

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

ANA CAROLINE KOPPER

**ADEQUAÇÃO DE TESTES PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E
VIGOR DE SEMENTES DE *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON
MARÇO/2008

ANA CAROLINE KOPPER

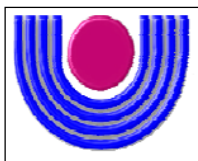
**ADEQUAÇÃO DE TESTES PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E
VIGOR DE SEMENTES DE *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze**

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

ORIENTADOR: PROF^a. DR^a. MARLENE
DE MATOS MALAVASI

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

MARÇO/2008



UNIOESTE - UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ

CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Ata da reunião da Comissão Julgadora da Defesa de Dissertação da **Biol. ANA CAROLINE KOPPER**. Aos quinze dias do mês de março do ano de 2008, às 10 horas, sob a presidência da **PROF^a. DR^a. MARLENE DE MATOS MALAVASI**, em sessão pública reuniu-se a Comissão Julgadora da defesa da Dissertação da Biol. Ana Caroline Kopper, aluna do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Mestrado com área de concentração em **“PRODUÇÃO VEGETAL”**, visando à obtenção do título de **“MESTRE EM AGRONOMIA”**, constituída pelos membros: Prof. Dr. Claudemir Zucareli (UEL); Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi (UNIOESTE) e Prof^a. Dr^a. Marlene de Matos Malavasi (Orientadora - UNIOESTE).

Iniciados os trabalhos, a candidata submeteu-se à defesa de sua Dissertação, intitulada: **“ADEQUAÇÃO DE TESTES PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.”**

Terminada a defesa, procedeu-se ao julgamento dessa prova, cujo resultado foi o seguinte, observada a ordem de arguição:

Prof. Dr. Claudemir Zucareli Aprovado
Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi Aprovado
Prof^a. Dr^a. Marlene de Matos Malavasi (Orientadora) Aprovado

Apurados os resultados, verificou-se que a candidata foi habilitada, fazendo jus, portanto, ao título de **“MESTRE EM AGRONOMIA”**, área de concentração: **“PRODUÇÃO VEGETAL”**. Do que, para constar, lavrou-se a presente ata, que vai assinada pelos senhores membros da Comissão Julgadora e por mim, Secretária.

Marechal Cândido Rondon, 15 de março de 2008.

Prof. Dr. Claudemir Zucareli

Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi

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

Noili Batschke – Secretária

“Os que confiam no Senhor, recebem sempre novas forças. Voam nas alturas como águias, correm e não perdem as forças, andam e não se cansam”.

(Isaiás 40:31)

À Isabelli, meu motivo maior de existir.

Ao Thiago, meu amor e companheiro nas lutas e conquistas.

Aos meus pais e irmãs, distantes, mas sempre presentes em meu coração.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela presença constante em minha vida.

À minha família, meu alicerce e maior incentivador, em especial ao meu marido Thiago Cacção Villa.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, que oportunizou a realização deste curso.

À Fundação Araucária e à Capes, pela concessão da bolsa.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Marlene de Matos Malavasi, por me conduzir na execução deste trabalho, pelos ensinamentos, carinho e compreensão.

Ao Núcleo de Estações Experimentais, pelo fornecimento das sementes.

Aos professores Dr^a Andréa Maria Teixeira Fortes e Dr. Claudemir Zucareli pelas colaborações.

A todos os professores do curso, por compartilharem conhecimento e profissionalismo, colaborando desta forma para minha formação. Agradeço em especial aos professores Dr. Vandeir Francisco Guimarães, Dr. Eurides Kuster Macedo Junior e Dr. Ubirajara Contro Malavasi, pelos conselhos e apoio.

Aos colegas, Neusa, Michele, Carla Francieli, Jardel, Vanessa, Vânia, Marcelo e todos os outros que contribuíram na execução ou com apoio e incentivo.

Àqueles, não menos especiais, aqui esquecidos, mas que contribuíram para a realização deste trabalho, obrigada.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Espécie estudada	17
2.2 Germinação de sementes	18
2.2.1 Fatores intrínsecos e ambientais	19
2.2.1.1 Água e embebição	19
2.2.1.2 Temperatura e substrato	21
2.3 Qualidade fisiológica de sementes	23
2.3.1 Condutividade elétrica	25
2.3.2 Tetrazólio	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 Obtenção de sementes e local de realização dos experimentos	35
3.2 Embebição das sementes	35
3.3 Caracterização dos lotes	36
3.3.1 Teor de água	36
3.3.2 Massa de 1000 sementes	37
3.4 Adequação de testes para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	37
3.4.1 Teste de germinação	37
3.4.2 Condutividade elétrica	39
3.4.3 Tetrazólio	41
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1 Embebição das sementes	45
4.2 Caracterização dos lotes	48

4.2.1 Teor de Água	48
4.2.2 Massa de 1000 sementes	48
4.3 Adequação de testes para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	49
4.3.1 Teste de Germinação	49
4.3.2 Condutividade elétrica.....	58
4.3.3 Tetrazólio.....	64
5 CONCLUSÕES.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
APÊNDICE	

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 Tegumento e endosperma (indicado por seta) de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.42
- FIGURA 2 Morfologia de sementes de *Cariniana estrellensis* (cot = cotilédone; eh = eixo hipocótilo-radícula; cc = cilindro central; co = córtex; ic = região de inserção dos cotilédones)43
- FIGURA 3 Curva de embebição de sementes de *Cariniana estrellensis*47
- FIGURA 4 Efeito de diferentes substratos sobre porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PAN) e de sementes mortas (SM) em sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze....50
- FIGURA 5 Velocidade média (semente/dia⁻¹) de germinação de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze submetidas a diferentes temperaturas e substratos.....51
- FIGURA 6 Tempo médio de germinação de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze submetidas a diferentes temperaturas e substratos.....51
- FIGURA 7 Porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PAN) e de sementes mortas (SM) de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, em função da procedência do lote.....52
- FIGURA 8 Efeito de diferentes temperaturas sobre porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PAN) e de sementes mortas (SM) em sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze....52

