua posição a respeito da necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário e na atenção básica à saúde (Rosa ET al., 2011).

Pesquisas na indústria farmacêutica também ocorrem devido às propriedades medicinais dessa planta, na produção de anti-inflamatórios.

Segundo (Almeida ET al., 2008) o barbatimão apresenta grande potencial econômico, tanto na área farmacêutica como na indústria de curtimento de couro, em decorrência da grande quantidade de taninos produzidos em suas cascas.

Os taninos provenientes da casca e folhas de *Sthryphnodendron adstrigens* também são amplamente utilizados para a produção de adesivos usados na colagem de painéis de madeira (Goulart ET al., 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta

Os testes de viabilidade e vigor foram conduzidos no laboratório de Sementes Florestais (LASEFLOR) do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade de Brasília - UnB. As sementes de *Sthryphnodendron adstrigens* Marti foram coletadas em 2011 de 10 matrizes, devidamente georreferenciadas com aparelho de GPS, em áreas naturais de cerrado *sensu stricto* do Distrito Federal, essas sementes foram beneficiadas e armazenadas até a data destes testes em 2014. (Tabela 1).

Tabela 1; Coordenadas das matrizes de *Stryphnodendron adstringens*.

ESPÉCIE	MATRIZES	LOCALIZAÇÃO
Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville	1	S15°56'56,1" W47°55'55,0"
	2	S15°54'21,9" W47°56'44,5"
	3	S15°57'58,3" W47°55'09,5"
	4	S15°57'58,4" W47°55'07,1"
	5	S15°57'57,4" W47°55'06,9"
	6	S15°58'01,7" W47°55'26,1"
	7	S15°58'02,5" W47°55'29,0"
	8	S15°59'14,5" W47°55'31,3"
	9	S15°54'28,9" W47°56'42,8"
	10	S15°55'23,5" W47°43'54,3"

As sementes armazenadas de *Stryphnodendron adstringens* foram então separadas em oito repetições de cem sementes em seguida foi calculado o peso de cada repetição seguindo-se a metodologia proposta por Brasil (2009) para o cálculo do peso das 1000 sementes.

Antes da aplicação do teste de pH de exsudato, as sementes de *Stryphnodendron adstringens* Marti passaram por processo de desinfestação com o uso de solução de hipoclorito de sódio a 2% diluído em água destilada, por cinco minutos, e, logo após, lavadas em água corrente por 10 minutos (rotina de desinfestação adotada no LASEVIFLOR).

4.2. Teste de pH de exsudato

Para a realização do teste de pH de exsudato foram utilizadas as seguintes soluções indicadoras de fenolftaleína e de carbonato de sódio, nas formulações: (1) A solução indicadora de fenolftaleína - composta de 1 g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool absoluto, e a adição de 100 mL de água destilada e fervida; (2) a solução indicadora de carbonato de sódio - composta de 8,5 g/L de água destilada e fervida (CABRERA e PESKE, 2002, citados por MATOS, 2009).

A metodologia do teste de pH de exsudato de sementes de *Stryphnodendron adstringens* baseou-se no trabalho de Matos (2009). As sementes

foram colocadas em copos descartáveis de 50 mL contendo água destilada. Em seguida, foram adicionadas uma gota de cada solução indicadora, misturando-se com o auxílio de bastonetes. A leitura foi realizada após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição pelo período de tempo testado.

Os meios de embebição que permaneceram cor de rosa indicaram sementes viáveis, os meios de embebição que apresentaram uma tonalidade rosa claro indicaram sementes suspeitas e aqueles que se tornarem incolores indicaram sementes inviáveis.

Efetou-se como um teste preliminar o método individual, foram adotadas sete repetições de 25 sementes individualizadas em copinho plástico descartável de 80 ml por tratamento. A interpretação foi baseada na coloração dos meios de embebição.

Para o método massal, as sementes foram submetidas ao seguinte pré-tratamento, escarificação manual (lixa na região oposta ao embrião), foram quatro repetições de 25 sementes em cada copinho de 50ml por tratamento. A interpretação foi baseada na coloração dos meios de embebição. Os resultados foram expressos em valores percentuais.

Para a determinação do vigor e da viabilidade de sementes de *Sthryphnodendron adstrigens* através do teste de pH de exsudato foram empregados os seguintes tratamentos: (Figura 1)

(1) pH de exsudato, através do método massal, quatro repetições (25 unidades por repetição) por 30 minutos em meio de embebição;

(2) pH de exsudato, através do método massal, quatro repetições (25 unidades por repetição) por 60 minutos em meio de embebição;

(3) pH de exsudato, através do método massal, quatro repetições (25 unidades por repetição) (25 unidades) por 90 minutos em meio de embebição;

