

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

LAURA CRISTIANE NASCIMENTO DE FREITAS

**QUALIDADE DE SEMENTES DE *Cupania vernalis* (CAMBESS.) PROVENIENTES
DE REMANESCENTES FLORESTAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

LAURA CRISTIANE NASCIMENTO DE FREITAS

**QUALIDADE DE SEMENTES DE *Cupania vernalis* (CAMBESS.) PROVENIENTES
DE REMANESCENTES FLORESTAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientador: Dra. Marlene de Matos Malavasi
Coorientador: Dr. Ubirajara Contro Malavasi
Coorientador: Dr. João Alexandre Lopes Dranski

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

F866q

Freitas, Laura Cristiane Nascimento de
Qualidade de sementes de *Cupania vernalis* (Cambess.) provenientes de remanescentes florestais da região Oeste do Paraná./Laura Cristiane Nascimento de Freitas. Marechal Cândido Rondon, 2016.
56 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marlene de Matos Malavasi
Coorientador: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi
Coorientador: Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Agronomia

1. Sementes - Tamanho. 2. Camboatá. 3. Qualidade física. 4. Potencial germinativo 5. Sementes - Qualidade. I. Matos, Malavasi, Marlene de. II. Malavasi, Ubirajara Contro. III. Dranski, João Alexandre Lopes. IV. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. V. Título.

CDD 20.ed. 634.9562
CIP-NBR 12899

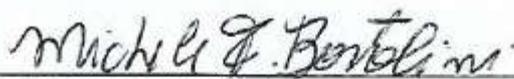
Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9^a/965

LAURA CRISTIANE NASCIMENTO DE FREITAS

**QUALIDADE DE SEMENTES DE *Cupania vernalis* (CAMBESS.) PROVENIENTES
DE REMANESCENTES FLORESTAIS DA REGIÃO OESTE DO PARANÁ**

Dissertação de mestrado apresentada à
Universidade Estadual do Oeste do Paraná,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, para obtenção do
título de Magister Scientiae.

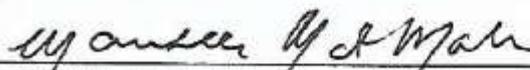
APROVADA em: 22 de agosto de 2016.



Prof.^a Dr.^a Michele Fernanda Bortolini



Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski
(Coorientador)



Prof.^a. Dr.^a. Marlene de Matos Malavasi
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), ao programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA) pela oportunidade de inserção no mestrado e aos docentes do PPGA que compartilharam seus conhecimentos, enriquecendo-me profissionalmente.

À minha orientadora Profa. Dra. Marlene Malavasi, por ter aceito me orientar, por ter contribuído com minha formação técnica e crescimento pessoal e por ter tido paciência e compreensão nos meus momentos de dificuldade. Meus mais sinceros agradecimentos.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Ubirajara Malavasi, por seus ensinamentos ao longo desta jornada e pelas contribuições durante a minha qualificação do mestrado.

Ao meu coorientador João Dranski, por ter compartilhado sua sabedoria, por sua disponibilidade em me ouvir e, principalmente, por instigar meu senso crítico e curiosidade através de seus apontamentos sobre este trabalho, pois não fosse isso essa dissertação não teria sido concluída. Foi uma honra tê-lo como meu coorientador, minha eterna gratidão.

Ao Núcleo de Estações Experimentais, na pessoa do Claudio, por ter me auxiliado na identificação e monitoramento das matrizes e posterior colheita dos frutos.

À Dra. Neusa Michelin pelo auxílio no laboratório, durante as atividades desenvolvidas.

À Profa. Dra. Michele Bortolini, minha orientadora da graduação e responsável por despertar o meu apreço pelas sementes. Não fosse seu incentivo pela pesquisa, não teria vivido esta experiência única, que foi o mestrado. Serei sempre grata.

Aos amigos que fiz no Mestrado, Danielle Cadorin, Pablo Coutinho e Jaqueline Vanelli pelas angústias e alegrias compartilhadas ao longo desta jornada que permitiram encarar com mais leveza esse momento.

Às minhas amigas, Daiana Kaiser, Katia Andrioli e Carla Kosmann, por terem me acolhido no início do mestrado, pela contribuição no desenvolvimento da pesquisa, por terem me ajudado inúmeras vezes e por estarem sempre presentes. Vocês fizeram o mestrado valer a pena, muito obrigada.

Às minhas amigas Micheli Oliveira, Andrieli Grings, Fernanda Cripa e Julia Auth que, mesmo indiretamente, foram essenciais durante esta fase, pelo incentivo e por sempre estarem dispostas a me ouvir falar sobre sementes, agradeço infinitamente.

E por fim, agradeço à minha família, em especial à minha mãe Raquel, meu pai Laurindo, meus irmãos Márcio e Rafael, a minha cunhada Maiara e ao meu amado sobrinho e afilhado Fernando, por, mesmo sem entenderem a complexidade desta fase em minha vida, sempre me apoiaram nesta caminhada, me dirigindo palavras de conforto e otimismo, não permitindo que eu desanimasse diante das dificuldades. Agradeço à Deus pela minha família, pois são a minha base e meu porto seguro. Obrigada por existirem.

RESUMO

FREITAS, Laura Cristiane Nascimento de, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, agosto de 2016. **Qualidade de sementes de *Cupania vernalis* (Cambess.) provenientes de remanescentes florestais da região Oeste do Paraná.** Orientador: Profa. Dra. Marlene de Matos Malavasi. Coorientador: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi e Dr. João Alexandre Lopes Dranski.

O objetivo do estudo foi caracterizar aspectos biométricos e físicos e avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *Cupania vernalis* provenientes de diferentes locais de colheita, em três municípios da região Oeste do Paraná e padronizar o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de *C. vernalis*. Para avaliação da morfometria, foram mensurados o comprimento, largura e espessura das sementes e a análise física das sementes foi realizada através do teor de água, massa de mil sementes e massa de matéria seca. Avaliou-se a qualidade fisiológica pela porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Os dados foram submetidos análise de normalidade de distribuição dos resíduos e homogeneidade das variâncias e posteriormente submetidos ao teste t e ao teste de Mann-Whitney para variáveis não paramétricas, ao nível de 5% de probabilidade de erro. Para a padronização do teste de tetrazólio, após embebição das sementes entre papel por 48 h, foram testados cinco métodos de preparo: sementes intactas; corte na extremidade oposta ao hilo; remoção parcial do tegumento; remoção total do tegumento; e remoção total do tegumento seguido do corte longitudinal. As concentrações do sal testadas foram: 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1% e 0,2%, nos tempos de 2, 4 e 6 h. Quando houve significância pelo teste F, os resultados foram submetidos a análise por superfície de resposta. Em adição, para sementes dos três locais de colheita, foi conduzido um teste de germinação, usando vermiculita como substrato, em câmara B.O. D, a 25 °C e um teste de emergência em tubetes de 120 cm³ de volume, preenchidos com substrato comercial à base de casca de pinus e mantidos em ambiente protegido com 50% de sombreamento. As médias obtidas no teste de germinação e emergência foram comparadas com o teste de tetrazólio pelo teste t e, posteriormente, determinado o coeficiente de Pearson. Entre os locais de colheita, as sementes oriundas do município de Nova Santa Rosa apresentaram o menor conteúdo de água (39,5%). Sementes do município de Marechal Cândido Rondon apresentaram maior massa de mil sementes (235,98g), maior massa de matéria seca (0,120 mg⁻¹) e maiores dimensões morfométricas, com valores médios de 9,66 mm, 6,08 mm e 8,05 mm para o comprimento, largura e espessura, respectivamente. Não houve diferença

significativa entre a %G e IVG, com germinação média de 73% e índice de velocidade de geminação de 0,72. O TMG foi menor nas sementes provenientes do município de Nova Santa Rosa, levando 22 dias para estabilização da germinação. As variações morfométricas, físicas e fisiológicas evidenciadas neste estudo podem ser atribuídas as condições climáticas distintas vigentes em cada local de colheita. Os resultados obtidos no teste de germinação e emergência, quando comparados com o teste de tetrazólio, resultaram na ausência de significância, com correlação positiva significativa de 0,96. Assim, recomenda-se embebição por 48 h, remoção total do tegumento e corte longitudinal da semente, a concentração de 0,05% do sal por 2 h, para avaliação de sementes de *C. vernalis* pelo teste de tetrazólio.

Palavras-chave: Tamanho das sementes. Camboatá. Qualidade física. Potencial germinativo. Qualidade de sementes.

ABSTRACT

FREITAS, Laura Cristiane Nascimento de, M. S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, august – 2016. **Quality *Cupania vernalis* seeds (Cambess.) from remaining forests of western Paraná.** Advisor: Profa. Dra. Marlene de Matos Malavasi. Co-Advisors: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi e Dr. João Alexandre Lopes Dranski.

The aim of the study was to characterize biometric and physical aspects and evaluate the physiological quality of seeds *Cupania vernalis* from different local harvest in three municipalities in western Paraná and standardize the tetrazolium test to assess the viability of seeds of *C. vernalis*. To evaluate the morphometry were measured the length, width and thickness of seeds and physical seed analysis was performed using the water content, mass of thousand seeds and dry matter. We evaluated the physiological quality by the germination percentage (% G), speed index (IVG) and mean germination time (TMG). Data were normal distribution analysis of waste and homogeneity of variances and later submitted to t test and Mann-Whitney test for nonparametric variables, the level of 5% error probability. To standardize the tetrazolium test, after soaking the seeds between paper for 48 h were tested five methods of preparation: intact seeds; cut at the opposite end to the heel end; partial removal of the integument; total removal of the integument; and total removal of the seed coat followed by slitting. The salt concentrations tested were 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1% and 0,2% for times of 2, 4 and 6 h. When there was significant by F test, the results were subjected to analysis by response surface. In addition to seed the three places of harvest, a germination test was conducted using vermiculite as substrate chamber B.O. D at 25 ° C and an emergency test tubes of 120 cm³ volume, filled with commercial substrate with pine bark base and maintained in a protected environment with 50% shading. The averages obtained in the germination and emergence testing were compared with the tetrazolium test by the t-test and subsequently determined the Pearson coefficient. Among the local harvest, the seeds from the municipality of Nova Santa Rosa presented the lowest water content (39,5%). Seeds of the municipality of Rondon had higher mass of thousand seeds (235,98g), higher dry matter (0,120 mg-1) and larger morphometric dimensions, with average values of 9,66 mm, 6,08 mm and 8,05 mm for the length, width and thickness, respectively. There was no significant difference between % G and IVG, with average germination of 73% and 0,72 Twinning speed index. TMG was lower in seeds from the municipality of Nova Santa Rosa, taking 22 days to stabilize the germination. Morphometric, physical and physiological changes evidenced in this study can be attributed to

the different climatic conditions prevailing in each harvesting site. The results obtained in the germination and emergence test, when compared with the tetrazolium test resulted in no significance, with a significant positive correlation of 0,96. Thus, it is recommended soaking for 48 h, complete removal of the seed coat and longitudinal seed, the concentration of 0,05% salt for 2 hours to evaluate *C. vernalis* seeds by tetrazolium.

Keywords: Seed size. Camboatá. Physical quality. Germination potential. Seed quality.

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO GERAL.....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPÍTULO 1 – QUALIDADE DE SEMENTES DE <i>Cupania vernalis</i> (CAMBESS.) ORIUNDAS DE DIFERENTES LOCAIS NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ.....	20
1 INTRODUÇÃO.....	22
2 MATERIAL E MÉTODOS	24
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4 CONCLUSÃO.....	32
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
CAPÍTULO 2 - TESTE DE TETRAZÓLIO NA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE <i>Cupania vernalis</i> (CAMBESS.)	37
1 INTRODUÇÃO.....	39
2 MATERIAL E MÉTODOS	41
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4 CONCLUSÃO.....	51
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
CONSIDERAÇÕES GERAIS	55

INTRODUÇÃO GERAL

A intensa atividade humana sobre as florestas primárias resultou na alteração da paisagem original, levando ao aparecimento de extensas áreas de ecossistemas degradados (AMARAL et al., 2013). A produção de mudas é umas das técnicas utilizadas para a promoção da conservação da biodiversidade. Dessa forma, o estabelecimento de metodologias e estratégias, visando a produção de mudas de qualidade é de fundamental importância para modificar este cenário (CUNHA et al., 2005; PIÑA-RODRIGUES e AOKI, 2014).