- FIGURA 9 Aspecto da solução de embebição com as sementes de *Cariniana estrellensis* no teste de condutividade elétrica após 48 horas de embebição.....64
- FIGURA 10 Sementes viáveis de *C. estrellensis* (Raddi) Kuntze, coloridas em diferentes concentrações de solução de tetrazólio, por períodos de tempo crescente (2, 3, 4 e 5 horas respectivamente). 67
- FIGURA 11 Representação das classes de viabilidade para sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze: Viáveis (Classes 1 a 4) e Inviáveis (Classes 5 a 8). 68
- FIGURA 12 Alguns danos apresentados pelas sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze depois de coloração em sal de tetrazólio. A: Classe 7 – embrião intacto; B: Classe 7 – embrião em corte longitudinal; C: Classe 5 (dois embriões à esquerda) e Classe 7 (embrião à direita) – intactos; D: Classe 5 (dois embriões à esquerda) e Classe 7 (embrião à direita) – em corte longitudinal..... 69

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Médias de porcentagem de absorção de água em relação ao peso inicial de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	46
TABELA 2	Teor de água inicial dos três lotes analisados de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze	48
TABELA 3	Massa de mil sementes dos três lotes analisados de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze.....	49
TABELA 4	Porcentagem de plântulas anormais em três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.....	53
TABELA 5	Porcentagem de plântulas normais em três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.....	54
TABELA 6	Porcentagem de germinação de três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.....	55
TABELA 7	Porcentagem de sementes mortas em três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.....	55
TABELA 8	Velocidade média de germinação (semente/dia ⁻¹) de três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.....	56
TABELA 9	Tempo médio de germinação (dias) de três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.....	56

TABELA 10	Valores médios ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) da condutividade elétrica de massa, para dois lotes (LN – normal; LEnv – envelhecido artificialmente) de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze em quatro experimentos com combinações distintas de quantidade de sementes e volume de água, em função do tempo de embebição.....	60
TABELA 11	Teor de água (TA), germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze.	61
TABELA 12	Valores médios ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) da condutividade elétrica de massa, para sementes de três lotes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze em cada período de embebição.....	62
TABELA 13	Metodologias testadas para emprego do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze.	66
TABELA 1A	Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para embebição de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze.	81
TABELA 2A	Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para teor de água e massa de mil de três lotes de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze.	81
TABELA 3A	Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), plântulas anormais (PAN) e sementes mortas (SM) de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze, em diferentes lotes, substratos e temperaturas.	81
TABELA 4A	Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para velocidade média (VM) e tempo médio (TM) de germinação de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze, em diferentes lotes, substratos e temperaturas.....	82
TABELA 5A	Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para condutividade elétrica de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze, nos quatro experimentos da primeira etapa.	82
TABELA 6A	Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para condutividade elétrica de sementes de <i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze, na segunda etapa (2g/50ml).	83

TABELA 7A Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos no teste de tetrazólio para sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze..... 83

LISTA DE ABREVIATURAS

UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná

RNA_m – Ácido Ribonucléico mensageiro

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

BOD – Biochemical Oxygen Demand (Demanda Bioquímica de Oxigênio)

AOSA - Association of Official Seed Analysts

RESUMO

A importância da análise de sementes florestais nativas cresceu nos últimos anos, devido ao impulso econômico e conservacionista que levaram ao aumento de reflorestamentos. Metodologias de testes que avaliem a qualidade de lotes de sementes desta natureza foram pouco estudadas. Assim, o objetivo deste trabalho foi estabelecer bases para condução de testes de germinação, tetrazólio e condutividade elétrica com sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze. Para o teste de germinação utilizaram-se dois tipos de substrato (areia e papel) e de temperatura (25°C e 20-30°C). No teste de tetrazólio foram avaliadas as concentrações 0,05%, 0,1% e 0,25% da solução de tetrazólio, nos tempos de coloração 2, 3, 4 ou 5 horas. O teste de condutividade elétrica consistiu no emprego de 2g e 4g de sementes para 50 mL e 75 mL de água. Em todos os testes o delineamento adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 x 3 (dois substratos, duas temperaturas e três lotes) para o teste de germinação, 2 x 12 (dois lotes e 12 períodos de embebição) para o teste de condutividade elétrica e 3 x 4 x 3 (três concentrações da solução de tetrazólio, 4 tempos de coloração e três lotes) para o teste de tetrazólio. O substrato papel e a temperatura de 25°C mostraram-se mais adequados para a realização do teste de germinação. Para o teste de condutividade elétrica a utilização de 2 g de sementes em 50 mL de água com embebição por 48 horas foi eficiente na classificação dos lotes quanto ao vigor. O teste de tetrazólio apresentou diversos resultados favoráveis, ficando assim a critério do analista a escolha do método mais adequado as suas necessidades. As concentrações de 0,05% por 4 ou 5 horas, de 0,1% por 3 ou 4 horas e de 0,25% por 2 ou 3 horas permitiram a avaliação da viabilidade, com resultado semelhante ao teste de germinação.

Palavras-chave: Lecythidaceae, jequitibá-branco, qualidade fisiológica.

ABSTRACT

The importance of native forest seeds analysis grew in recent years, due to economic and conservationist impulse that led to the increase of reforestation. Methodologies of tests to assess the quality of seed lots of this kind were little studied. The objective of this work was to establish bases for conducting tests of germination, tetrazolium and electrical conductivity with *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze seeds. For the germination test were used two types of substrate (sand and paper) and temperature (25°C and 20-30°C). In the tetrazolium test were evaluated concentrations 0,05%, 0,1% and 0,25% of the tetrazolium solution, in times of colour 2, 3, 4 or 5 hours. The electrical conductivity test consisted in employment of 2 g and 4 g of seeds to 50 mL and 75 mL of water. In all tests the design adopted was a completely randomized in a factorial 2 x 2 x 3 (two substrates, two temperatures and three lots) for the germination test, 2 x 12 (two lots and 12 periods of soaking) to the electrical conductivity test and 3 x 4 x 3 (three concentrations of the tetrazolium solution, 4 times of color and three lots) for the tetrazolium test. The substrate role and temperature of 25°C were more appropriate for the germination test. For the electrical conductivity test use of 2 g of seeds in 50 mL of water to soak for 48 hours was efficient in the classification of the lots on the vigor. The tetrazolium test presented several favourable results, thus the discretion of the analyst to choose the method most appropriate to your needs. Concentrations of 0,05% by 4 or 5 hours, 0,1% for 3 or 4 hours and 0,25% for 2 or 3 hours allowed the viability assessment, with results similar to germination test.