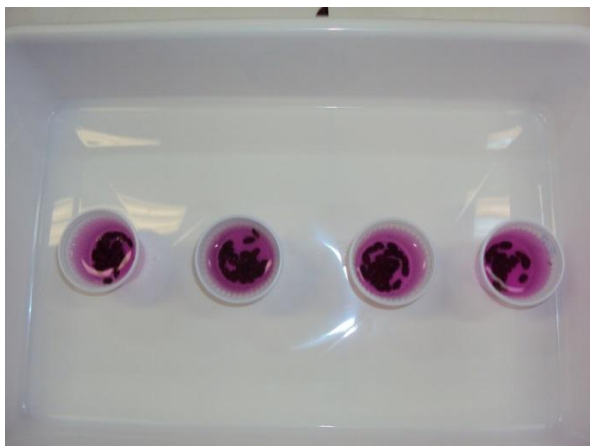


Figura 1: O teste de pH de exsudato pelo método massal para sementes de *Sthryphnodendron adstrigens*

4.3. Teste de Tetrazólio

Após a aplicação dos tratamentos acima, foi realizado o teste de tetrazólio das sementes submetidas ao método massal (todos os tratamentos), as sementes foram embebidas em solução de tetrazólio concentrado a 0,5% por 36 horas, a temperatura constante de 25°C dentro de câmara de germinação tipo BOD.

Utilizou-se quatro repetições de 25 sementes as mesmas repetições usadas no método massal de pH de exsudato, para cada tratamento utilizado no teste de pH de exsudato método massal. As sementes foram colocadas em recipientes cilíndricos sem contato com a luz e embebidas em solução de tetrazólio até serem completamente cobertas de solução. Ao fim do período testado, as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas submersas em água em ambiente refrigerado até serem avaliadas.

A avaliação foi feita de modo individual para cada semente. Estas foram seccionadas com auxílio de um estilete e o embrião foi avaliado com auxílio de uma lupa eletrônica com iluminação própria com aumento de 10 vezes. As sementes foram categorizadas em viáveis, inviáveis ou suspeitas de acordo com as seguintes características. (Figura 2)

- Sementes viáveis, apresentavam coloração rosa suave em todo o embrião.
- Sementes inviáveis, não apresentavam coloração no embrião, ou apresentavam coloração vermelha bem forte o que indica senescência.

- Sementes suspeitas, não apresentavam coloração em parte do embrião, ou apresentavam coloração vermelha bem forte em parte do embrião.



Figura 2; Eixo embrionário de *Sthryphnodendron adstrigens* após teste de tetrazólio

4.4. Análise estatística

Com relação ao experimento foi adotado o esquema fatorial, com dois fatores, a saber, método (massal e individual) e tempo de embebição (30, 60 e 90 minutos), com quatro repetições de 25 sementes, dispostas inteiramente ao acaso.

Os resultados do teste de pH de exsudato serão correlacionados com os resultados dos testes de tetrazólio, pela análise de correlação simples, a 5% pelo teste F.

O programa estatístico para dar suporte às análises que foram realizadas foi o Programa GENES (CRUZ, 2006).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Peso de mil sementes

Para o peso de mil sementes foi gerado a seguinte tabela:

Tabela 1: Peso de mil sementes de *Sthryphnodendron adstrigens*

Peso de mil sementes	
Repetição	Peso (g)
Nº 1	7,6 (g)
Nº 2	7,6 (g)
Nº 3	7,8 (g)
Nº 4	7,9 (g)
Nº 5	7,6 (g)
Nº 6	7,5 (g)
Nº 7	7,4 (g)
Nº 8	7,8 (g)
Média aritmética	7,65 (g)

5.2. pH de Exsudato

Teste de pH de exsudato pelo método individual não apresentou resultados. A possível explicação é que não foi feita escarificação para as sementes antes de se realizar o teste e como esta espécie apresenta um tegumento duro, não houve a lixiviação de solutos para o meio de embebição neste teste, dificultando a identificação de sementes viáveis e inviáveis.

O teste de pH de exsudato para o método massal para o primeiro tratamento (embebição 25 sementes por 30 minutos cada repetição). A 3ª repetição ficou incolor as outras repetições ficaram rosa claro. Na terceira repetição as sementes perderam o vigor e a viabilidade, nas demais repetições houve perda de vigor. (Figura 2)

Para o segundo tratamento (embebição 25 sementes por 60 minutos cada repetição). A 3ª repetição ficou incolor, o que mostra perda de vigor e viabilidade. As demais repetições ficaram rosa claro, o que demonstra perda de vigor das sementes. (Figura 3)

Para o terceiro tratamento (embebição 25 sementes por 60 minutos cada repetição). A primeira repetição foi sem viabilidade, a segunda repetição demonstrou

baixa viabilidade, a terceira repetição apresentou baixo vigor e a quarta repetição foi a melhor de todos os tratamentos. (Figura 4).