Entre as famílias pertencentes à flora brasileira destaca-se a família Sapindaceae, abrangendo cerca de 24 gêneros e 400 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). No Brasil, esta família está representada em diversas fitofisionomias, sobretudo na Floresta Estacional Semidecidual (FES). No estado do Paraná, a FES ocorre nas regiões Norte, Noroeste e Oeste (ROSADO; SOUZA; FERRUCCI, 2014). Esta fitofisionomia é composta por árvores de grande a pequeno porte e destaca-se por apresentar dupla estacionalidade climática: uma tropical, com períodos de alta pluviosidade, seguida de estiagem e outra subtropical sem períodos secos pronunciados, mas com seca fisiológica devido as baixas temperaturas registradas no inverno (IBGE, 2012).

Dentre as espécies pertencentes a família Sapindaceae, que ocorrem nestas fitofisionomias, a espécie *Cupania vernalis* (Cambess.) conhecida popularmente como camboatá, possui relevância ecológica, evidenciada pelo seu valor de importância (6% a 8%), que ratifica o seu potencial para programas de reflorestamento com fins conservacionistas (HACK et al., 2005; SCIPIONI et al., 2012). Destaca-se também a importância econômica da madeira e o seu emprego no paisagismo e na arborização de ruas (LORENZI, 2002; CAMPOS FILHO; SARTORELLI, 2015).

C. vernalis possui hábito arbóreo podendo atingir de 10 a 22 m de altura e diâmetro do tronco entre 50-70 cm. Suas folhas são compostas, pinadas e alternas, com 10 a 18 folíolos de 6 a 15 cm de comprimento e bordos serrado-dentados. As flores são pequenas, podendo medir até 8 mm de comprimento, são odoríferas, alvo-esverdeadas, também róseo-claro. O fruto é uma cápsula deiscente, que se abre em três valvas, medindo de 1 a 2 cm de diâmetro. Cada fruto pode conter de 1 a 3 sementes. As sementes possuem formato obovóide e medem de 8 a 12 mm de comprimento. Na maturidade fisiológica, as sementes são negra-lustrosas, possuindo a testa luzidia e encoberta, na maior parte ou até metade, por um arilo carnoso, de coloração alaranjada.

Floresce entre os meses de fevereiro a julho e a frutificação ocorre de agosto a dezembro, no Paraná. A dispersão de frutos e sementes é zoocórica, predominantemente ornitocórica (LORENZI, 2002; CARVALHO, 2006).

Para garantir o sucesso na restauração de ecossistemas degradados, posteriormente a coleta, extração e beneficiamento, as sementes devem ser submetidas a etapa do controle de qualidade em laboratório, com a finalidade de determinar o valor das sementes de uma matriz.

Dentre as análises mais frequentes estão a determinação do teor de água, a avaliação da qualidade física (massa de mil sementes) e a caracterização morfométrica (LIMA et al., 2014). Neste contexto, devido às características edafoclimáticas de cada região e a autoecologia das espécies, estudos que abordam a qualidade de sementes provenientes de diferentes locais assumem grande importância.

Estudos relacionados à qualidade de sementes envolvendo lotes de várias origens colaboram com a ampliação da produção de mudas de espécies florestais, auxiliando na seleção do melhor local de colheita, na construção de bancos de germoplasma e no fornecimento de informações adicionais para pesquisas futuras (MEIRA; NOBRE, 2014).

As características das sementes, como tamanho dos frutos, número de sementes por fruto e tamanho das sementes, podem sofrer alterações e variar entre plantas da mesma espécie, de ano para ano e dentro da própria planta. Estas variações podem ocorrer devido à variabilidade genética e as influências de fatores bióticos e abióticos do meio onde elas se desenvolvem (PIÑA-RODRIGUES; AGUIAR, 1993; BOTEZELLI; DAVIDE, MALAVASI, 2000; CRUZ; CARVALHO, 2003).

Além da influência da origem das sementes nas características físicas e na biometria das sementes, esta variável parece também desempenhar influência na germinação e emergência das plântulas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012). Desta forma, estudos relacionados à análise de sementes também têm merecido atenção no meio científico, visando à obtenção de informações que permitam avaliar a qualidade fisiológica das sementes (FELIPPI et al., 2012).

Determinar a qualidade do lote de sementes, seu valor para a semeadura e armazenabilidade têm sido apontados como as principais finalidades da análise de sementes. Assim, é de fundamental importância a padronização, aperfeiçoamento e estabelecimento dos métodos de análise de sementes florestais, pois a falta de padrões estabelecidos pode interferir na fiscalização do comércio e na normatização da produção (BRUNING; LÚCIO, MUNIZ,

2011), dificultando a elaboração de manuais de controle de qualidade de sementes de espécies florestais (WIELEWICKI et al., 2006).

A qualidade fisiológica das sementes é comumente avaliada através do teste de germinação, conduzido sob condições favoráveis, possibilitando a expressão máxima da capacidade germinativa de determinado lote. Conjuntamente com o teste de germinação, testes de vigor também são realizados no intuito de identificar lotes de sementes com maior ou menor desempenho em campo ou durante o armazenamento (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA NETO, 1999).

Entretanto, a obtenção de resultados pelo teste de germinação pode demandar um período longo de condução (COSTA; SANTOS, 2010). Assim, é importante a utilização de técnicas que determinem de forma rápida a qualidade fisiológica das sementes, especialmente em espécies que apresentam sementes com comportamento recalcitrante (OLIVEIRA et al., 2014) e vida curta no armazenamento.

A espécie *C. vernalis* apresenta processo germinativo lento e desuniforme, sendo recomendada a contagem final de plântulas normais no teste de germinação após 30 dias da sementeira (BRASIL, 2013). Além disso, as sementes desta espécie apresentam intolerância à dessecação (VIEIRA et al., 2008) e curta longevidade (permanecendo viáveis por um período de até seis meses) (CARVALHO et al., 2006), tornando necessário a utilização de métodos rápidos e eficientes para a avaliação da qualidade fisiológica destas sementes.

O teste de tetrazólio pode ser considerado um método promissor para avaliar a viabilidade das sementes em função da rapidez na obtenção dos resultados (SILVA et al., 2016). O fundamento biológico do teste é pautado na atividade respiratória das sementes. A reação se processa nas mitocôndrias, quando o sal de tetrazólio (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio) é reduzido pela ação de enzimas desidrogenases, resultando na formação de um composto vermelho denominado trifenilformazam (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998).

Estudos desenvolvidos por Oliveira, Nicoletti e Gomesi (2010) e Lemes et al. (2012) já reportaram a metodologia para aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *C. vernalis*. Contudo, estas recomendações são inespecíficas e insuficientes para sua replicabilidade na avaliação da viabilidade das sementes desta espécie.

Este trabalho baseou-se na hipótese de que a colheita de sementes de *C. vernalis* produzidas em diferentes localidades resulta na obtenção de sementes com qualidades distintas,

devido às características da matriz e do ambiente de produção. A otimização do uso das sementes poderá ser alcançada através de métodos precisos de avaliação da qualidade fisiológica, como o teste de tetrazólio.

Diante disso, os objetivos deste trabalho foram (1) caracterizar aspectos biométricos e físicos e avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *C. vernalis* provenientes de diferentes locais de colheita, em três municípios da região Oeste do Paraná e (2) padronizar o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de *C. vernalis* em um curto espaço de tempo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, W. G.; PEREIRA, I. M.; MACHADO, E. L. M.; OLIVEIRA, P. A.; DIAS, L. G.; MUCIDA, D. P. Relação das espécies colonizadoras com as características do substrato em áreas degradadas na Serra do Espinhaço Meridional. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 1, p. 1696-1707, 2013.
- BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A.C; MALAVASI, M.M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (baru). **Revista Cerne**, v.6, n.1, p.009-018, 2000.
- BRUNING, F. O.; LÚCIO, A. D.; MUNIZ, M. F. B. Padrões para germinação, pureza, umidade e peso de mil sementes em análises de sementes de espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul. **Revista Ciência Florestal**, v. 21, n. 2, p. 193-202, 2011.
- CAMPOS FILHO, E. M.; SARTORELLI, P. A. R. **Guia de árvores com valor econômico**. São Paulo : Agroicone, 2015. “Iniciativa INPUT.”
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: Ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. – Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2006.
- COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 66-72, 2010.
- CRUZ, E. D.; CARVALHO, J. E. U. Biometria de frutos e sementes e germinação de curupixá (*Micropholis* cf. *venulosa* Mart. & Eichler – Sapotaceae). **Acta Amazônica**, v.33, n.3, p.389-398, 2003.
- CUNHA, A. O.; ANDRADE, L. A.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, J. A. L. S.; SOUZA, V. C. Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex Dc.) Standl. **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 507-516, 2005.
- FELIPPI, M.; MAFFRA, C. R. B.; CANTARELLI, E. B.; ARAÚJO, M. M.; LONGHI, S. J. Fenologia, morfologia e análise de sementes de *Apuleia leiocarpa* (Vogel) J. F. Macbr. **Revista Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 477-491, 2012.
- FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina; EMBRAPA-CNPSO, 1998, 72p. (Documentos, 116).
- HACK, C.; LONGHI, S. J.; BOLIGON, A. A.; MURARI, A. B.; PAULESKI, D. T. Análise fitossociológica de um fragmento de floresta estacional decidual no município de Jaguari, RS. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1083-1091, 2005.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. 2012. **Manual técnico da vegetação brasileira**. 2. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 271 p.

KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

LEMES, E. Q.; LOPES, J. C.; NOGUEIRA, N. O.; SILVA, L. F.; GOMES JÚNIOR, D.; PEREIRA, D. S. Qualidade fisiológica de *Cupania vernalis* Cambess. sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n. 3, p. 144-153, 2012.

LIMA, C. R.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, K. R. G.; PACHECO, M. V.; ALVES, E. U. Qualidade fisiológica de sementes de diferentes árvores matrizes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 2, p. 370-378, 2014.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MEIRA, M. R.; NOBRE, D. A. C. Avaliação da qualidade de sementes de barbatimão oriundas de três locais no Norte de Minas Gerais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 50-58, 2014.

OLIVEIRA, L. M.; GOMES, J. P.; SOUZA, G. K.; NICOLETTI, M. F.; LIZ, T. O.; PIKART, T. G. Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 468-474, 2014.

OLIVEIRA, L. M.; NICOLETTI, M. F.; GOMES, J. P. Qualidade de sementes de *Cupania vernalis* (Sapindaceae). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.9, n.2, p. 195-197, 2010.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; AGUIAR, I. B. Maturação e dispersão de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PIÑA-RODRIGUES, I. B.; FIGLIOLIA, M. B. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.215-274.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; AOKI, J. Chuva de sementes como indicadora do estágio de conservação de fragmentos florestais em Sorocaba-SP. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 911-923, 2014.

ROSADO, A.; SOUZA, M. C.; FERRUCCI, M. S. Lista de espécies de Sapindaceae para um remanescente de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil: Estação Ecológica do Caiuá. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n. 3, p. 148-157, 2014.

SCIPIONI, M. C.; LONGHI, S. J.; BRANDELERO, C.; PEDRON, F. A.; REINERT, D. J. Análise fitossociológica de um fragmento de floresta estacional em uma catena de solos no morro do Cerrito, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 457-466, 2012.

SILVA, A. B.; NOGUEIRA, J. L.; VIEIRA, E. S. N.; PANOBIANCO, M. Critérios para condução do teste de tetrazólio em sementes de araucária. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 1, p. 61-68, 2016.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Plantarum, 2005. 640p.