Keywords: Lecythidaceae, jequitibá-branco, physiological quality.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países com maior área de cobertura florestal, incluindo florestas naturais e plantadas. Grande parte das florestas naturais sofreu, desde o período de colonização, impactos irreversíveis, sendo tais áreas utilizadas tanto para a exploração desordenada da madeira como para abertura de áreas agrícolas ou mesmo para ocupação territorial, entre outros motivos. A Floresta Atlântica é um exemplo da degradação desses ecossistemas, permanecendo atualmente, de acordo com a OIMT (2006), apenas cerca de 7% da superfície original.

As florestas desempenham papéis importantes, agindo como reservas da biodiversidade, atuando no equilíbrio climático e na proteção de mananciais e do solo e, desta forma, na qualidade de vida humana. A exploração indevida destes ecossistemas causa problemas que afetam, portanto, direta ou indiretamente o ser humano. Para minimizar tais problemas uma saída são os programas de regeneração e/ou recuperação de áreas degradadas.

A visão conservacionista aliada a interesses econômicos impulsionou, a partir das décadas de 70 e 80, a pesquisa com sementes de espécies florestais nativas. Contudo, menos de 0,1% das espécies tratadas nas Regras para Análise de Sementes (RAS) é referente às florestais nativas, o que demonstra a falta de informações sobre estas (OLIVEIRA et al., 1996).

Sementes de boa qualidade são necessárias para o êxito do empreendimento florestal, sendo o principal atributo considerado, a capacidade germinativa das sementes, pois, sem ela, a semente não tem valor para a semeadura, e dela também dependem a qualidade das mudas e o sucesso de um reflorestamento (MORAES, 2007).

A qualidade de sementes usualmente é aferida através de testes de germinação. Estes testes, no entanto, apresentam alguns inconvenientes que podem dificultar a distinção da real qualidade fisiológica de sementes de diferentes lotes, sendo necessário complementar a análise por meio de outros testes, como tetrazólio e condutividade elétrica.

Para a realização de qualquer teste, o analista precisa dispor de metodologias padronizadas à espécie em estudo, tanto para facilitar seu trabalho como para possibilitar que sob tais condições e em diferentes laboratórios os mesmos resultados sejam obtidos.

Cariniana estrellensis (Raddi) Kuntze, o conhecido jequitibá-branco, é uma espécie representativa da flora brasileira que apresenta poucos estudos no que se refere à qualidade de sementes. Magnanini & Magnanini (2002) a incluíram na lista das maiores árvores brasileiras e Carvalho (1994) relata a presença desta espécie na lista de espécies em extinção, categoria vulnerável, no sul de Minas Gerais, e também na lista de espécies raras ou ameaçadas de extinção no Distrito Federal.

Tendo em vista a falta de estudos relacionados à análise da qualidade de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, o trabalho teve como objetivo avaliar metodologia dos testes de germinação, tetrazólio e condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes dessa espécie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Espécie estudada

Cariniana estrellensis (Raddi) Kuntze (*Cariniana excelsa* Casaretto, *Couratari estrellensis* Raddi), espécie popularmente conhecida como jequitibá-branco, bingueiro, cachimbeiro, estopeira, pito de macaco entre outros nomes, pertence à Família Lecythidaceae que, conforme Joly (1998) compreende 24 gêneros de plantas restritas às regiões tropicais. Todas as espécies são arbóreas e abundantes nas matas tropicais das Américas. Para Barroso (1978) esta família é representada no Brasil por cerca de 13 gêneros com 150 espécies, principalmente encontradas na Região Norte.

Prance et al. (1976), Mori & Lepsch-Cunha (1995) e Oliveira & Mori (1999), citados por Tsou & Mori (2002), consideraram esta família uma das mais importantes famílias de árvores da Amazônia Central, em termos de espécies e número de indivíduos.

De acordo com Carvalho (1994) e Lorenzi (1992), *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze ocorre naturalmente no Brasil do sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, no Acre e no Brasil Central, sendo da mesma forma encontrada nos países vizinhos Bolívia, Paraguai e Peru. Caracteriza-se como espécie secundária tardia ou clímax exigente de luz, semidecídua no inverno, heliófita ou de luz difusa, seletiva higrófila, compondo florestas clímax.

Espécie de hábito arbóreo, ela pode ser encontrada no Brasil nas seguintes formações florestais: Floresta Ombrófila Densa, ocupando na Floresta Amazônica os estratos arbóreos dominante e co-dominante e, na Floresta Atlântica as formações Das Terras Baixas e Submontana; Floresta de Tabuleiro e Floresta Estacional

Semidecidual, nas formações Submontana onde costuma ser Emergente e Montana; e ainda em Matas Ciliares (CARVALHO, 1994).

Quanto aos aspectos morfológicos a planta pode apresentar entre 35-45 m de altura, diâmetro do tronco entre 90-120 cm (LORENZI, 1992), folhas simples oblongo-elípticas a lanceoladas com filotaxia alterna e flores pequenas (branco-creme) reunidas em racemos axilares solitários (CARVALHO, 1994).

As Lecythidaceae podem ter frutos deiscentes ou indeiscentes. A espécie estudada apresenta fruto deiscente do tipo pixídio, sendo este caracterizado por deiscência transversal, formação de urna e opérculo, pericarpo lenhoso e nos gêneros *Cariniana*, *Couratari* e *Allantoma*, formato cilíndrico (BARROSO et al., 1999).