Figura 3; pH de exsudato, tratamento 1 (30 min)



Figura 4; pH de exsudato, tratamento 2 (60 min)

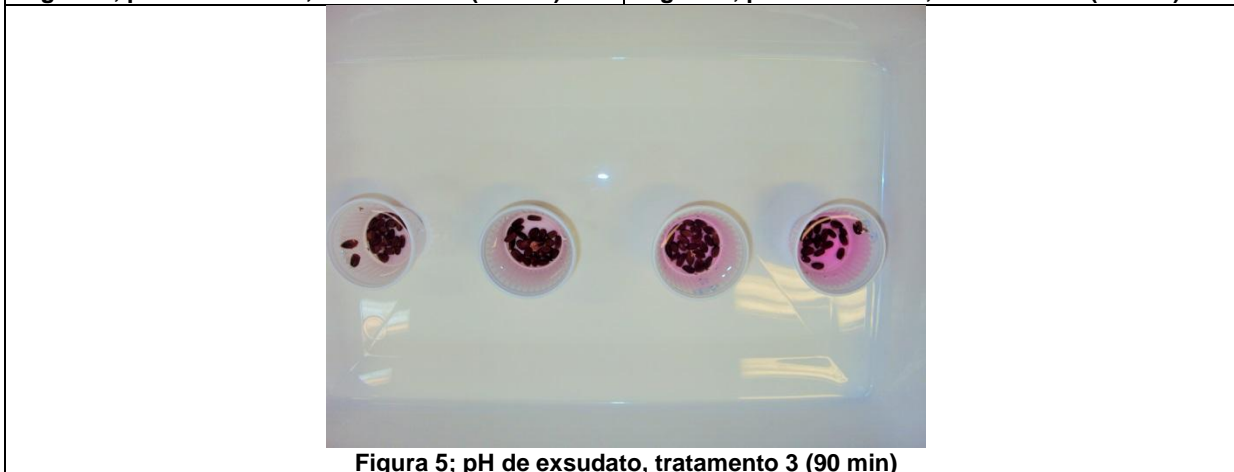


Figura 5; pH de exsudato, tratamento 3 (90 min)

5.3. Teste de Tetrazólio

Para o teste de tetrazólio foram geradas as seguintes tabelas:

Tabela 2: Teste de tetrazólio; Tratamento 1, sementes embebidas por 30 segundos para o teste de pH de exsudato.¹

Viável	Inviável	Suspeita
R1-(13)	R1-(07)	R1-(05)
R2-(09)	R2-(10)	R3-(06)
R3-(01)	R3-(18)	R3-(06)
R4-(07)	R4-(15)	R4-(03)

¹ R-significa repetição acompanhada do número da repetição sendo que há 4 repetições para cada tratamento, o número entre () é número de sementes observadas para cada variável viável, inviável e suspeita.

Tabela 3: Teste de tetrazólio; Tratamento 2, sementes embebidas por 60 segundos para o teste de pH de exsudato.

Viável	Inviável	Suspeita
R1-(11)	R1-(09)	R1-(05)
R2-(11)	R2-(10)	R3-(04)
R3-(05)	R3-(16)	R3-(04)
R4-(10)	R4-(12)	R4-(03)

Tabela 4: Teste de tetrazólio; Tratamento 3, sementes embebidas por 60 segundos para o teste de pH de exsudato.

Viável	Inviável	Suspeita
R1-(05)	R1-(18)	R1-(02)
R2-(10)	R2-(12)	R3-(03)
R3-(13)	R3-(10)	R3-(02)
R4-(04)	R4-(18)	R4-(03)

As sementes submetidas ao teste de tetrazólio para cada tratamento e repetição foram fotografadas sendo que as fileiras à esquerda são de sementes viáveis, as fileiras do meio de sementes inviáveis e as fileiras à direita de sementes suspeitas, como pode se observar nas figuras a seguir:

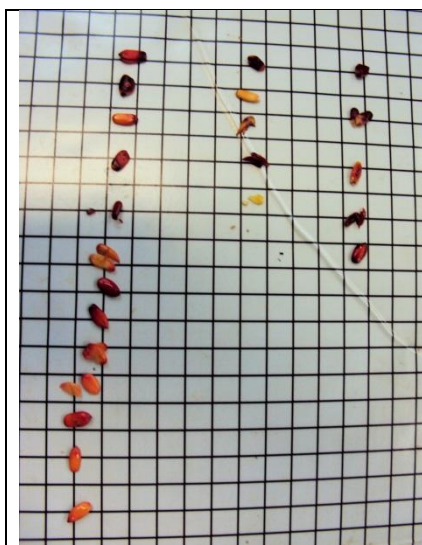


Figura 6: Teste de tetrazólio, tratamento 1 - repetição 2

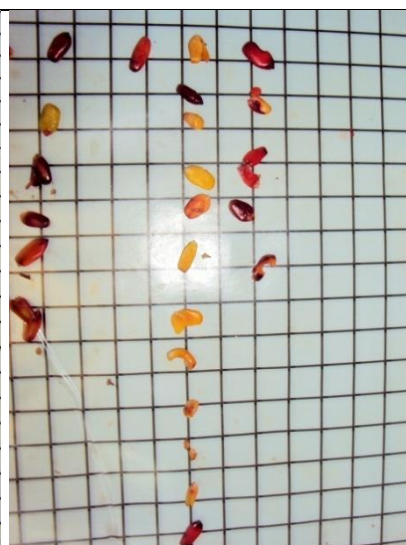


Figura 7: Teste de tetrazólio, tratamento 1 - repetição 3

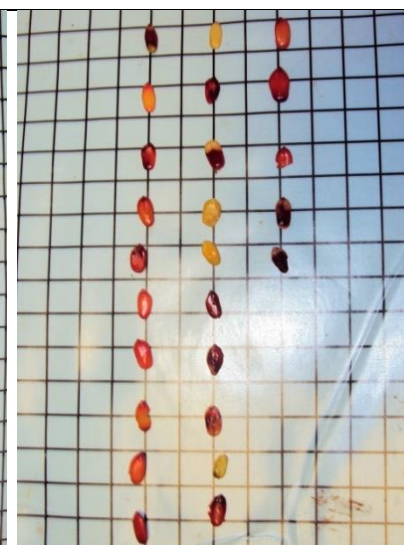


Figura 8: Teste de tetrazólio, tratamento 2 - repetição 1

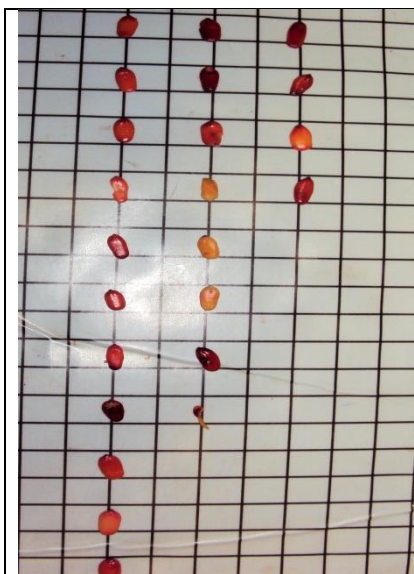


Figura 9: Teste de tetrazólio, tratamento 2 – repetição 2

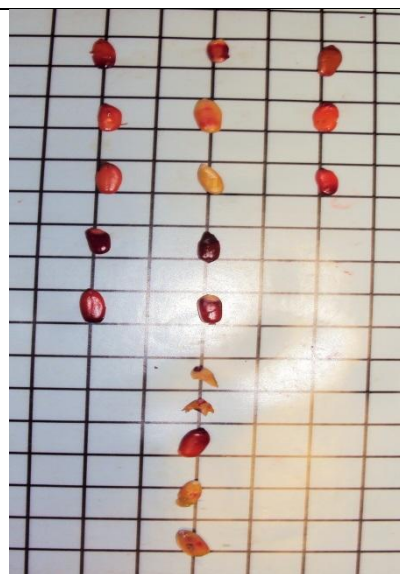


Figura 10: Teste de tetrazólio, tratamento 2 – repetição 3

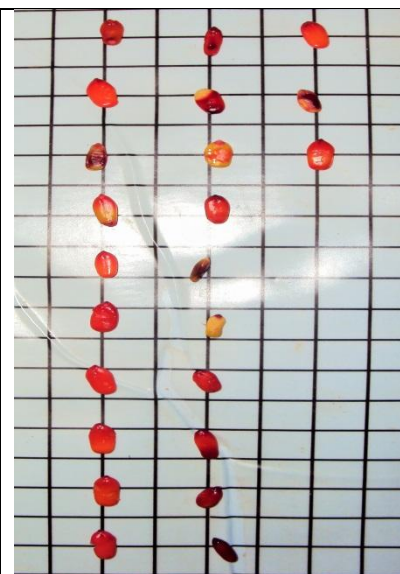


Figura 11: Teste de tetrazólio, tratamento 2 – repetição 4

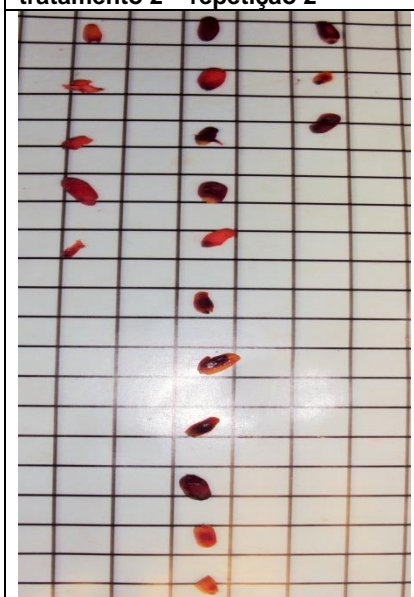


Figura 12; Teste de tetrazólio, tratamento 3 – repetição 1

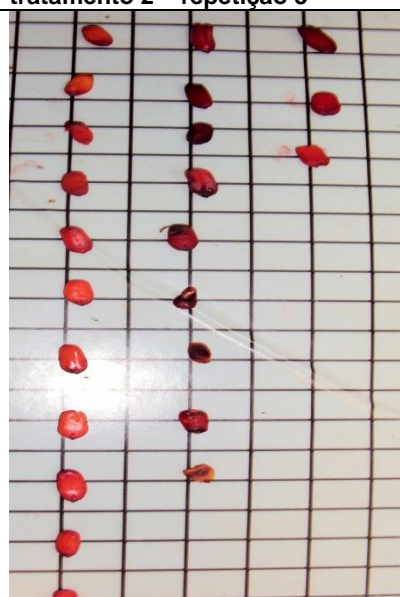


Figura 13; Teste de tetrazólio, tratamento 3 – repetição 2

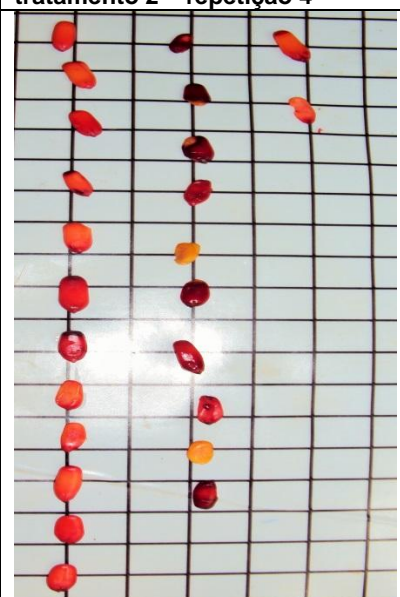


Figura 14; Teste de tetrazólio, tratamento 3 – repetição 3