WIELEWICKI, A. P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWIN, G.; MEDEIROS, A. C. S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

CAPÍTULO 1 – QUALIDADE DE SEMENTES DE *Cupania vernalis* (CAMBESS.) ORIUNDAS DE DIFERENTES LOCAIS NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ

RESUMO – O objetivo do estudo foi caracterizar aspectos biométricos e físicos e avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *Cupania vernalis* provenientes de diferentes locais de colheita na região Oeste do Paraná. Sementes de *C. vernalis* foram colhidas nos municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena. Para cada local de colheita, foi realizada a caracterização física das sementes através do teor de água, massa de mil sementes e massa de matéria seca. Para determinar as características morfométricas foram mensurados o comprimento, largura e espessura das sementes. A qualidade fisiológica foi avaliada através da porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade (IVG) e tempo médio de germinação (TMG). Os dados foram submetidos análise de normalidade de distribuição dos resíduos e homogeneidade das variâncias e posteriormente submetidos ao teste t e ao teste de Mann-Whitney para variáveis não paramétricas, ao nível de 5% de probabilidade de erro. O município de Nova Santa Rosa apresentou o menor conteúdo de água (39,5%) comparado aos demais locais de colheita. Sementes oriundas do município de Marechal Cândido Rondon apresentaram a maior massa de mil sementes (235,98g), maior massa de matéria seca (0,120 mg⁻¹) e maiores dimensões biométricas, com valores médios de 9,66 mm, 6,08 mm e 8,05 mm para o comprimento, largura e espessura, respectivamente. Não houve diferença significativa para a %G e IVG, com germinação média de 73% e índice de velocidade de germinação de 0,72. O TMG foi menor nas sementes provenientes do município de Nova Santa Rosa, levando 22 dias para estabilização da germinação. As características biométricas, físicas e fisiológicas foram distintas para cada lote, representando cada um dos locais de colheita estudados.

Palavras-chave: Camboatá, morfometria, qualidade física, elementos do clima.

QUALITY SEEDS CUPANIA VERNALIS (CAMBESS.) ORIGINATED FROM DIFFERENT SITES AT THE REGION WEST PARANÁ

ABSTRACT - The objective of the study was to characterize biometric and physical aspects and evaluate the physiological quality of seeds *Cupania vernalis* from different collection sites in western Paraná. *C. vernalis* seeds were collected in the municipalities of Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon and Santa Helena. For each sampling point, the physical characterization of the seeds through the water content was carried out mass of a thousand seeds and dry matter. To determine the morphometric characteristics were measured length, width and thickness of the seeds. The physiological quality was evaluated by germination percentage (% G), speed index (GSI) and mean germination time (GMT). Data were normal distribution analysis of waste and homogeneity of variances and later submitted to t test and Mann-Whitney test for nonparametric variables, the level of 5% error probability. The municipality of Nova Santa Rosa presented the lowest water content (39.5%) compared to other collection sites. Seeds from the city of Marechal Cândido Rondon had the highest mass of thousand seeds (235,98g), higher dry matter (0.120 mg-1) and the largest biometric dimensions, with average values of 9.66 mm, 6.08 mm and 8.05 mm for the length, width and thickness, respectively. There was no significant difference to the % G and IVG, with average germination of 73% and 0.72 Twinning speed index. TMG was lower in seeds from the municipality of Nova Santa Rosa, taking 22 days to stabilize the germination. The biometric, physical and physiological characteristics were distinct for each batch, representing each of the studied harvest sites.

Keywords: seed size, camboatá, physical quality, climate conditions.

1 INTRODUÇÃO

Cupania vernalis (Cambess.) conhecida popularmente como camboatá é uma espécie arbórea nativa, pertencente à família Sapindaceae. A espécie ocorre em diversas fitofisionomias do Brasil, sendo comumente encontrada na Floresta Ombrófila Mista e na Estacional Semidecidual no estado do Paraná (CORDEIRO; RODERJAN; CURCIO, 2013; ROSADO; SOUZA; FERRUCCI, 2014).

Os frutos do camboatá são do tipo cápsulas loculicidas, onde se dá a deiscência para a dispersão das sementes. O fruto possui até três sementes de formato obovóide, podendo medir de 8 a 12 mm de comprimento. As sementes, na maturidade fisiológica, possuem coloração negras-lustrosas, testa luzidia e envolvida na base por um arilo alaranjado e carnosos (LORENZI, 2002; SOUZA; LORENZI, 2012).

A espécie possui relevância ecológica, evidenciada pelo seu valor de importância (6% a 8% na Floresta Estacional Semidecidual), que ratifica o seu potencial para programas de reflorestamento com fins conservacionistas (HACK et al., 2005; SCIPIONI et al., 2012). Destaca-se também a importância econômica da madeira e o seu emprego no paisagismo e na arborização de ruas (LORENZI, 2002; CAMPOS FILHO; SARTORELLI, 2015).

O sucesso dos projetos de restauração de ecossistemas degradados é dependente, dentre outros fatores, da utilização de um número elevado de espécies regionais e da escolha correta destas espécies. Entretanto, esta ação advém de conhecimentos ecológicos e botânicos, do tamanho da amostragem da população e da procedência das matrizes, constituindo ponto de partida para a produção de mudas com qualidade e para o avanço do setor de tecnologia de sementes (MORI, 2003; CORREIA; PINHEIRO; LIMA, 2005; CUNHA et al., 2005; FELIPPI; LONGHI; ARAÚJO, 2014).

Estudos relacionados à qualidade de sementes envolvendo lotes de várias origens colaboram com a ampliação da produção de mudas de espécies florestais, auxiliando na seleção do melhor local de colheita, na construção de bancos de germoplasma e no fornecimento de informações adicionais para pesquisas futuras (MEIRA; NOBRE, 2014).

Em função da ampla distribuição geográfica, as espécies florestais ficam sujeitas as variações edafoclimáticas em escalas espaciais e temporais (WIELEWICKI et al., 2006), o que resulta em uma ampla variabilidade genética e fenotípica dos caracteres morfofisiológicos das sementes, influenciando diretamente o comportamento ecológico dos indivíduos.

O conhecimento acerca de aspectos biológicos de sementes oriundas de diferentes regiões pode fornecer importantes informações quanto à influência do ambiente sobre as características das sementes (LAMARCA; BARBEDO, 2015). Lemes, Lopes e Matheus (2011), caracterizaram a morfologia dos frutos, sementes e plântulas de *C. vernalis*, provenientes da região do município de Alegre, Espírito Santo. Entretanto, ainda são escassas informações acerca das características biométricas, físicas e fisiológicas das sementes desta espécie na região Oeste do Paraná.

Este trabalho baseou-se na hipótese de que a colheita de sementes de *C. vernalis* produzidas em diferentes localidades resulta na obtenção de sementes com qualidades distintas, devido às características da matriz e do ambiente de produção.

Assim sendo, o objetivo deste estudo foi caracterizar aspectos biométricos e físicos e avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *C. vernalis* provenientes de diferentes locais de colheita, estes situados em remanescentes florestais da Floresta Estacional Semidecidual nos municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, na região Oeste do Paraná.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de *C. vernalis* foram colhidos de três árvores adultas, distanciadas entre si, em fragmentos florestais da Floresta Estacional Semidecidual no Oeste do Paraná, nos municípios de Nova Santa Rosa (24°27'60" S, 53°57'16" O e altitude de 393 m), Marechal Cândido Rondon (24°34'47" S, 54°04'03" O e altitude de 324 m) e Santa Helena (24°59'50" S, 54°11'29" O e altitude de 361 m).

Os frutos provenientes dos municípios de Marechal Cândido Rondon e Santa Helena foram colhidos em outubro de 2014 e os frutos oriundos do município de Nova Santa Rosa foram colhidos em novembro do mesmo ano. A colheita foi realizada quando se iniciou a abertura espontânea dos frutos (LORENZI, 2002), com auxílio de podão.

Os dados climáticos vigentes em cada local de colheita constam na Figura 1. A partir da obtenção dos dados de umidade relativa e temperatura do ar, calculou-se o déficit de pressão de vapor (DPV) segundo metodologia proposta por Landsberg e Sands (2011).

Após a colheita, os frutos permaneceram em condições de laboratório sobre bancada até a completa deiscência, cerca de sete dias. O arilo que envolve as sementes foi retirado manualmente. Após o beneficiamento das sementes, foram determinados o teor de água, a massa de mil sementes e mensurada a morfometria. Conjuntamente foi instalado o teste de germinação quantificando-se simultaneamente o vigor por testes de velocidade de germinação.

O teor de água foi obtido pelo método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 h de acordo com Brasil (2009), com quatro repetições de 25 sementes cada. Conjuntamente, foi obtida a massa de matéria seca das sementes.

A massa de mil sementes foi quantificada através da pesagem de oito subamostras de 100 sementes, em balança analítica com sensibilidade de 0,001 g (BRASIL, 2009).

A morfometria das sementes foi determinada através de mensurações de comprimento (da região da micrópila à extremidade oposta), largura (região mediana da semente) e a espessura da porção mediana. As avaliações do tamanho foram realizadas com auxílio de paquímetro digital (0,01 mm) em quatro repetições de 25 sementes para cada lote.

O teste de germinação foi realizado com oito repetições de 25 sementes semeadas em bandejas entre vermiculita umedecida com água destilada até a capacidade de campo. O teste foi conduzido em câmara de germinação tipo B.O.D., a 30 °C com fotoperíodo de 12 h (VIEIRA et al., 2008). As avaliações de porcentagem de germinação foram realizadas a cada dois dias

até a estabilização, utilizando como parâmetro de germinação a formação de plântulas normais (emissão do hipocótilo a ± 5 mm do substrato) como descrito por Vieira et al. (2008).

Conjuntamente com o teste de germinação foi determinado o índice de velocidade de germinação (IVG) conforme Maguire (1962) (Equação 1) e o tempo médio de germinação (TMG), proposto por Laboriau (1983) (Equação 2).

(Equação 1)

$$IVG = \sum (ni / ti)$$

(Equação 2)

$$TMG = (\sum niti) / \sum ni$$

Em que: ni = número de sementes que germinaram no tempo 'i'; ti = tempo após instalação do teste; $i = 1 \rightarrow 46$ dias.