Quando floresce, no Paraná de outubro a janeiro, os principais vetores de polinização são pequenos insetos, como as abelhas. A frutificação ocorre, no mesmo estado, entre os meses de agosto e outubro. Os frutos e as sementes são dispersos pelo vento, mas os macacos facilitam esta dispersão (CARVALHO, 1994).

Cada fruto produz em média 20 a 35 sementes, possuindo estas coloração castanha, testa expandida em asa membranácea com até 4 cm de comprimento e núcleo basal com aproximadamente 1,2 cm de comprimento e 0,6 cm de largura (CARVALHO, 1994). A germinação é epígea e abundante nas primeiras semanas da colheita (95%), iniciando entre 6 e 70 dias após a sementeira. A emergência ocorre em 12 a 25 dias (LORENZI, 1992; CARVALHO, 1994).

Na literatura foram encontradas várias utilidades para esta espécie, dentre elas Lorenzi (1992) destacou as atribuições de sua madeira, e sua importância ornamental e ecológica. O autor afirmou que as sementes são muito consumidas por macacos, o que é confirmado pelo trabalho de Oliveira-Filho & Galetti (1996), e que esta planta é indispensável para reflorestamentos heterogêneos com fins ecológicos.

2.2 Germinação de sementes

Do ponto de vista fisiológico, o termo germinação denota fenômeno biológico de retomada do crescimento do eixo embrionário que, nas sementes ortodoxas, fora

interrompido por ocasião da maturidade fisiológica e que tem como consequência o rompimento do tegumento pela radícula (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; LABOURIAU, 1983).

Os tecnólogos de sementes, entretanto, reconhecem a semente como germinada apenas após ter formado plântula com tamanho suficiente para que se possa avaliar a normalidade de suas partes e a sua possibilidade de sobrevivência sob condições favoráveis de campo (BRASIL, 1992).

Malavasi (1988) sintetizou o processo de germinação nos seguintes eventos: embebição, ativação de enzimas, iniciação do crescimento do embrião, rompimento do tegumento, emergência e estabelecimento da plântula. Segundo a mesma autora o processo é influenciado por fatores externos e internos à semente.

2.2.1 Fatores intrínsecos e ambientais

A germinação é um processo que tem seu funcionamento dependente de diversos fatores internos e externos à semente, tais como: água, temperatura, luz, oxigênio, substrato, maturidade fisiológica, dormência, longevidade, viabilidade, entre outros (MALAVASI, 1988; TOLEDO & MARCOS FILHO, 1997; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

2.2.1.1 Água e embebição

Dentre os fatores necessários às sementes para que ocorra a germinação, a água é considerada como essencial (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

No encerramento do desenvolvimento das sementes ditas ortodoxas, para atingirem a maturidade fisiológica, estas passam por uma etapa de “secagem ou dessecação da maturação”, sendo o conteúdo de água no momento da dispersão da planta-mãe, cerca de 5 a 10% de seu peso fresco (CASTRO et al., 2004).

As atividades metabólicas das sementes sob condições de baixo teor de água são reduzidas. Para que ocorra a reativação das atividades metabólicas, a semente precisa absorver água do meio. Contudo, em muitas espécies, a testa e/ou tegumentos são impermeáveis impedindo a absorção até que tal resistência seja superada ou pela exposição ao tempo, ou por ação biológica (CASTRO et al., 2004).

Por outro lado, algumas sementes quando em contato com a água sofrem rápida hidratação, o que permite afirmar que a taxa inicial de embebição pode variar muito, sendo dependente de características da testa e/ou pericarpo que cerca o embrião (CASTRO et al., 2004).

A absorção de água acarreta na reidratação dos tecidos, na intensificação da respiração e de outras atividades metabólicas, o que resulta no fornecimento de energia e nutrientes para a retomada do crescimento do eixo embrionário. Além disso, outro papel atribuído à absorção de água é o aumento do volume da semente o que provoca o rompimento da casca, facilitando, conseqüentemente, a emergência do eixo hipocótilo-radícula (ou outra estrutura) do interior da semente (MALAVASI, 1988; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

Quando a embebição de sementes inicialmente secas é monitorada, geralmente observa-se um padrão típico trifásico de absorção de água e hidratação (BEWLEY & BLACK, 1994).

A Fase I foi descrita por Carvalho & Nakagawa (2000), Marcos Filho (2005), Castro et al. (2004) como uma fase de relativamente curta duração e que é direcionada pelo potencial matricial dos diversos tecidos da semente. Por não ser dependente da atividade metabólica da semente, a embebição, durante esta fase, pode ocorrer em condições anaeróbicas, de baixas temperaturas (de maneira lenta), em sementes viáveis, dormentes, em tecidos vivos ou não.

Esta primeira fase é marcada pelos primeiros sinais da reativação do metabolismo, com aumento acentuado da atividade respiratória e liberação de energia para a germinação, bem como pela ativação de enzimas e síntese de proteínas a partir do RNA_m armazenado ao final do processo de maturação (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005). Ainda, de acordo com Carvalho &

Nakagawa (2000) é nesta fase que há o início da degradação das substâncias de reserva.

Quando todas as matrizes da semente atingem hidratação plena ($\Psi_m = 0$), o Ψ_π passa a ser a força propulsora para a entrada de água na semente, até que seja balanceada pela força de turgor ou Ψ_p ($\Psi_\pi = \Psi_p$), quando as células no interior das sementes não podem mais absorver água porque não podem mais expandir-se. Esta situação refere-se à Fase II da embebição, quando o conteúdo de água da semente geralmente atinge um nível de platô, que se mantém relativamente constante ou aumenta pouco e muito lentamente (CASTRO et al., 2004).

A Fase II caracteriza-se, portanto, pelas reduções da velocidade de hidratação e da intensidade respiratória, bem como pelo transporte ativo das substâncias desdobradas na fase anterior, do tecido de reserva para o tecido meristemático (MARCOS FILHO, 2005; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000).