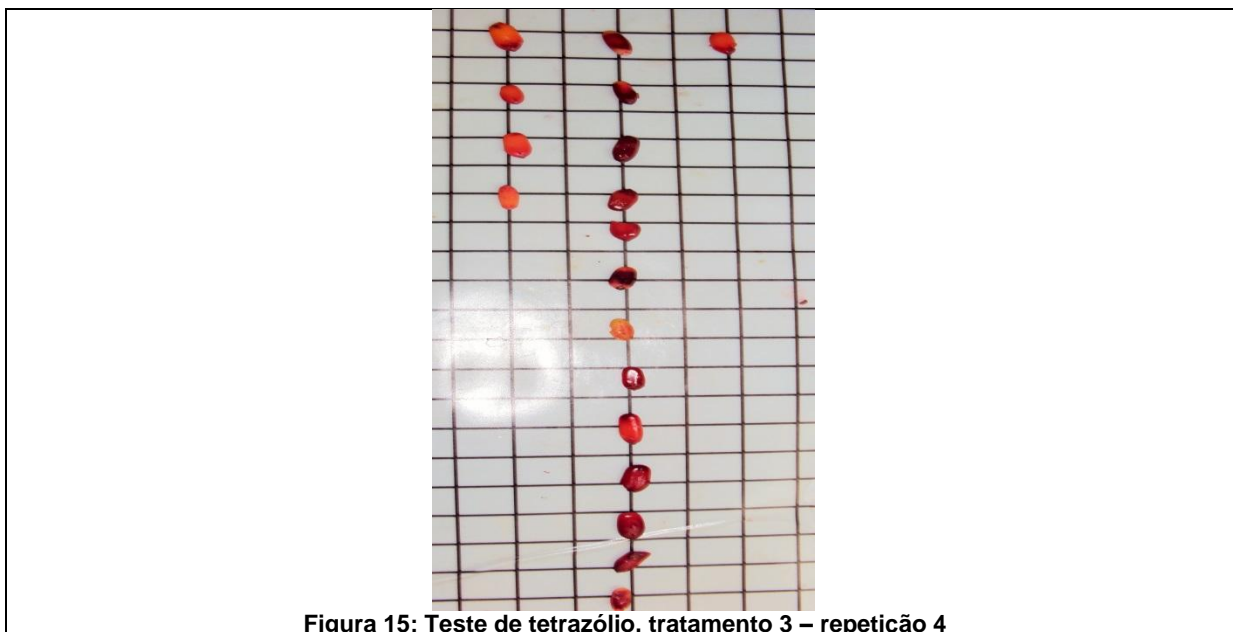


Figura 15; Teste de tetrazólio, tratamento 3 – repetição 4

Com o auxílio do programa GENES (CRUZ, 2006). Os resultados dos testes de pH de exsudato e do teste de tetrazólio foram submetidos às seguintes análises estatísticas.

5.4. Anova

Tabela 5: Análise de variância entre tratamentos, para a variável viável das sementes submetidas ao teste de pH de exsudato e ao teste de tetrazólio.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL => Viav

FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
TRATAMENTOS	2	6.5	3.25	.1902	100.0 ns
RESÍDUO	9	153.75	17.083333		
TOTAL	11	160.25			
MÉDIA geral			8.25		
CV (%)			50.0993808793424		

Segundo a análise de variância não houve diferença significativa entre os tratamentos para a variável, sementes viáveis, não havendo interferência no tempo de embebição ou tratamento para se explicar este comportamento.