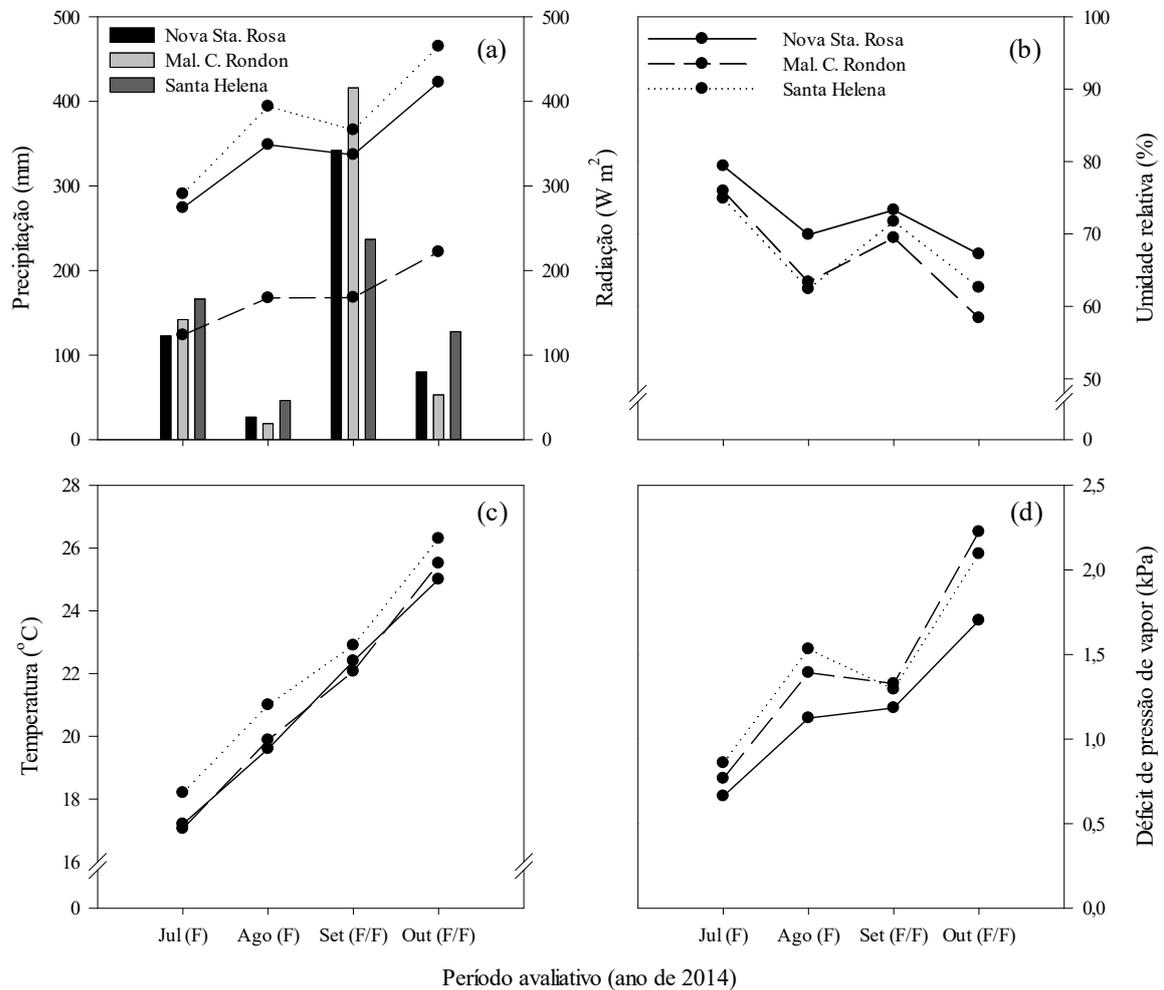


Figura 1. Precipitação acumulada e radiação solar média (a), média de umidade relativa do ar (b), média de temperatura (c) e média de déficit de pressão de vapor (DPV) (d) durante o período de florescimento (F) e frutificação (F) de *C. vernalis* nos municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, PR. Fonte: SIMEPAR (2015). Os dados climáticos utilizados para Nova Santa Rosa foram obtidos da estação meteorológica mais próxima do local de colheita das sementes (≈ 32 km).

Os dados foram submetidos a análise de normalidade de distribuição dos erros pelo teste Lilliefors e homogeneidade das variâncias por Bartlett, posteriormente os dados foram submetidos ao teste t e ao teste de Mann-Whitney para variáveis não paramétricas, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A abertura espontânea dos frutos foi verificada em meados de outubro de 2014, nos municípios de Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, período em que houve maior déficit de pressão de vapor e um aumento na temperatura em ambos os locais (Figura 1). Estas condições climáticas podem ter favorecido a deiscência dos frutos nestes locais de colheita.

Para o município de Nova Santa Rosa a abertura espontânea dos frutos ocorreu no início de novembro, onde verificou-se menor déficit de pressão de vapor de água, maior umidade relativa do ar e a uma temperatura mais baixa, quando comparadas aos demais locais de colheita. As condições climáticas distintas podem justificar a assincronia da abertura espontânea dos frutos entre os locais de colheita.

Indicadores de maturidade fisiológica que tem como base características morfológicas das sementes, podem sofrer alterações em resposta às oscilações climáticas no final do processo de maturação (MARCOS FILHO, 2015). Em sementes de *Eugenia pyriformis* Camb., Lamarca et al. (2013b) verificaram que as variações ambientais influenciaram o período de formação dos frutos, a maturação e o momento de dispersão das sementes.

As sementes provenientes do município de Nova Santa Rosa possuíram um teor de água significativamente menor (39,5%) comparado aos demais locais de colheita (41,9% e 43,6% para os municípios de Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, respectivamente) (Tabela 1).

Tabela 1. Teor de água, morfometria, massa de mil e massa seca de sementes de *C. vernalis* provenientes dos municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, Paraná.

Locais de coleta	Teor de água (%)	Morfometria (mm)			Massa de mil sementes (g)	MS (mg ⁻¹)
		Comprimento	Largura	Espessura		
Nova Santa Rosa	39,5b ¹	8,29b [*]	5,82b [*]	6,80c [*]	187,40 b [*]	0,107b ¹
Marechal Cândido Rondon	41,9a	9,57a	6,07a	8,05a	235,98 a	0,120a
Santa Helena	43,6a	8,23b	5,79b	7,30b	173,08 c	0,114b

* Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste t, a 5% de probabilidade de erro.

¹ Medianas seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade de erro.

Houve diferença significativa ($P < 0,05$) na morfometria das sementes entre os locais de colheita, onde as maiores dimensões foram verificadas em sementes oriundas do município de

Marechal Cândido Rondon, com valores médios de 9,66 mm, 6,08 mm e 8,05 mm para o comprimento, largura e espessura, respectivamente (Tabela 1).

A plasticidade fenotípica é a capacidade de um organismo em alterar a sua fisiologia e morfologia decorrente da sua interação com o ambiente (BRADSHAW, 1965; SCHLICHTING, 1986; STEARNS, 1989; SCHEINER, 1993). Sendo assim, o tamanho da semente, considerado uma característica plástica, pode sofrer alterações dependendo das condições ambientais que estão sujeitas durante o período de maturação (FENNER; THOMPSON, 2005).

Elementos do clima, como a precipitação pluvial, podem estar atuando na expansão das sementes e, conseqüentemente, na obtenção de maiores valores morfométricos. Pois a água apresenta papel crucial no início do desenvolvimento das sementes, atuando na expansão e divisão celular por meio da pressão de turgescência (BARBEDO; MARCOS FILHO, 1998).

As variações na temperatura também podem proporcionar características distintas no tamanho das sementes, pois a temperatura desempenha papel importante no metabolismo. Com o aumento da temperatura, maior atividade enzimática é notada e, conseqüentemente, ocorre o enfraquecimento da parede celular, favorecendo a pressão de turgescência e ampliando o tamanho das células (WELBAUM; BRADFORD, 1990).

Variações no tamanho das sementes oriundas de diferentes locais de coleta e entre estádios de maturação também foram verificadas por Lamarca et al. (2013b) em sementes de *Eugenia pyriformis* Camb. Estes autores atribuem as alterações no tamanho das sementes às condições climáticas distintas vigentes em cada local.

Sementes oriundas dos municípios de Nova Santa Rosa e Santa Helena apresentaram diferença significativa apenas para a espessura (Tabela 2). De acordo com Marcos Filho (2015), a espessura das sementes sofre um aumento progressivo durante as fases do desenvolvimento das sementes, a partir do aumento da transferência de reservas.

Contudo, mesmo apresentando maiores valores de espessura, sementes oriundas do município de Santa Helena apresentaram valores inferiores de massa de mil, quando comparadas com as sementes de Nova Santa Rosa. De acordo com Favarin et al. (2003), o tamanho da semente não garante, necessariamente, uma maior quantidade de reservas.

Nota-se que o teor de água das sementes de *C. vernalis* provenientes do município de Santa Helena foi superior ao das sementes oriundas do município de Nova Santa Rosa. Possivelmente, a pressão de turgescência, exercida pelo acúmulo de água durante o

desenvolvimento das sementes, resultou em maiores dimensões destas sementes, evidenciadas pelos maiores valores de espessura, já que a absorção de água pelas células vegetais acarreta em maior incremento no volume vacuolar das células (TAIZ; ZEIGER, 2013).

De acordo com Marcos Filho (2015), a interação de fatores como temperaturas elevadas e períodos com baixos índices pluviiais durante a maturação, reduzem a translocação dos fotoassimilados para as sementes, corroborando com os resultados encontrados em sementes de *C. vernalis* oriundas do município de Santa Helena.

Com relação a massa de mil e massa seca de sementes, houve diferença significativa entre os locais de colheita (Tabela 1). Sementes provenientes de Marechal Cândido Rondon apresentaram os maiores valores de massa de mil e massa seca de sementes (235,98g e 0,120 mg⁻¹, respectivamente) quando comparadas com as sementes oriundas de Nova Santa Rosa (187,40g e 0,107 mg⁻¹) e Santa Helena (173,08 g e 0,114 mg⁻¹).

Uma característica climática que pode influenciar o maior acúmulo de reservas nas sementes é a radiação solar. A baixa incidência de luz durante a formação de sementes, poderia induzir as espécies a produzir sementes de maior tamanho, com tendência ao armazenamento de maiores quantidades de carbono. Isso levaria a uma adaptação ao sombreamento, compensando a reduzida assimilação de carbono durante o desenvolvimento inicial das plântulas (MALAVASI; MALAVASI, 2001).

Outra característica imprescindível durante o acúmulo de matéria seca nas sementes é a disponibilidade de água, pois durante a transferência de reservas da planta para a semente, o teor de água deve ser elevado para poder permitir a movimentação dos fotoassimilados e minerais (BARBEDO; MARCOS FILHO, 1998; MARCOS FILHO, 2015).

Não houve diferença significativa entre os diferentes locais de coleta para as variáveis porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação. Enquanto que para o tempo médio de germinação houve diferença significativa entre os locais (Tabela 2).

Apesar de ser esperado que sementes maiores apresentem desempenho superior com relação a qualidade fisiológica, em face da maior quantidade de reservas acumuladas (MARCOS FILHO, 2015), isso não foi observado neste estudo, uma vez que as sementes oriundas de Marechal Cândido Rondon que apresentaram maior conteúdo de massa, exibiram qualidade inferior às sementes do município de Nova Santa Rosa, demorando mais tempo para germinar.

Tabela 2. Porcentagem de germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG) e tempo médio de germinação (TMG) de sementes de *C. vernalis* provenientes de diferentes locais de coleta, nos municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, Paraná.

Locais de coleta	G (%)	IVG -	TMG Dias
Nova Santa Rosa	70 a ¹	0,86 a ¹	22 b*
Marechal Cândido Rondon	72 a	0,64 a	31 a
Santa Helena	76 a	0,65 a	32 a

* Médias seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste t, a 5% de probabilidade de erro.

¹ Medianas seguidas por letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney, a 5% de probabilidade de erro.

Sementes oriundas do município de Nova Santa Rosa, que apresentaram menor espessura das sementes, demonstraram melhor qualidade fisiológica, evidenciado pelo menor tempo médio de germinação. Krzyzanowski, Vieira e França Neto (1999) reportaram que as sementes menores são as primeiras a germinarem, devido ao fato de necessitarem de menor conteúdo de água para iniciarem os processos metabólicos, garantindo vantagens quanto ao estabelecimento de mudas no campo (MARCOS FILHO, 2015).

As características físicas da semente não são fatores determinantes para prever a sua qualidade fisiológica, pois a capacidade germinativa de sementes florestais não está condicionada apenas ao tamanho da semente, mas também as características ambientais em que se encontram (MALAVASI; MALAVASI, 2001; HANLEY et al., 2007; FARIA et al., 2009).

Estudos demonstram que a ocorrência de diferenças nas características fisiológicas em sementes de uma mesma espécie podem ser atribuídas ao grau de maturidade ou a qualidade inicial das sementes. Estes fatores são condicionados pelas condições climáticas, particularmente a precipitação pluvial e a temperatura do ar, durante a formação das sementes (DAWS et al., 2004, 2006; MARTINS et al., 2008, 2009; LAMARCA; VENDRAME; BARBEDO, 2011, LAMARCA et al., 2013a, 2013b).

As condições climáticas, particularmente a disponibilidade hídrica e as temperaturas elevadas, durante as etapas do desenvolvimento das sementes, podem acelerar a maturação e resultar na produção de sementes de baixo vigor (FRANÇA NETO et al., 1993; MARCOS FILHO, 2015). Assim, as condições climáticas verificadas no município de Nova Santa Rosa, possivelmente foram mais favoráveis à qualidade das sementes, apresentando menor tempo médio de germinação.

Neste estudo, o tempo médio de germinação variou de 22 a 32 dias entre os locais avaliados. Lemes, Lopes e Matheus (2011) também verificaram diferenças no tempo médio de germinação de *C. vernalis* quando avaliaram diferentes substratos, reportando variação de 32 a 42 dias. Estes resultados corroboram com as especificações estabelecidas pelas Instruções para Análise de Sementes Florestais, onde é indicada a contagem final da germinação após 30 dias da instalação do teste (BRASIL, 2013).