A ocorrência desta fase, conforme citado por Marcos Filho (2005), varia de acordo com a espécie analisada, e pode ainda, ser necessária para a síntese de enzimas, DNA e RNA_m, exauridos durante a Fase I.

A última fase é alcançada apenas por sementes vivas e não-dormentes, sendo caracterizada pelo aumento, novamente, da absorção de água e intensidade respiratória, bem como, ao nível bioquímico, pela reorganização de substâncias desdobradas na Fase I e transportadas na Fase II em substâncias complexas que irão formar o protoplasma e as paredes celulares, permitindo assim o crescimento do eixo embrionário, o que resulta na protusão da raiz primária (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; MARCOS FILHO, 2005).

2.2.1.2 Temperatura e Substrato

A temperatura interfere no processo tanto no que se refere à germinação total como à velocidade e uniformidade de germinação. Para tanto, este fator atua na velocidade de absorção de água e também nas reações bioquímicas que determinam

todo o processo de germinação (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000; CASTRO et al., 2004).

De acordo com Bewley & Black (1994) a germinação das sementes de cada espécie ocorre sob uma determinada amplitude de temperatura particular, existindo uma temperatura ótima, na qual o processo se realiza mais rápido e eficientemente, e temperaturas máxima e mínima, acima e abaixo das quais as sementes não germinam.

A temperatura ótima e as extremas (máxima e mínima) constituem as temperaturas cardeais para a germinação, variando entre as espécies e em função do grau de maturidade e deterioração das sementes, o que pode dificultar sua determinação exata (MAYER & POLJAKOFF-MAYBER, 1975; POPINIGIS, 1985; CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). O processo como um todo bem como cada estágio do processo apresentam temperaturas cardeais (MALAVASI, 1988).

Para germinação da maioria das sementes, a temperatura ótima localiza-se na faixa de 15 a 30°C, e a temperatura máxima entre 35 e 40°C. Quanto à temperatura mínima, sementes de algumas espécies podem germinar em temperatura próxima do ponto de congelamento (MALAVASI, 1988). Muitas espécies arbóreas tropicais e subtropicais apresentam germinação mais eficiente na faixa de temperatura de 20 a 30°C (BORGES & RENA, 1993).

A distribuição geográfica e ecológica das espécies pode definir os limites de temperatura para a germinação das sementes (PROBERT, 1992, citado por PACHECO et al., 2007). Espécies com ampla distribuição e adaptadas a grandes flutuações de temperatura em seu habitat podem apresentar extensas faixas de temperatura para o início da germinação (LARCHER, 2000).

Carvalho & Nakagawa (2000) apontaram que pode haver resposta germinativa mais favorável para determinadas espécies dependente da condição de exposição à temperatura testada, se constante ou alternada. De acordo com Malavasi (1988), a dependência de temperatura alternada para a germinação é mais freqüente em espécies que não possuem histórico de domesticação, como as espécies florestais, e pode estar associada à dormência das sementes. Entretanto, este regime de temperatura pode também acelerar a germinação de sementes não dormentes.

Para Labouriau (1983) os efeitos da temperatura na germinação podem ser avaliados a partir de mudanças ocasionadas na porcentagem, velocidade e frequência relativa de germinação ao longo do tempo de incubação.

Para a realização do teste de germinação de algumas espécies florestais as RAS (BRASIL, 1992) prescreveram temperaturas constantes de 15°C, 20°C, 25°C e 30°C e alternadas de 20-30°C e 10-30°C. No regime de temperaturas alternadas a temperatura mais baixa deve ser mantida por 16 horas e a mais alta por 8 horas.

Com relação ao substrato, as RAS (BRASIL, 1992) indicaram o uso de quatro tipos: papel, pano, areia e solo. A escolha do substrato, conforme as RAS devem levar em consideração o tamanho da semente, sua exigência de água, sua sensibilidade à luz e a facilidade que este oferece para a realização das contagens e avaliação das plântulas.

De acordo com Popinigis (1985), entre substratos pode haver variação de alguns fatores, tais como: aeração, estrutura, capacidade de retenção de água e grau de infestação de patógenos. O substrato pode, assim, interferir na germinação por fornecer água e oxigênio, além de suporte físico para o desenvolvimento das plântulas. Por este motivo é importante que o mesmo seja mantido uniformemente úmido, mas sem excessos, suprimindo desta forma a quantidade de água necessária para germinação das sementes e evitando o decréscimo da germinação e da viabilidade das sementes pela diminuição da aeração e aumento da incidência de fungos (FIGLIOLIA et al., 1993).

2.3 Qualidade fisiológica de sementes

O termo “qualidade de semente” pode ser definido como um somatório de todos os aspectos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários das sementes que afetam sua capacidade de dar origem a plantas de alta produtividade (POPINIGIS, 1985).

Carneiro (1995) relatou como um dos fatores de importância para o controle da qualidade das sementes a minimização dos danos provocados por doenças na produção de mudas. Quando as sementes são de baixo vigor, velhas, mal beneficiadas

ou armazenadas de forma incorreta, estas apresentam lenta emergência, e devido a essas condições, estão mais dispostas ao surgimento do tombamento na fase pré-emergente.

Com o conhecimento da qualidade das sementes também é possível estimar como as plantas irão se estabelecer no meio. Se, por exemplo, os testes acusam alto vigor das sementes, pode-se esperar emergência e crescimento uniforme, o que facilita o manejo da cultura (MARCOS FILHO, 2005).

A qualidade da semente pode ser avaliada pelo seu potencial fisiológico, que é caracterizado pela germinação (viabilidade), vigor e longevidade da semente. A viabilidade procura determinar se a semente encontra-se viva ou morta e germinável. O vigor representa atributos de qualidade fisiológica, não revelados no teste de germinação, sendo determinado sob condições de estresse ou medindo o declínio de alguma função bioquímica ou fisiológica. A longevidade refere-se ao período de tempo em que a semente permanece viva quando armazenada sob condições ambientais ideais (POPINIGIS, 1985; MARCOS FILHO, 2005).