Tabela 6: Análise de variância entre tratamentos, para a variável inviável das sementes submetidas ao teste de pH de exsudato e ao teste de tetrazólio.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL => Inv					
FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
TRATAMENTOS	2	16.166667	8.083333	.4763	100.0 ns
RESÍDUO	9	152.75	16.972222		
TOTAL	11	168.916667			
MÉDIA geral			12.9166666666667		
CV (%)			31.8947279853117		

Segundo a análise de variância não houve diferença significativa entre os tratamentos para a variável, sementes inviáveis, o tempo de embebição não influencia estaticamente estes resultados.

Tabela 7: Análise de variância entre tratamentos, para variável suspeita das sementes submetidas ao teste de pH de exsudato e ao teste de tetrazólio.

ANÁLISE DE VARIÂNCIA DA VARIÁVEL => Susp					
FV	GL	SQ	QM	F	Probabilidade(%)
TRATAMENTOS	2	12.666667	6.333333	6.3333	1.918824 *
RESÍDUO	9	9.0	1.0		
TOTAL	11	21.666667			
MÉDIA geral			3.83333333333333		
CV (%)			26.0869565217391		

Houve diferença significativa entre os tratamentos para a variável, sementes suspeitas, ou seja, o tempo de embebição influenciou negativamente esta variável quanto maior o tempo de embebição, menor foram os números de sementes classificadas como suspeitas após a coleta de resultados dos tratamentos.

5.5. Teste de Tukey

Tabela 8: Teste de Tukey

VARIÁVEL : Viav	QMR: 17.08333	q : 4.17	DMS : 8.61772		
2 Trat 2	9.25	a	1	7.5	a
3 Trat 3	8.0	a	2	9.25	a
1 Trat 1	7.5	a	3	8.0	a

VARIÁVEL : Inv	QMR: 16.97222	q : 4.17	DMS : 8.58965		
3 Trat 3	14.5	a	1	12.5	a
1 Trat 1	12.5	a	2	11.75	a
2 Trat 2	11.75	a	3	14.5	a

VARIÁVEL : Susp	QMR: 1.0	q : 4.17	DMS : 2.085		
1 Trat 1	5.0	a	1	5.0	a
2 Trat 2	4.0	ab	2	4.0	ab
3 Trat 3	2.5	b	3	2.5	b

Para o teste de Tukey observa-se que há diferença estatística apenas para a variável suspeita, que difere nos três tratamentos, ou seja, quanto maior o tempo de embebição no tratamento menor foi a média para a variável suspeita.

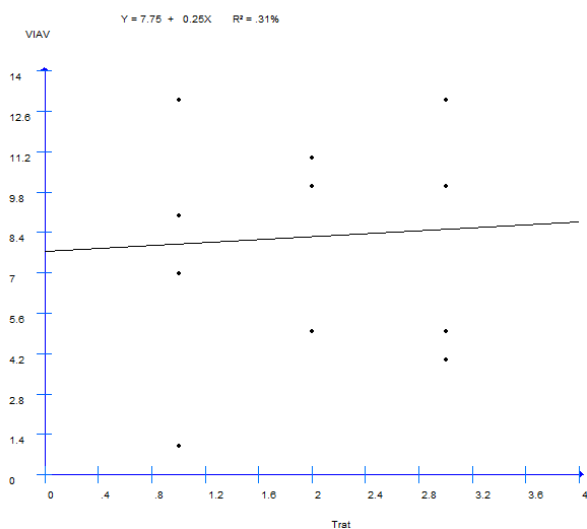


Figura 16: Gráfico de Sementes viáveis x Tempo.

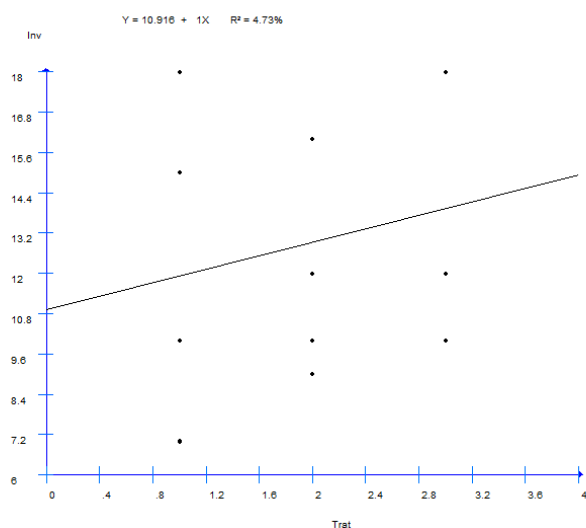


Figura 17: Gráfico de Sementes Inviáveis x Tempo.