4 CONCLUSÃO

As características biométricas, físicas e fisiológicas foram distintas para cada lote, representando cada um dos locais de colheita estudados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBEDO, C. J.; MARCOS FILHO, J. Tolerância à dessecação em sementes. **Acta Botanica Brasilica**, v. 12, n. 2, p. 145-164, 1998.

BRADSHAW, A.D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *In: Advances in genetics*. Academic Press, New York. p.115-155, 1965.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 365p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análises de sementes de espécies florestais**. Brasília: SDA/CGAL, 2013. 97p.

CAMPOS FILHO, E. M.; SARTORELLI, P. A. R. **Guia de árvores com valor econômico**. São Paulo : Agroicone, 2015. “Iniciativa INPUT.”

CORDEIRO, J.; RODERJAN, C. V.; CURCIO, G. R. Espécies lenhosas de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista na região Centro-Sul e análise florística entre áreas florestais no Paraná. **Ambiência**, v. 9, n.3, p. 563 – 588, 2013.

CORREIA, M. C. R.; PINHEIRO, M. C. B.; LIMA, H. A. de. Produção de frutos e germinação de sementes de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae) – Um registro de poliembrionia. **Sitientibus Série Ciências Biológicas**, v. 5, n. 2, p. 68-71, 2005.

CUNHA, A. O.; ANDRADE, L. A.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, J. A. L. S.; SOUZA, V. C. Efeitos de substratos e das dimensões dos recipientes na qualidade das mudas de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex Dc.) Standl. **Revista Árvore**, v. 29, n. 4, p. 507-516, 2005.

DAWS, M. I.; CLELAND, H.; CHMIELARZ, P.; GORIANC, F.; LEPRINCE, O.; MULLINS, C. E.; THANOS, C. A.; VANDVIK, V.; PRITCHARD, H. W. Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplatanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance? **Functional Plant Biology**, v. 33, p. 59–66, 2006.

DAWS, M. I.; LYDALL, E.; CHMIELARZ, P.; LEPRINCE, O.; MATTHEWS, S.; THANOS, C. A.; PRITCHARD, H. W. Developmental heat sum influences recalcitrant seed traits in *Aesculus hippocastanum* across Europe. **New Phytologist**, v. 162, p. 157-166, 2004.

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.

FAVARIN, J. L.; COSTA, J. D.; NOVEMBRE, A. D. C.; FAZUOLI, L. C.; FAVARIN, M. G. G. V. Características da semente em relação ao seu potencial fisiológico e a qualidade de mudas de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira Sementes**, v. 25, n. 2, p. 2-11, 2003.

- FELIPPI, M.; LONGHI, S. J.; ARAÚJO, M. M. *Holocalyx balansae*: aspectos fenológicos, morfológicos e germinação de sementes. **Revista Floresta**, v. 44, n. 4, p. 677 - 686, 2014.
- FENNER, M.; THOMPSON, K. **The ecology of seeds**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. 250p.
- FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; WEST, S. H.; MIRANDA, L. C. Soybean seed quality as affected by shriveling due to heat and drought stresses during seed filling. **Seed Science and Technology**, v.21, n.1, p.107-116, 1993.
- HACK, C.; LONGHI, S. J.; BOLIGON, A. A.; MURARI, A. B.; PAULESKI, D. T. Análise fitossociológica de um fragmento de floresta estacional decidual no município de Jaguari, RS. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1083-1091, 2005.
- HANLEY, M. E.; CORDIER, P. K.; MAY, O.; KELLY, C. K. Seed size and seedling growth: differential response of Australian and British Fabaceae to nutrient limitation. **New Phytologist**, v.174, n.2, p.381-388, 2007.
- KAISER, D. K.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C.; DRANSKI, J. A. L.; FREITAS, L. C. N.; KOSMANN, C. R. ANDRIOLI, K. K. Physiological maturity of seeds and colorimetry of the fruits of *Allophylus edulis* [(A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. ex Niederl.]. **Journal of Seed Science**, v. 38, n. 2 p. 092-100, 2016.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.
- LABORIAU, L.G. **A germinação das sementes**. Washington, Organização dos Estados Americanos, 1983. 174p.
- LAMARCA, E. V.; BARBEDO, C. J. Sensibilidade à dessecação de embriões de *Inga vera* Willd. formados sob diferentes condições ambientais. **Revista Árvore**, v. 39, n. 6, p. 1083-1092, 2015.
- LAMARCA, E. V.; BONJOVONI, M. R.; FARIA, J. M. R.; BARBEDO, C. J. Germinação em temperatura sub-ótima de embriões de *Inga vera* subsp. *affinis* obtidos sob diferentes condições ambientais. **Rodriguésia**, v. 64, n. 4, p. 877-885, 2013a.
- LAMARCA, E. V.; PRATAVIERA, J. S.; BORGES, I. F.; DELGADO, L. F.; TEIXEIRA, C. C.; CAMARGO, M. B. P.; FARIA, J. M. R.; BARBEDO, C. J. Maturation of *Eugenia pyriformis* seeds under different hydric and thermal conditions. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 1, p. 223-233, 2013b.
- LAMARCA, E. V.; VENDRAME E SILVA, C.; BARBEDO, C. J. Limites térmicos para a germinação em função da origem de sementes de espécies de *Eugenia* (Myrtaceae) nativas do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 2, p. 293-300, 2011.
- LANDSBERG, J.J.; SANDS, P. **Physiological ecology of forest production**: principles, processes and models. New York: Academic Press, 2011. 352 p.

LEMES, E. Q.; LOPES, J. C.; MATHEUS, M. T. Germinação e caracterização morfológica de sementes de *Cupania vernalis* Cambess. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v.18, n.1, p. 71-82, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MALAVASI, U. C.; MALAVASI, M. M. Influência do tamanho e do peso da semente na germinação e no estabelecimento de espécies de diferentes estágios da sucessão vegetal. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 8, n.1, p.211 - 215, 2001.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 560p.

MARTINS, C. C.; BELISARIO, L.; TOMAZ, C. A.; ZUCARELI, C. Condições climáticas, características do fruto e sistema de colheita na qualidade fisiológica de sementes de jacarandá. **Revista Árvore**, v.32, n.4, p.627-632, 2008.

MARTINS, C.C.; BOVI, M.L.A.; NAKAGAWA, J.; MACHADO, C.G. Secagem e armazenamento de sementes de juçara. **Revista Árvore**, v.33, n.4, 635-642, 2009.

MEIRA, M. R.; NOBRE, D. A. C. Avaliação da qualidade de sementes de barbatimão oriundas de três locais no Norte de Minas Gerais. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 37, n. 4, p. 50-58, 2014.

MORI, E. S. Genética de populações arbóreas: orientações básicas para seleção e marcação de matrizes. **IF Série Registros**, n. 5. p. 35-44, ago. 2003.

ROSADO, A.; SOUZA, M. C.; FERRUCCI, M. S. Lista de espécies de Sapindaceae para um remanescente de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil: Estação Ecológica do Caiuá. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n. 3, p. 148-157, 2014.

SCHEINER, S.M. 1993. Genetics and evolution of phenotypic plasticity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 24, p. 35-68, 1993.

SCHLICHTING, C. D. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 17, p. 667-693, 1986.

SCIPIONI, M. C.; LONGHI, S. J.; BRANDELERO, C.; PEDRON, F. A.; REINERT, D. J. Análise fitossociológica de um fragmento de floresta estacional em uma catena de solos no morro do Cerrito, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 457-466, 2012.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3. ed. – Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.

STEARNS, S. C. The evolutionary significance of phenotypic plasticity. **BioScience**, v. 39, n. 7, p. 436-445, 1989.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. – Porto Alegre: Artmed, 2013.

VIEIRA, C. V.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; NERY, F. C.; SANTOS, M. O. Germinação e armazenamento de sementes de camboatã (*Cupania vernalis* Cambess.) Sapindaceae. **Revista Ciência Agrotecnológica**, v. 32, n.2, p. 444-449, 2008.

WELBAUM, G.E.; TISSAOUI, T.; BRADFORD, K.J. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.). III. Sensitivity of germination to water potential and abscisic acid during development. **Plant Physiology**, v. 92, p. 1029–1037, 1990.

WIELEWICKI, A. P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWWIN, G.; MEDEIROS, A. C. S. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.191-197, 2006.

CAPÍTULO 2 - TESTE DE TETRAZÓLIO NA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Cupania vernalis* (CAMBESS.)

RESUMO - O trabalho objetivou padronizar o teste de tetrazólio (TZ) para sementes de *C. vernalis*, provenientes dos municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, na região oeste do Paraná. Após embebição das sementes entre papel por 48 h, foram testados cinco métodos de preparo: (1) sementes intactas; (2) corte na extremidade oposta ao hilo; (3) remoção parcial do tegumento; (4) remoção total do tegumento; e (5) remoção total do tegumento seguido do corte longitudinal. As concentrações do sal testadas foram: 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1% e 0,2%, nos tempos de 2, 4 e 6 h. Quando da significância pelo teste F, os resultados foram submetidos a análise por superfície de resposta. Foi conduzido um teste de germinação (TG) e emergência em casa de vegetação (TE) para sementes dos três locais. As médias obtidas no TG e TE foram comparadas com o TZ pelo teste t e calculado o coeficiente de Pearson. O método de preparo definido como remoção total do tegumento seguido do corte longitudinal, promoveu a melhor coloração das sementes. Recomenda-se embebição por 48 h, remoção total do tegumento e corte longitudinal da semente, a concentração de 0,05% do sal por 2 h, para avaliação de sementes de *C. vernalis* pelo teste de tetrazólio.

Palavras-chave: Camboatá, potencial germinativo, qualidade de sementes.

Tetrazolium test in assessing the viability of seed of *Cupania vernalis* (Cambess.)

ABSTRACT- The study aimed to standardize the tetrazolium test (TZ) for seed of *C. vernalis* from three sites in western Paraná. After soaking the seeds between paper for 48h, were tested five methods of preparation: (1) intact seeds; (2) cut at the opposite end to hilum; (3) partial removal of the seed coat; (4) total removal of the seed coat; and (5) total removal of the seed coat followed by slitting. The concentrations of salt tested were: 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1% e 0,2%, in times of 2, 4 e 6 h. When significance of the F test, the results were subjected to analysis by response surface. It was a germination test conducted (TG) for seeds of three locations and average values between the TG and TZ were compared by t test calculated the coefficient of Pearson. The preparation method (5) provide better coloring of the seeds. Low concentrations of the salt and lower incubation period, provided coloration pink carmine clear in the seeds. It is recommended soaking for 48 hours, total removal of the seed coat and longitudinal slitting of seed, the concentration of 0,05% the salt by 2 h, for evaluation of seed *C. vernalis* by the tetrazolium test.

Index terms: Camboatá, germination potential, seed quality.

1 INTRODUÇÃO

Cupania vernalis (Cambess.) é uma espécie arbórea, conhecida popularmente como camboatá, pertencente à família Sapindaceae. Esta espécie ocorre em diversas fitofisionomias do Brasil, sendo comumente encontrada na Floresta Ombrófila Mista e na Estacional Semidecidual no estado do Paraná (CORDEIRO; RODERJAN; CURCIO, 2013; ROSADO; SOUZA; FERRUCCI, 2014).

A importância ecológica desta espécie, nestas formações florestais, demonstrada a partir do seu valor de importância (6% a 8%), evidencia o seu potencial para programas de reflorestamento com fins conservacionistas (HACK et al., 2005; SCIPIONI et al., 2012). Além disso, destaca-se o potencial econômico da madeira e também seu emprego no paisagismo e na arborização de ruas (LORENZI, 2002; CAMPOS FILHO; SARTORELLI, 2015).

O teste de germinação serve como suporte para todas as outras análises (Sena et al., 2010). Entretanto, a obtenção dos resultados da qualidade fisiológica de sementes pode requerer um período longo de condução (COSTA; SANTOS, 2010), a exemplo da espécie *C. vernalis*. Estas sementes possuem processo germinativo lento e desuniforme, com contagem final de plântulas normais após 30 dias da sementeira no teste de germinação (BRASIL, 2013).