O potencial fisiológico das sementes pode ser determinado por vários testes, entre eles o teste de tetrazólio e de condutividade elétrica (MARCOS FILHO, 2005; PINÃ-RODRIGUES *et al.*, 2004; CARVALHO & NAKAGAWA; 2000).

Os testes de tetrazólio e de condutividade elétrica são alternativas empregadas para a determinação da viabilidade e vigor de sementes, superando o convencional teste de germinação no quesito rapidez de resultados. Os dois testes foram mais difundidos a partir da década de 60, sendo, portanto, relativamente recentes (MARCOS FILHO, 2005).

Várias classificações para os testes de potencial fisiológico de sementes já foram propostas, mas adotando a classificação de Woodstock (1973) que os divide em testes bioquímicos e fisiológicos, os dois tipos de testes aqui tratados se enquadram na definição de teste bioquímico. Os testes bioquímicos determinam uma reação química ou um processo, como atividade respiratória ou enzimática, que se presume estar relacionada(o) com a capacidade germinativa das sementes. Já nos testes fisiológicos são avaliados aspectos da germinação ou do crescimento da plântula, tanto em

condições favoráveis como quando submetidas a estresse (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000),.

2.3.1 Condutividade elétrica

O princípio deste teste foi inicialmente proposto por Fick & Hibbard, em 1925, quando observaram que a baixa germinação de sementes de capim timóteo estava associada à elevada liberação de solutos durante a embebição. Contudo, Matthews & Bradnock (1967), retomaram o estudo desta idéia e desenvolveram procedimento básico do teste sendo então amplamente disseminado para a aplicação em várias espécies e considerado padronizado para sementes de ervilha (MARCOS FILHO, 2005).

Segundo Popinigis (1985) neste teste a saída de grandes quantidades de eletrólitos das sementes indica que há maior permeabilidade das membranas e, desta forma, que a semente tem menor vigor (maior deterioração).

Marcos Filho (2005) e Vieira & Krzyzanowski (1999) complementaram esta explicação afirmando que as sementes menos vigorosas apresentam menor velocidade de restabelecimento da integridade das membranas celulares durante a embebição, sendo a liberação de solutos em maior quantidade uma consequência deste fato.

A avaliação da condutividade elétrica pode ser realizada de duas formas: condutividade de massa ou *bulk conductivity* e condutividade de cada semente, individualmente. O primeiro sistema é o mais utilizado, e ao contrário do segundo avalia a condutividade pela liberação de eletrólitos de um conjunto de sementes e não de apenas uma (VIEIRA, 1994).

A aplicação do teste consiste, basicamente, em imergir as amostras de sementes (25, 50 ou 75 sementes), previamente pesadas, em recipiente de plástico ou vidro com volume conhecido de água deionizada (25 a 250 ml), a 20 ou 25°C. Após 24h a leitura da condutividade elétrica da solução deve ser feita empregando-se um condutímetro. Os resultados são expressos em $\mu\text{mho.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de sementes ou em

$\mu\text{S/cm/g}$ de sementes (POPINIGIS, 1985; PIÑA-RODRIGUES et al. 2004; MARCOS FILHO, 2005).

A leitura após 24 horas é usada por conveniência da organização das atividades dos laboratórios de análise, mas Vieira & Krzyzanowski (1999) mencionaram a realização de outros trabalhos envolvendo a condutividade elétrica de diferentes espécies onde este período foi reduzido. Esta redução do tempo de embebição para leitura da condutividade elétrica, segundo Custódio (2005), ocorre devido à necessidade de obtenção de respostas mais rápidas.

Alguns fatores, segundo Vieira & Krzyzanowski (1999), podem interferir nos resultados do teste de condutividade elétrica, sendo eles referentes às características da semente e da metodologia.

Quanto às características da semente, são citados os fatores: danos mecânicos ou por inseto; tamanho; genótipo; teor de água; e tratamento químico. Para as características próprias da metodologia são mencionados: número de sementes e de repetição; temperatura de embebição e avaliação; tempo de embebição; entre outros (VIEIRA, 1994; VIEIRA & KRZYKANOWSKI, 1999).

As sementes danificadas causam aumentos significativos na condutividade elétrica de um determinado lote de sementes. Contudo, isso não justifica a escolha das sementes sem danos em trabalhos de rotina dos laboratórios de análise de sementes, uma vez que os danos fazem parte das características do lote de sementes. Todavia, em alguns casos específicos, como pesquisas sobre efeitos de determinados fatores (genótipo, tamanho da semente, teor inicial de água, temperatura de embebição) na condutividade elétrica, para não haver a influência de nenhum outro fator a não ser o estudado, a seleção pode não apenas ser necessária como obrigatória (VIEIRA, 1994; VIEIRA & KRZYKANOWSKI, 1999).

Com relação ao tamanho da semente, Vieira (1994) e Vieira & Krzyzanowski (1999) afirmaram que quanto maior a semente, maior a condutividade, sendo este problema minimizado pela expressão dos resultados com base no peso da amostra avaliada.

Características herdáveis, tal como espessura do tegumento e/ou teor de lignina no tegumento, podem resultar em diferença de vigor entre genótipos,

interferindo, portanto, na condutividade elétrica da amostra (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

O teor de água das sementes é de fundamental importância para a padronização da metodologia deste teste e também para obtenção de resultados uniformes. Vários autores, segundo Vieira & Krzyzanowski (1999), recomendaram ajustar o teor de água das sementes na faixa de 10 a 17%. Em muitas espécies, teor abaixo de 10% causa aumento significativo da condutividade elétrica.

Para solucionar este problema, uma alternativa mencionada por Vieira & Krzyzanowski (1999) seria a uniformização do teor de água dos lotes, antes da avaliação da condutividade elétrica, independente do valor. Uma outra alternativa proposta, seria o uso de um fator de correção para um valor padrão de teor de água.