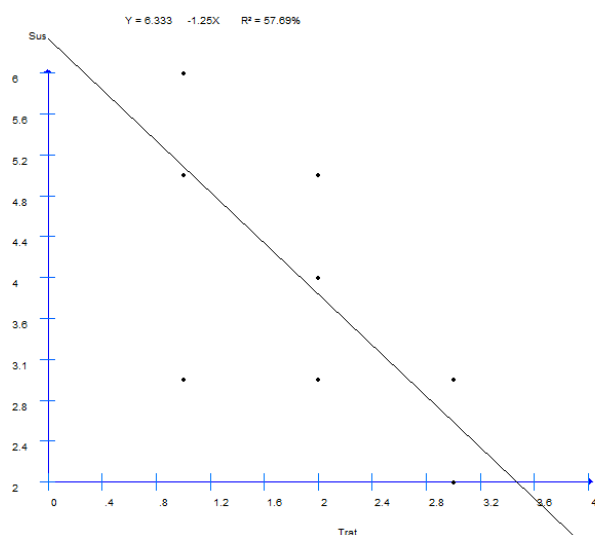


Figura 18: Gráfico de Sementes Suspeitas x Tempo

Para as variáveis viáveis e inviáveis o tempo de tratamento não influenciou estatisticamente o resultado. Para a variável suspeita o tempo de tratamento influenciou negativamente o resultado. A possível causa foi o tempo de embebição, que fez com que o tegumento da semente amolecasse, com isto houve uma perda de lixiviados para o meio de solução aumentando o número de sementes viáveis e inviáveis e diminuindo a variável suspeita.

A integridade do tegumento compromete a identificação e diferenciação de sementes viáveis e inviáveis.

6. CONCLUSÃO

O teste de pH de exsudato pelo método massal demonstrou ser uma maneira eficiente para se determinar o vigor e a viabilidade de um lote de sementes de *Stryphnodendron Adstringens*, desde que as sementes sejam escarificadas antes de serem colocadas em meio de embebição.

O tegumento rígido da semente de *Stryphnodendron adstringens* mascarou alguns resultados do teste de pH de exsudato, pois não permitiu que fossem lixiviados solutos de sementes inviáveis comprometendo a leitura do teste.

O teste de tetrazólio apresentou resultados similares ao teste de pH de exsudato sendo um bom indicativo para validar o teste de pH.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDO, M. R. V. N.; Paula, R. C. de. Temperaturas para a Germinação de Espécies de Capixingui (*Croton floribundus* – Spreng – Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília, v. 28, n. 3. p. 135-140, 2006.

ALMEIDA, N. F. de; MORI, F. A.; GOULART, S. L.; MENDES, L. M.; RIBEIRO, A. O. Rendimentos em taninos das folhas de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens*] em diferentes períodos de coleta visando a produção de adesivo para a madeira.: ENCONTRO BRASILEIRO EM MADEIRA E ESTRUTURAS DE MADEIRA, 11., 2008, Londrina. Anais. Londrina, 2008. p. 5-8.

BORGES-FILHO, H.C.; FELFILI, J.M. Avaliação dos níveis de extrativismo da casca do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] no Distrito Federal, Brasil. *Revista Árvore*, v. 27, n. 5, p. 735-745, 2003. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rarv/v27n5/a16v27n5.pdf>> Acesso 05 de dezembro de 2014.

BRANDÃO, M.; GAVILANES, M.L. Espécies Arbóreas Padronizadoras do Cerrado Mineiro e Sua Distribuição no Estado. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n. 173, p. 5-11, 1992.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CARVALHO, P. E. R. Potencialidades e Restrições da Regeneração Artificial de Espécies Madeireiras Nativas no Paraná. In: CONGRESSO FLORESTAL DO PARANA, 1988, Curitiba. **Anais**. Curitiba: Instituto Florestal do Paraná, 1988. p. 292-331.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039p. (Coleção espécies arbóreas brasileiras, v. 1).

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, Tecnologia e Produção**. 4ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.

CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A.; DAVIDE, A. C. Comportamento no Armazenamento de Sementes Florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 15-25, 2006.

COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. dos. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 066-072, 2010. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n2/v32n2a08>> Acesso em 15 de novembro de 2014.

CRUZ, C. D. **Programa Gênes e Biometria**. Editora UFV. Viçosa – MG. 382p, 2006.

FARIA, R. A. P. G.; SILVA, A. N.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; COELHO, M. F. B. Características Biométricas e Emergência de Plântulas de *Brosimum gaudichaudii* Tréc. oriundas de Diferentes Procedências do Cerrado Mato-grossense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11 n.4, p.414-421, 2009.

FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do Básico ao Aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FRANÇA NETO, J.B. Testes de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 8, p.1-7.

FREITAS, V. L. de O.; VIEGAS, F. P.; LOPES, R. de M. F. Biometria de frutos e sementes, germinação e desenvolvimento inicial de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*), 2014 Floresta, Curitiba, v. 44, n. 1, p. 21-31, jan./mar. 2014. Disponível em < <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/floresta/article/view/32265/22123>> Acesso 16 de novembro de 2014.

GOULART, Selma Lopes et al. Resistência ao Cisalhamento de Painéis Compensados Produzidos com Adesivo à Base de Taninos de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). **Floresta e Ambiente**, v. 19, n. 3, p. 308-315, 2012. Disponível em < <http://www.floram.org/files/v19n3/v19n3a06.pdf>> Acesso 23 de novembro de 2014.

HAMPTON, J.G. Conductivity test. In: Seed Vigour Testing Seminar. Copenhagen: **Proceeding International Seed Testing Association**, Vigour Test Committee, 1995. p.10-28.