Além disso, a espécie apresenta intolerância à dessecação (VIEIRA et al., 2008) e vida curta no armazenamento, não ultrapassando seis meses (CARVALHO, 2006). Estas características ressaltam a importância de métodos rápidos e eficientes na avaliação da qualidade fisiológica destas sementes.

Entre os métodos utilizados rápidos de avaliação da viabilidade das sementes, destaca-se o teste de tetrazólio. A estimativa da viabilidade de sementes com germinação lenta, recalcitrantes (OLIVEIRA et al., 2014) ou dormentes, pode ser realizada com precisão através do teste de tetrazólio padronizado.

O teste de tetrazólio tem como base a atividade respiratória das sementes, a nível celular. A reação ocorre quando o sal de tetrazólio (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio) é reduzido pela ação das enzimas desidrogenases, resultando no composto vermelho conhecido como trifetilformazam. Em tecidos necrosados e mortos não há coloração devido a desnaturação e degradação destas enzimas oxidativas (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; COSTA, 1998).

A padronização do teste de tetrazólio é de fundamental importância, pois a concentração do sal, a temperatura e o período em que as sementes permanecerão incubadas na solução, além

das condições de preparo ideais e a correta avaliação das estruturas embrionárias das sementes, são fatores que influenciam o tempo de obtenção de resultados e a avaliação correta da intensidade da coloração (CALOY et al., 2013; FOGAÇA, 2015).

Estudos desenvolvidos por Oliveira, Nicoletti e Gomesi (2010) e Lemes et al. (2012) já reportaram a metodologia para aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *C. vernalis*. Contudo, estas recomendações são inespecíficas e insuficientes para sua replicabilidade na avaliação da viabilidade das sementes desta espécie.

Diante do exposto, o presente estudo objetivou padronizar o teste de tetrazólio, visando a visualização das estruturas vitais do embrião e a intensidade da coloração (através de figuras e/ou fotos), estabelecendo parâmetros para determinar a viabilidade de sementes de *C. vernalis* com maior rapidez, precisão e confiabilidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de *C. vernalis* foram colhidos de três árvores, provenientes de fragmentos florestais da Floresta Estacional Semidecidual. As colheitas foram efetuadas nos municípios de Nova Santa Rosa (24°27'60"S, 53°57'16"O e altitude de 393 m), Marechal Cândido Rondon (24°34'47"S, 54°04'03"O e altitude de 324 m) e Santa Helena (24°59'50"S, 54°11'29"O e altitude de 361 m).

A colheita foi realizada manualmente no início da abertura espontânea dos frutos (LORENZI, 2002). As sementes provenientes dos municípios de Marechal Cândido Rondon e Santa Helena foram colhidas em outubro de 2014 e as sementes provenientes do município de Nova Santa Rosa foram colhidas em novembro de 2014. Em condições de laboratório, após a deiscência completa dos frutos sobre bancada, as sementes foram retiradas manualmente, acondicionadas em sacos de papel do tipo *kraft* e mantidas sob condições de laboratório por um período de aproximadamente 60 dias (Marechal Cândido Rondon e Santa Helena) e, de aproximadamente 30 dias (Nova Santa Rosa), até a instalação dos ensaios.

A caracterização inicial dos lotes de sementes foi realizada através do teor de água, determinado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C por 24 h, utilizando quatro repetições de 25 sementes (BRASIL, 2009).

As sementes pertencentes ao município de Nova Santa Rosa foram utilizadas para a padronização do teste de tetrazólio. Inicialmente, as sementes intactas foram submetidas ao pré-condicionamento, onde foram embebidas entre papel de germinação, previamente umedecido com água destilada com volume de 2,5 vezes a massa do papel e colocado dentro de sacos plásticos, por 48 h a 30 °C, em câmara de germinação (tipo B.O.D.).

Decorrido o período de embebição, duas repetições de 25 sementes foram submetidas a cinco métodos de preparo, que estão descritos e ilustrados de acordo com a Figura 1. Sendo: 1 - sementes intactas (Figura 1A); 2 - corte através do tegumento na extremidade oposta ao hilo (Figura 1B); 3 - remoção parcial do tegumento (removendo aproximadamente 1/3 do tegumento) (Figura 1C); 4 - remoção total do tegumento (Figura 1D); 5 - remoção total do tegumento, seguido do corte longitudinal da semente (Figura 1E). Em seguida, as sementes foram imersas em solução de 0,5% de tetrazólio por 24 h a 40 °C (OLIVEIRA; NICOLETTI; GOMESI, 2010) e no escuro, para confirmação topográfica da reação de coloração.

Para a avaliação do melhor método de preparo para sementes de camboatá, foi utilizado uma lupa de mesa com lâmpada fluorescente de seis aumentos (6x). As sementes foram seccionadas longitudinalmente através do centro do eixo embrionário, com o auxílio de lâmina.

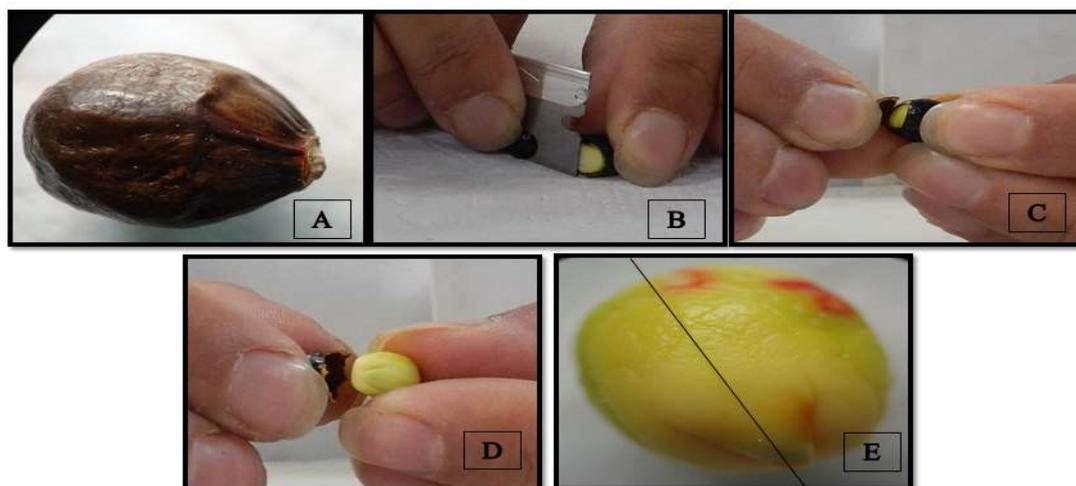


Figura 1. Métodos de preparo das sementes de *Cupania vernalis*: sementes intactas (A); corte através do tegumento na extremidade oposta ao hilo (B); remoção parcial do tegumento (removendo aproximadamente 1/3 do tegumento) (C); remoção total do tegumento (D); remoção total do tegumento, seguido do corte longitudinal da semente (E).

Foi realizada a comparação visual entre os métodos utilizados, a fim de determinar aquele que proporcionasse a coloração na região vital do embrião. Definido o método de preparo, foram determinadas a concentração e o período de tempo de reação do sal de tetrazólio. Quatro repetições de 25 sementes do local 1 foram submetidas a cinco concentrações: 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1% e 0,2% e três períodos de imersão na solução (2, 4 e 6 h), a 40 °C.

A avaliação da coloração foi realizada com auxílio de uma lupa de mesa com lâmpada fluorescente de seis aumentos (6x), onde cada semente foi analisada individualmente e classificada em viáveis e não viáveis. Os critérios utilizados foram: intensidade e uniformidade da coloração obtida nos tecidos do embrião e na presença e localização de possíveis danos. Estas análises foram feitas a partir do estudo das partes essenciais do embrião e sua relação com as estruturas vitais envolvidas durante o processo de germinação (Figura 2). O resultado foi expresso em porcentagem de viabilidade (BRASIL, 2009). Após a metodologia do teste de tetrazólio ser testada e padronizada, esta foi aplicada para os três lotes em quatro repetições de 25 sementes.

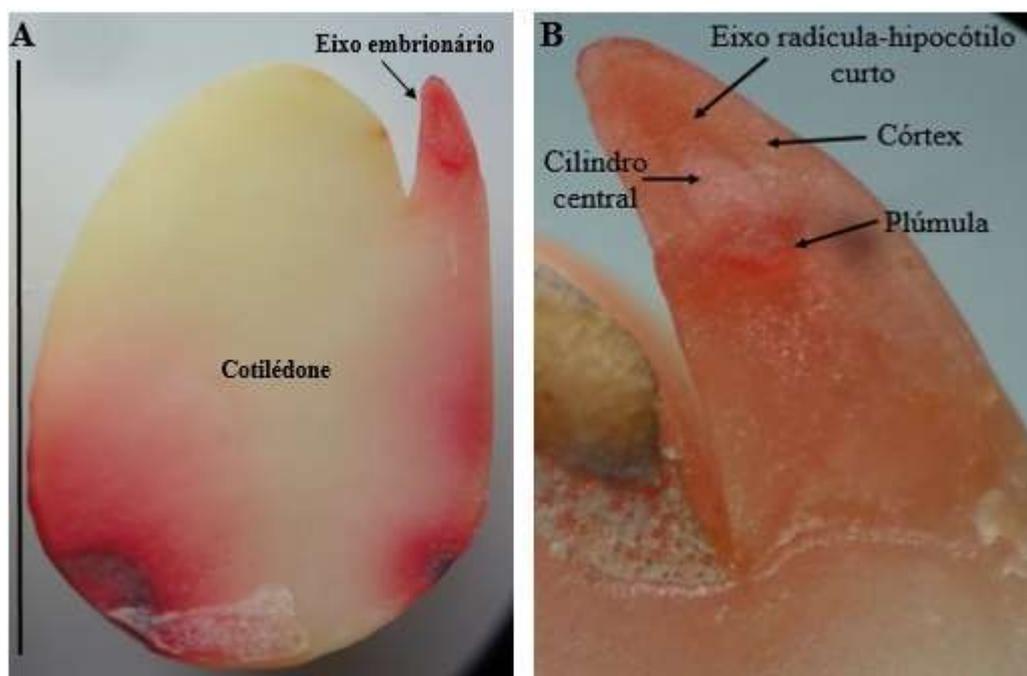


Figura 2. Embrião de *Cupania vernalis* (A) e estruturas vitais do eixo embrionário (B). Barra vertical: 8,7 mm.

Complementarmente, os três lotes de sementes foram submetidos ao teste de germinação e emergência em casa de vegetação. Para o teste de germinação, quatro repetições de 50 sementes foram semeadas entre vermiculita umedecida com água destilada até a saturação e mantidas em câmara de germinação (tipo B.O.D.), a 30 °C com fotoperíodo de 12 h. As avaliações de porcentagem de germinação foram realizadas diariamente até a estabilização, utilizando, como parâmetro de germinação, a formação de plântulas normais, segundo descrição de Vieira et al. (2008).

Para o teste de emergência em casa de vegetação, quatro repetições de 25 sementes foram semeadas à 2 cm de profundidade, em tubetes de 120 cm³ de volume, preenchidos com substrato comercial à base de casca de pinus, mantidos em ambiente protegido com 50% de sombreamento, com temperatura média do ambiente à 29,0 °C e umidade relativa em torno de 40,0%. As avaliações foram realizadas a cada dois dias até a estabilização, utilizando como parâmetro de germinação a formação de plântulas normais (VIEIRA et al., 2008).

Na avaliação da concentração e período de tempo de reação o experimento seguiu o delineamento inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial (5 x 3). Os dados foram averiguados quanto à normalidade da distribuição dos resíduos pelo teste de Lilliefors, e quanto à

homogeneidade da variância pelo teste de Cochran e Bartlett. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância. Quando da existência de diferenças estatisticamente significativas, utilizou-se a análise por superfície de resposta.