Loeffler et al. (1988), citados por Vieira & Krzyzanowski (1999), afirmaram que quanto ao número de repetições e de sementes por repetição, entre os resultados de condutividade elétrica há maior variabilidade quando se empregam menor número de repetições e de sementes por repetição, sendo recomendado por alguns autores o uso de quatro repetições de 50 sementes, uma vez que o coeficiente de variação neste caso foi menor.

A temperatura também pode interferir na condutividade elétrica, pois atua na velocidade de embebição e na lixiviação de eletrólitos (em quantidade e velocidade), o que pode ter relação com a alteração na viscosidade da água. A temperatura de embebição e avaliação recomendada é 25°C, pois se aproxima mais daquela verificada normalmente no interior dos laboratórios de análise de sementes (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Quanto ao tempo de embebição, como relatado anteriormente, aconselha-se utilizar para sementes grandes período de 24 horas. Dentre outros motivos justifica-se seu emprego por ser tempo suficiente para serem atingidos os picos máximos de lixiviação dos lotes, independente de seu vigor, o que garante melhor diferenciação dos lotes mesmo que a variação do nível de vigor entre eles seja estreita (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

Outros fatores que podem ainda influenciar na condutividade elétrica são: qualidade e volume de água, tamanho do recipiente durante a embebição, entre outros (VIEIRA, 1994; VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999).

O vigor de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. foi avaliado por Ferreira *et al.* (2004) com o emprego do índice de velocidade de germinação e do teste de condutividade elétrica. Os autores utilizaram para esta última análise cinco repetições de 20 sementes colocadas em copos plásticos (200 ml) contendo 100 ml de água deionizada e então mantidas por 24 horas em câmara de germinação (BOD) à temperatura de 25° C.

Gemaque *et al.* (2005) determinaram a condutividade elétrica de sementes de *Tabebuia impetiginosa* (Mart.), submetidas a secagens lenta ou rápida, com o emprego da mesma metodologia utilizada por Ferreira *et al.* (2004).

Sementes de *Chorisia speciosa* foram submetidas ao teste de condutividade elétrica visando avaliar o efeito do envelhecimento precoce sobre seu vigor. Para tanto foram empregadas quatro repetições de 50 sementes. Estas sementes foram pesadas e acondicionadas em copos plásticos (200 ml), nos quais se adicionaram 75 ml de água deionizada, sendo a seguir levados para uma câmara ajustada à temperatura constante de 20°C, no escuro, durante 24 horas. Após esse período, as amostras foram retiradas, e procedeu-se à leitura da condutividade elétrica (FANTI & PEREZ, 2005).

Santos & Paula (2005), buscando estabelecer metodologia específica para o teste de condutividade elétrica em *Sebastiania commersoniana* (branquilha), utilizaram diversas combinações de tempos de embebição (2, 4, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48 e 72 horas), número de sementes por repetição (25, 50 e 75) e volumes de água deionizada (50, 75 e 100ml). Para todos estes parâmetros foram empregadas quatro repetições de sementes, pesadas em balança eletrônica com precisão de 0,01g e, posteriormente, incubadas em câmara do tipo BOD, à temperatura de 25°C. Após cada período de embebição, a condutividade elétrica foi medida sendo os resultados expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. Para determinar a condutividade elétrica desta espécie os pesquisadores recomendaram o uso de 75 sementes, embebidas em 75ml de água, por 24 horas à temperatura de 25°C.

PINÃ-RODRIGUES *et al.* (2004) afirmaram que a execução deste teste para sementes florestais apresenta problemas devido à necessidade de padronização do volume de água utilizado, tendo em vista que dependendo do tamanho da semente e quantidade de sementes utilizadas um valor determinado pode não ser suficiente para mantê-las sob imersão.

2.3.2 Tetrazólio

O teste de tetrazólio foi desenvolvido por Lakon em 1949, sendo empregado atualmente tanto para estimar a viabilidade como o vigor das sementes. Baseia-se na alteração de coloração dos tecidos vivos das sementes quando em contato com a solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio, o que ocorre devido à atividade de enzimas desidrogenases que atuam no processo de respiração e reduzem o sal para Formazan, uma substância vermelha, insolúvel e estável (ROBERTS, 1974; POPINIGIS, 1985; BRASIL, 1992; MARCOS FILHO, 2005).

Este teste pode ser dividido nas seguintes etapas: preparo das soluções, amostragem, pré-condicionamento das sementes, preparo das sementes, desenvolvimento da coloração, avaliação das sementes e interpretação dos resultados (MARCOS FILHO *et al.*, 1987).

A concentração do sal empregada no teste varia de acordo com a espécie estudada, método de preparo das sementes e permeabilidade do tegumento, sendo mais freqüente, no entanto, o uso das concentrações 0,075%, 0,1%, 0,2%, 0,5% e 1,0%. As menores concentrações são preferíveis, pois além da economia com o sal, que apresenta preço elevado, elas permitem melhor visualização dos distúrbios de coloração dos tecidos e identificação dos diferentes tipos de danos (MARCOS FILHO *et al.*, 1987).

O desenvolvimento de coloração adequada depende também do controle do pH da solução que deve estar entre 6,0 e 8,0 (MARCOS FILHO *et al.*, 1987). De acordo com Piña-Rodrigues & Santos (1988) soluções mais ácidas ou básicas,

dificultam a interpretação dos resultados, pois interferem na velocidade e intensidade de coloração dos tecidos.

A amostra de sementes utilizada no teste deve ser representativa do lote e coletada segundo orientações das RAS. De acordo com as RAS, em cada teste devem ser empregadas duas repetições de 100 ou quatro de 50 sementes (BRASIL, 1992). Piña-Rodrigues & Santos (1988) fizeram recomendações onde apontam variação da confiabilidade do teste, sendo elas: duas repetições de 100 sementes (boa estimativa), duas de 50 ou uma de 100 (informações confiáveis) e, uma repetição de 50 sementes (estimativa aproximada). Marcos Filho et al. (1987) sugerem, da mesma forma, em trabalhos de pesquisa ou análises para fins de identificação o uso de duas repetições de 50 sementes.