KISSMANN, C. et al. Germinação de sementes de *Stryphnodendron* Mart. osmocondicionadas. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p.26-35, 2010. Disponível em < <http://www.scielo.br/pdf/rbs/v32n2/v32n2a03>>. Acesso em 15 de novembro de 2014.

KOOSTRA, P.; HARRINGTON, J. Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. seed. **Proceedings International Seed Testing. Association**, Copenhagen, v34, p329-340, 1973.

LABOURIAU, L.G. A **Germinação das Sementes**. Secretaria Geral da OEA, Washington.1983, 170 p.

LEONHARDT, C. TILLMANN, M.A.A.; VILLELA, F.A.; MATTEI, V.L. Maturação fisiológica de sementes de tarumã-de-espinho (*Citharexylum montevidense* (Spreng.) Moldenke - Verbenaceae), no Jardim Botânico de Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p.100-107, 2001.

LIMA JR., M.J.V; FIGLIOLIA, M.B; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; GENTIL, D.F.O.; SOUZA, M.M.; SILVA, V.S. Análise de sementes. In: LIMA JUNIOR, M. J.V. ed. **Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais**. 146p, UFAM - Manaus-Amazonas, Brasil. 2010.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544p.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil**. 2ª edição. Instituto Plantarum, Nova Odessa. 2008.

MATOS, J. M. M. **Avaliação do Teste de pH de Exsudato na Verificação de Viabilidade de Sementes Florestais**. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília. Brasília, DF.75p.,2009.

MATOS, J. M. M. **Indicadores Bioquímicos Aplicados para Verificação da Qualidade Fisiológica de Sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth**. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília. Brasília, DF, 86 p.2014.

MARTINS, C. C.; CAMARA, A. T. R.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Métodos de superação de dormência de sementes de barbatimão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 3, p. 381-385, 2008. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/asagr/v30n3/a13v30n3.pdf>> Acesso 16 de novembro de 2014.

MEDEIROS, A.C.S.; ABREU, D.C.A. Instruções para Testes de Germinação de Sementes Florestais Nativas da Mata Atlântica. **Comunicado Técnico**, 151, Embrapa Floresta. 1º edição. 5 p. 2005.

MEIRA, M.R.; NOBRE, D. A. C.; Avaliação da qualidade de sementes de barbatimão oriundas de três locais no Norte de Minas Gerais. Rev. de Ciências Agrárias vol.37 no.1 Lisboa mar. 2014. Disponível em <http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?pid=S0871-018X2014000100008&script=sci_arttext> Acesso 15 de novembro de 2014.

OHLWEILER, O. A. Química Analítica Quantitativa. Rio de Janeiro: **Livros Técnicos Científicos**, vol. 2, p 409-420, 1974.

OLIVEIRA, E. de C; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M; FIGLIOLIA, M. B. Proposta para Padronização de Metodologias em Análise de Sementes Florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 11, n. 1, 2, 3, p. 1-42, 1989.

PEREIRA, Vanderley José et al . Eficiência dos tratamentos para a superação ou quebra de dormência de sementes de Fabaceae. **Rev. de Ciências Agrárias**, Lisboa , v. 37, n. 2, jun. 2014 . Disponível em <http://www.scielo.gpeari.mctes.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2014000200009&lng=pt&nrm=iso>. acesso em 05 dez. 2014.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 14 ed. Piracicaba: Degaspari, 2000. 477p.

PIÑA-RODRIGUES et al. Teste de Qualidade. In FERREIRA A. G., BORGHETTI F. **Germinação do Básico ao Aplicado**- p 283-297, 2004

POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.

RIBEIRO, U.P. **Condicionamento Fisiológico de Sementes de Algodão: Efeitos sobre a Germinação, Vigor, Atividade Enzimática e Armazenabilidade**. Dissertação de Mestrado, 79p, Lavras: UFLA, 2000.

ROSA, Caroline da; CAMARA, Sheila Gonçalves; BERIA, Jorge Umberto. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, Jan. 2011. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232011000100033&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em 05 de dezembro de 2014.

SALOMÃO, A. N.; DAVIDE, A. C.; FIRETTI, F.; SOUSA-SILVA, J. C.; CALDAS, L. S.; WETZEL, M. M. V. S.; TORRES, R.A.A.; GONZÁLES, S. **Germinação de Sementes e Produção de Mudanças de Plantas do Cerrado**. Brasília, Rede de Sementes do Cerrado, 2003. 96p.

SILVA JÚNIOR, M.C. **100 Árvores do cerrado**: guia de campo. Brasília: Ed. Rede de sementes do cerrado, 2005. 278p.

SILVA, L. D.; HIGA, A. R. Planejamento e Implantação de Pomares de Sementes de Espécies Florestais Nativas. In: HIGA, A. R.; SILVA, L. D. (Coords). **Pomar de Sementes de Espécies Florestais Nativas**. Curitiba: FUPEF, 2006. p. 13–39.