Adicionalmente, as médias dos resultados obtidos de cada lote para o teste de germinação, emergência em casa de vegetação e do teste tetrazólio foram comparadas entre si pelo teste t a 5% de probabilidade de erro, bem como foi calculado o coeficiente de correlação simples de Pearson (r), entre os resultados dos testes.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade inicial das sementes foram, em média, 40%, 42% e 44% para as sementes oriundas do município de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, respectivamente. Outros trabalhos também evidenciaram grau de umidade alto para a espécie *C. vernalis*, com valores de 42% (OLIVEIRA; NICOLETTI; GOMESI, 2010), 44% (LEMES; LOPES; MATHEUS, 2011), 47% (LEMES et al., 2012) e 38% (BORTOLINI et al., 2013). Valores elevados do grau de umidade, entre 30% a 70%, ao final da maturação podem estar relacionados ao comportamento recalcitrante das sementes (MARCOS FILHO, 2015).

No momento da padronização do teste de tetrazólio, aproximadamente 60 dias após a determinação inicial do teor de água, o grau de umidade das sementes verificado foi de 33%, 24% e 20% para os municípios de Nova Santa Rosa, Marechal Cândido Rondon e Santa Helena, respectivamente. Após a embebição entre papel por 48h, o grau de umidade elevou-se para 36% (município de Nova Santa Rosa) e 27% (municípios de Marechal Cândido Rondon e Santa Helena).

De acordo com Costa et al. (2007), o grau de umidade das sementes abaixo de 24% restringe o início dos processos metabólicos e respiratórios, dificultando a ativação enzimática, sobretudo às enzimas do grupo das desidrogenases, as quais são responsáveis pela coloração no teste de tetrazólio. Desse modo, sugere-se que, quando as sementes apresentarem grau de umidade inferior a 20%, estas devem ser embebidas por um período de 48 h a 30 °C, a fim de garantir um padrão de coloração nítida para avaliação adequada das áreas vitais do embrião.

Na avaliação dos métodos de preparo, as sementes que se encontravam intactas e aquelas com remoção parcial ou total do tegumento, não apresentaram coloração, o que dificultou a análise das sementes. Também não houve destaque para o método de preparo definido como corte através do tegumento na extremidade oposta ao hilo, pois a coloração resultante encontrou-se apenas na região do corte, impossibilitando avaliar a região vital do embrião.

Já o método que consistiu da remoção total do tegumento seguido do corte longitudinal foi o que proporcionou maior difusão da solução do sal de tetrazólio pelos tecidos das sementes, com coloração uniforme e superficial nos tecidos internos da semente. Resultado semelhante foi obtido por Cripa et al. (2014) com sementes de *Eugenia involucrata* DC. e *Eugenia pyriformis* Cambess. e Kaiser et al. (2014), em sementes de *Eugenia uniflora* L., onde os autores

reportaram que a realização do corte longitudinal antevendo a imersão das sementes na solução de tetrazólio permitiu obter coloração uniforme dos tecidos.

A recomendação do método de preparo ideal, que possibilite a exposição dos tecidos à solução de tetrazólio, deve levar em conta a técnica que provoque o menor dano possível à semente, caso contrário, a promoção de danos acentuados nos tecidos pode provocar alterações nos resultados finais do teste (FOGAÇA, 2015). Dessa forma, a retirada do tegumento das sementes de *C. vernalis* antes da coloração, deve ser realizada com cuidado a fim de evitar injúrias ao embrião e assim evitar erros de interpretação do teste.

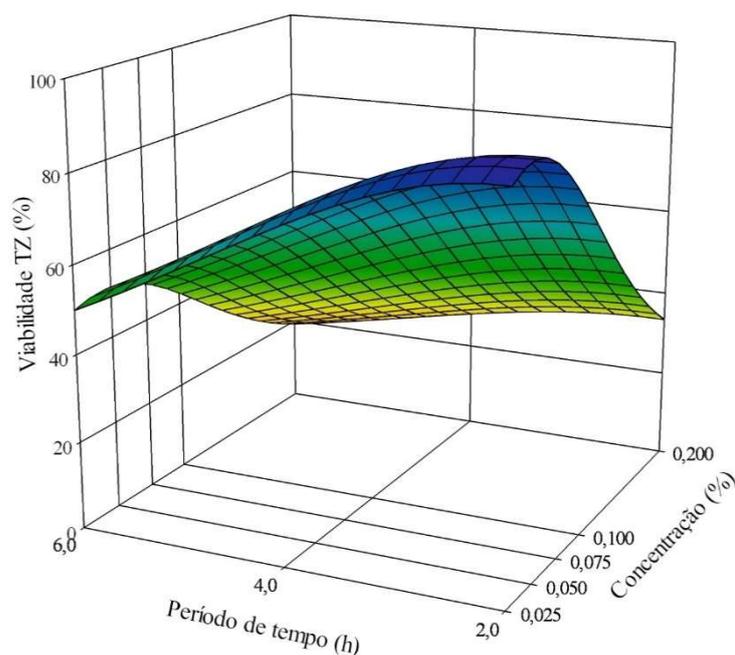
Embora a remoção do tegumento das sementes de *C. vernalis* seja delicada e trabalhosa, sua execução é de fundamental importância, pois possibilita a realização correta do corte longitudinal, permitindo a visualização da região vital da semente e, conseqüentemente, a correta avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio.

A análise de variância indicou interação significativa ($F = 4,476$, $P = 0,0004$) entre a concentração do sal e o período de incubação na solução para avaliação da viabilidade das sementes. O modelo de superfície de resposta testado explicou 43% da viabilidade das sementes (Figura 3).

Com base na equação ajustada (Figura 3), obteve-se a máxima resposta de identificação da viabilidade das sementes (89,8%) quando o período de incubação foi de 2:05 h com o emprego da concentração de 0,046%, à semelhança dos resultados obtidos com duas horas de incubação com a concentração de 0,05% (89,7%).

Em contrapartida, nota-se que conforme aumenta o período de tempo de incubação (seis horas) e a concentração da solução de tetrazólio (0,2%), a 40 °C, os valores obtidos decrescem exponencialmente, sendo observada viabilidade de 19,7% (Figura 3), afetando a qualidade de coloração pelos tecidos.

Nestas condições, ocorre intensa coloração na região vital do embrião, o que pode estar relacionada à alta atividade meristemática desenvolvida nestes tecidos. Em adição, o aumento no período de tempo e na concentração resultam em uma coloração intensa, devido ao excesso de exposição das sementes à solução.



$$f = 89,81 / ((1 + ((x - 0,046) / 0,119)^2) * (1 + ((y - 2,085) / -4,537)^2)) \quad R^2 = 0,43^{**}$$

Figura 3. Efeito do período de incubação (h) e da concentração da solução de tetrazólio (%) na viabilidade de sementes de *Cupania vernalis*. **Significativo a 1% de probabilidade.

Assim, é recomendado o uso de concentrações de solução de tetrazólio mais baixas, pois permitem que os tecidos da semente apresentem colorações passíveis de visualização e identificação de danos, sendo possível estimar a viabilidade das sementes. Além disso, concentrações baixas garantem economicidade do teste, pois o sal de tetrazólio é de custo elevado (FOGAÇA, 2015).

A utilização de concentrações baixas do sal vem sendo reportadas para algumas espécies florestais, a exemplo de trabalhos desenvolvidos por Azerêdo, Paula e Valeri (2011) em sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth, por Abbade e Takaki (2014) em sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith, por Nogueira, Torres e Freitas (2014) em sementes de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong e por Cunha e Gomes (2015) em sementes de *Erythrina velutina* Willd.

O reconhecimento das estruturas essenciais das sementes é de fundamental importância para estabelecer corretamente as condições para o preparo e para a definição dos critérios para a avaliação (FRANÇA NETO, 1999). Em sementes de *C. vernalis*, as áreas vitais do embrião são a plúmula, o cilindro central e o eixo hipocótilo-radícula curto (Figura 2).

Além da coloração observada nestas áreas, a turgescência e o aspecto dos tecidos foram levados em consideração durante a avaliação das sementes nesta pesquisa. Segundo Dias e Barros (1999), deve-se levar em conta a coloração das sementes, a turgescência dos tecidos, a ausência de fraturas em regiões vitais, os danos causados por insetos e a formação morfológica.

A partir do conhecimento das partes essenciais do embrião e sua relação com as estruturas vitais envolvidas durante o processo de germinação, foi realizada a classificação topográfica das sementes em três grupos de viabilidade.

Grupo 1 – sementes viáveis (com tecidos firmes, sem que haja danos significativos no eixo embrionário e coloração rosa suave) (Figura 4 a; b); Grupo 2 – sementes não viáveis (com coloração intensa no eixo hipocótilo-radícula e na plúmula, comprometendo o desenvolvimento normal da plântula) (Figura 4 c; d); e Grupo 3 - sementes mortas (sementes com lesões escuras, em avançado estágio de deterioração (Figura 4 e) ou com coloração branco-leitosa nos tecidos do eixo embrionário) (Figura 4 f).

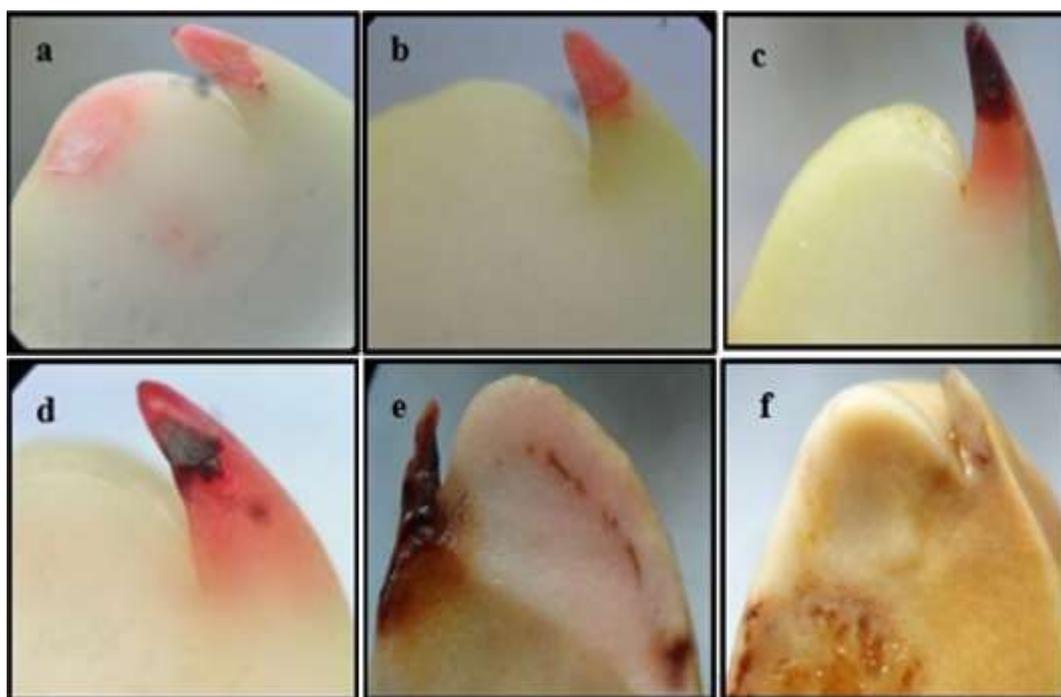


Figura 4. Classificação topográfica das sementes de *Cupania vernalis* em viáveis (a-b); não viáveis (c-d); e sementes mortas (e-f), incubadas na solução de tetrazólio por duas horas na concentração de 0,05%.

A porcentagem de plântulas normais obtidas no teste de germinação, no teste de emergência em casa de vegetação e a porcentagem de viabilidade estimada pelo teste de tetrazólio encontram-se na Tabela 1.

Os resultados obtidos no teste de germinação e emergência em casa de vegetação, quando comparados com o teste de tetrazólio, resultaram na ausência de significância, com correlação positiva significativa de 0,96, confirmando a aderência dos resultados do teste de tetrazólio na avaliação da viabilidade de sementes de *C. vernalis*.

É importante ressaltar que da colheita até a instalação dos testes de germinação e emergência, as sementes oriundas do município de Nova Santa Rosa permaneceram acondicionadas em sacos de papel, em condições de laboratório, por aproximadamente 30 dias e para as sementes oriundas dos municípios de Marechal Cândido Rondon e Santa Helena por um período de 60 dias.

Estas condições e o período que permaneceram armazenadas podem estar relacionadas à diferença observada nos resultados de germinação e emergência entre os locais de colheita estudados, visto que as sementes de *C. vernalis* apresentam sensibilidade à dessecação e necessitam de valores elevados de umidade para a manutenção da viabilidade e sobrevivência (BRUNING, LÚCIO E MUNIZ, 2011).

Tabela 1. Porcentagem de plântulas normais obtidas pelo teste de germinação (PN), de emergência em casa de vegetação (TE), de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio (TZ), probabilidade de significância pelo teste t (Prob. Teste t) e coeficiente de correlação simples (r) em três lotes de sementes de *Cupania vernalis*.

Lotes	PN	TZ	Prob. teste t	TE	TZ
	----- % -----			----- % -----	
1	64 ± 9,6	79 ± 11,5	0,0836	52	79 ± 11,5
2	18 ± 2,5	13 ± 7,6	0,3024	4,5	13 ± 7,6
3	22 ± 5,9	22 ± 4,0	> 0,5000	5	22 ± 4,0
R	0,96**			0,96**	

** Significativo a 1% pelo teste t.

Mesmo não ocorrendo diferenças significativas entre os testes para sementes do município de Nova Santa Rosa, observou-se pelo teste de tetrazólio uma viabilidade de 15% a mais que o obtido pelo teste de germinação e 27% a mais que o obtido no teste de emergência em casa de vegetação (Tabela 1). Em espécies que apresentam algum grau de dormência, o uso

do teste de germinação pode subestimar o potencial germinativo das sementes (GARLET; SOUZA; DELAZERI, 2015).

Bortolini et al., (2013) constataram que o tegumento das sementes de *C. vernalis*, constitui-se de uma barreira física ao crescimento do embrião, retardando o processo germinativo. Dessa forma, o uso do teste de tetrazólio é uma alternativa promissora na avaliação da viabilidade das sementes remanescentes no final do teste de germinação.

O processo de germinação em laboratório foi completado em 46 dias e a emergência em casa de vegetação teve duração de 131 dias. Em contrapartida, a utilização do teste de tetrazólio se destaca por sua rapidez, levando apenas 52 h para a avaliação da viabilidade de sementes de *C. vernalis*.

Neste sentido, levando em consideração as características desta espécie (recalcitrância e a lenta germinação e emergência das plântulas), fica evidenciado a necessidade do uso de metodologias alternativas, como o caso do teste de tetrazólio, que avaliam rapidamente a qualidade destas sementes, otimizando a obtenção dos resultados e a tomada de decisão quanto ao uso do lote de sementes.

4 CONCLUSÃO

O método de preparo ideal das sementes de *C. vernalis* para realização do teste de tetrazólio é a embebição entre papel por 48h seguido da remoção total do tegumento e posterior corte longitudinal da semente. A concentração da solução de tetrazólio deve ser de 0,05% e o tempo de coloração de duas horas a 40 °C para garantir a precisa determinação da viabilidade de sementes de *C. vernalis* pelo teste de tetrazólio.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBADE, L.C.; TAKAKI, M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith - Bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. **Revista Árvore**, v.38, n.2, p. 233-240, 2014.

AZERÊDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, n, 1 p. 061 - 068, 2011.

BORTOLINI, M. F.; KOEHLER, H. S.; ZUFFELLATO-RIBAS, K. C.; FORTES, A. M. T. Dormência em sementes de camboatá. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 11, n. 2, p. 129-135, 2013.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 365p.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análises de sementes de espécies florestais**. Brasília: SDA/CGAL, 2013. 97p.

BRUNING, F. O.; LÚCIO, A. D.; MUNIZ, M. F. B. Padrões para germinação, pureza, umidade e peso de mil sementes em análises de sementes de espécies florestais nativas do Rio Grande do Sul. **Revista Ciência Florestal**, v. 21, n. 2, p. 193-202, 2011.

CALOY, L. H. M.; NERY, M. C.; PIRES, R. M. O.; SANTOS, J. B.; SILVA, D. V.; FERREIRA, E. A.; FREITAS, M. A. M.; SANTOS, M. M. Teste de tetrazólio para sementes de guanxuma. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 7, n. 1, p. 68-75, 2013.

CAMPOS FILHO, E. M.; SARTORELLI, P. A. R. **Guia de árvores com valor econômico**. São Paulo : Agroicone, 2015. "Iniciativa INPUT."

CORDEIRO, J.; RODERJAN, C. V.; CURCIO, G. R. Espécies lenhosas de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista na região Centro-Sul e análise florística entre áreas florestais no Paraná. **Ambiência**, v. 9, n.3, p. 563 – 588, 2013.

COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 66-72, 2010.

COSTA, N. P.; FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em semente de soja - Série Sementes. **Circular Técnica 39**, 2007.

CRIPA, F. B.; FREITAS, L. C. N.; GRINGS, A. C.; BORTOLINI, M. F. Tetrazolium test for viability estimation of *Eugenia involucrata* DC. and *Eugenia pyriformis* Cambess. seeds. **Journal of Seed Science**, v.36, n.3, p.305-311, 2014.

CUNHA, M. C. L.; GOMES, I. H. R. A. Viabilidade de sementes de *Erythrina velutina* Willd pelo teste de tetrazólio. **Revista Nativa**, v. 3, n. 3, p. 196-200, 2015.

DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

FOGAÇA, C. A. Teste de tetrazólio e testes de vigor. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M; FIGLIOLIA, M. B.; SILVA, A. (organizadores) **Sementes Florestais Tropicais: da ecologia à produção**. Londrina. Pr: ABRATES, 2015. p. 344-359.

FRANÇA NETO, J.B. Teste 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. 218p.

FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina; EMBRAPA-CNPSo, 1998, 72p. (Documentos, 116).

GARLET, J.; SOUZA, G. F.; DELAZERI, P. Teste de tetrazólio em sementes de *Cassia leptophylla*. **Revista Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 1800-1808, 2015.

HACK, C.; LONGHI, S. J.; BOLIGON, A. A.; MURARI, A. B.; PAULESKI, D. T. Análise fitossociológica de um fragmento de floresta estacional decidual no município de Jaguari, RS. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1083-1091, 2005.

KAISER, D. K.; FREITAS, L. C. N.; BIRON, R. P.; SIMONATO, S. C.; BORTOLINI, M. F. Adjustment of the methodology of the tetrazolium test for estimating viability of *Eugenia uniflora* L. seeds during storage. **Journal of Seed Science**, v.36, n.3, p.344-351, 2014.

LEMES, E. Q.; LOPES, J. C.; MATHEUS, M. T. Germinação e caracterização morfológica de sementes de *Cupania vernalis* Cambess. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v.18, n.1, p. 71-82, 2011.

LEMES, E. Q.; LOPES, J. C.; NOGUEIRA, N. O.; SILVA, L. F.; GOMES JÚNIOR, D.; PEREIRA, D. S. Qualidade fisiológica de *Cupania vernalis* Cambess. sob diferentes níveis de salinidade. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 6, n. 3, p. 144-153, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed. Londrina: ABRATES, 2015. 560p.

MARCOS FILHO, J. CÍCERO, S. M., SILVA, W. R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O. Teste de tetrazólio em sementes de timbaúba. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 6, p. 2967-2976, 2014.

OLIVEIRA, L. M.; GOMES, J. P.; SOUZA, G. K.; NICOLETTI, M. F.; LIZ, T. O.; PIKART, T. G. Metodologia alternativa para o teste de tetrazólio em sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 21, n. 4, p. 468-474, 2014.

OLIVEIRA, L. M.; NICOLETTI, M. F.; GOMES, J. P. Qualidade de sementes de *Cupania vernalis* (Sapindaceae). **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.9, n.2, p. 195-197, 2010.

ROSADO, A.; SOUZA, M. C.; FERRUCCI, M. S. Lista de espécies de Sapindaceae para um remanescente de Floresta Estacional Semidecidual no sul do Brasil: Estação Ecológica do Caiuá. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 12, n. 3, p. 148-157, 2014.

SCIPIONI, M. C.; LONGHI, S. J.; BRANDELERO, C.; PEDRON, F. A.; REINERT, D. J. Análise fitossociológica de um fragmento de floresta estacional em uma catena de solos no morro do Cerrito, Santa Maria, RS. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 3, p. 457-466, 2012.

SENA, L. H. M.; MATOS, V. P.; FERREIRA, E. G. B. S.; SALES, A. G. F. A.; PACHECO, M. V. Qualidade fisiológica de sementes de pitangueira submetidas a diferentes procedimentos de secagem e substratos – Parte 1. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n.4, p. 405-411, 2010.

VIEIRA, C. V.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M.; NERY, F. C.; SANTOS, M. O. Germinação e armazenamento de sementes de camboatã (*Cupania vernalis* Cambess.) Sapindaceae. **Revista Ciência Agrotecnológica**, v. 32, n.2, p. 444-449, 2008.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O conhecimento acerca da qualidade de sementes durante a sua formação e a relação com as condições ambientais são essenciais, pois fornecem subsídios para o planejamento adequado dos sistemas de produção. Estudos com várias espécies florestais fazem relação das características de frutos e sementes e sua relação com as condições ambientais. Entretanto, em relação à espécie *Cupania vernalis*, estas informações ainda são escassas, particularmente, na região Oeste do Paraná, em municípios no entorno da represa da Itaipu.

Nesse sentido, o primeiro capítulo deste trabalho demonstrou que as características morfométricas, físicas e fisiológicas das sementes de *C. vernalis* foram moduladas pelas condições ambientais em que a espécie estava inserida. Variações na temperatura, disponibilidade hídrica, radiação solar e o déficit de pressão de vapor avaliados neste estudo refletiram em respostas distintas para esta espécie.

Com o intuito de complementar as informações deste estudo e, assim poder estimar um comportamento padrão desta espécie, novos estudos deveriam ser realizados avaliando, além da morfometria e a qualidade física e fisiológica das sementes e sua relação com as condições ambientais, os aspectos fenológicos desta espécie em mais de um ciclo reprodutivo e em um maior número de indivíduos e locais de colheita.

Para aferição da qualidade fisiológica das sementes é necessário a utilização de testes que estimam com rapidez a viabilidade e o vigor das sementes, a exemplo do teste de tetrazólio. Para sementes de *C. vernalis* a coloração ideal das sementes pelo teste de tetrazólio, deve seguir a seguinte metodologia: pré-condicionamento por 48 h seguido da retirada do tegumento e corte longitudinal e imersão na solução de tetrazólio de 0,05% por duas horas.

É sabido que sementes com comportamento recalcitrante não sofrem dessecação acentuada na final do processo de maturação, mantendo o teor de água elevado e o metabolismo ativo para iniciar o processo germinativo. As sementes de *C. vernalis* são classificadas como sementes recalcitrantes, dessa forma, estas sementes já apresentariam conteúdo de água suficiente para que ocorresse o processo de redução pelo sal de tetrazólio, tornando desnecessário o período de 48 h de embebição.

Diante disso, novos estudos devem ser realizados a fim de investigar o período ideal de embebição, ou mesmo, verificar se há a necessidade desta etapa na condução do teste de tetrazólio para sementes de *C. vernalis*. Esta informação permitiria reduzir o período de

condução do teste, sendo necessária apenas quatro horas para a estimativa da viabilidade destas sementes. A avaliação rápida e precisa da qualidade de sementes de *C. vernalis* permitiria o manejo correto do lote de sementes, uma vez que estas sementes apresentam germinação lenta, desuniforme, intolerância à dessecação e curta longevidade.

Portanto, conhecer os aspectos biológicos desta espécie florestal nativa frente as condições ambientais vigentes durante o seu desenvolvimento, permite a utilização correta desta espécie em programas de recomposição de ecossistemas degradados nestas formações florestais. E para garantir a qualidade das sementes e/ou mudas que serão utilizadas nestes programas, o emprego de metodologias alternativas ou que complementem a verificação da qualidade das sementes, como o teste de tetrazólio, assumem fundamental importância.