A menor amostra exigida no teste de tetrazólio em relação ao de germinação deve-se as condições ambientais às quais são submetidas às sementes, sendo que no primeiro há mais uniformidade e menos prejuízos por microrganismos. Além disso, outro fator que aumenta a precisão dos resultados do teste de tetrazólio é o exame detalhado de cada semente (MARCOS FILHO et al., 1987).

O pré-condicionamento das sementes é realizado no intuito de, ao passarem por embebição em água ou ambiente úmido, as sementes sofrem amolecimento o que ativa o sistema enzimático e facilita a retirada do tegumento ou cortes de preparo, a penetração da solução de tetrazólio e o desenvolvimento de coloração mais nítida e evidente (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988; BRASIL, 1992).

O tempo de permanência em embebição varia de espécie para espécie e a temperatura recomendada durante este período se encontra na faixa de 30°C a 40°C. O desenvolvimento de trincas e a liberação excessiva de exsudados pode ocorrer quando as sementes, principalmente as deterioradas, são submetidas à rápida absorção de água, causando, desta forma, alterações ou maiores dificuldades para interpretação do teste. Por este motivo, alguns autores recomendam o uso de papel mata-borrão umedecido e não que as sementes sejam colocadas diretamente em água (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988).

Dentre os métodos de preparo usados em sementes de algumas espécies, se destacam a punção, o corte e a retirada do tegumento. Todos eles possuem por finalidade facilitar a penetração do tetrazólio. Outras espécies por não possuírem grandes barreiras à difusão do sal, passam por coloração direta, ou seja, logo após o pré-condicionamento são colocadas em contato com a solução de tetrazólio para desenvolvimento da coloração. Este método pode também ser utilizado para prorrogar o período entre início da coloração e avaliação das sementes (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988).

Marcos Filho et al. (1987) afirmaram que a remoção dos tegumentos, mesmo trazendo maior uniformidade e rapidez do desenvolvimento da coloração, tem como desvantagem a possibilidade de alteração dos resultados quando são causados danos ao embrião durante esta remoção.

Para desenvolvimento da coloração, depois do pré-condicionamento e preparo, as sementes devem ser imersas na solução de tetrazólio e mantidas em germinador ou câmara à temperatura de 30°C a 40°C e no escuro, pois a luz pode provocar alteração da coloração da solução levando a erros de interpretação dos resultados (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988).

De acordo com Marcos Filho et al. (1987) a velocidade de coloração é duplicada a cada aumento de 5°C na temperatura ambiente, até o limite de 45°C. A velocidade de coloração também varia entre as sementes de diferentes espécies ou mesmo da mesma amostra, mas em geral a duração deste período situa-se entre 60 e 240 minutos (MARCOS FILHO, 2005).

Quando as sementes atingem a coloração de intensidade normal, dentro do período pré-estabelecido, as mesmas são retiradas da solução de tetrazólio e lavadas em água corrente. Na seqüência, estas devem ser mantidas imersas em água e dentro de refrigerador até a avaliação, período que não pode ultrapassar 24 horas (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988).

Durante a avaliação devem ser considerados principalmente os seguintes aspectos das sementes: cor, turgescência, localização de manchas e lesões/fraturas. Cada semente deve ser examinada individualmente, sendo necessário o conhecimento

morfológico para identificação das áreas vitais (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988).

Tecidos sadios mostram-se túrgidos quando embebidos, além de colorirem de maneira gradual e uniforme. Estes tecidos apresentam coloração vermelha viva. Tecidos em deterioração têm por característica a coloração vermelha intensa, isso devido à maior difusão da solução de tetrazólio através das membranas celulares que já estão comprometidas. Quando expostos ao ar, os tecidos em deterioração perdem sua turgidez mais rapidamente que os sadios ou vigorosos. Finalmente, tecidos mortos, que são geralmente flácidos, por não apresentarem atividade enzimática necessária para a produção de formazan não colorem (FRANÇA NETO et al., 1998).

Quanto às manchas e lesões/fraturas, o avaliador deve observar sua extensão e se as regiões onde ocorrem são vitais (MARCOS FILHO et al., 1987; PIÑA-RODRIGUES & SANTOS, 1988). Para Marcos Filho et al. (1987) as áreas vitais em sementes de leguminosas correspondem a: radícula, hipocótilo, plúmula e região de inserção entre os cotilédones e eixo embrionário. Em gramíneas, para os mesmos autores, a área vital compreende a plúmula, a região central do escutelo, a parte superior da radícula e a região entre plúmula e radícula (onde se encontram as raízes seminais).

Para Marcos Filho et al. (1987) a determinação da viabilidade ou vigor das sementes pode ser realizada, separando-as em classes. Os autores sugeriram oito classes, compreendendo da classe 1 a 5 as sementes viáveis e da 6 a 8 as não viáveis. Quando o analista não possui experiência suficiente foi ainda recomendada à instalação de teste padrão de germinação para comparar resultados e verificar causas de possíveis erros.

Marcos Filho (1999) afirmou que tanto o teste de germinação como o de tetrazólio superestima o potencial fisiológico das sementes, contudo esta superestimativa é ainda maior para o teste de tetrazólio, uma vez que as sementes neste teste estão sob condições ambientais ainda mais favoráveis que no teste de germinação.

Conforme Piña-Rodrigues & Santos (1988) esse teste não tem sido muito utilizado em sementes florestais, mas seu emprego pode ser justificado no fato de que

muitas espécies florestais necessitam de período longo de tempo para germinarem, como é o caso de *Bertholetia excelsa* (Lecythidaceae) que apenas germina depois de um ano, o que torna praticamente impossível a avaliação do potencial fisiológico do lote de sementes através do teste de germinação.

Outras vantagens apontadas por França Neto (1999), além da rápida avaliação da viabilidade e vigor, são: não é afetado por diversas condições que afetam o teste padrão de germinação; exame de cada semente individualmente; identifica diferentes níveis de viabilidade e causas da queda de viabilidade; e o equipamento necessário é simples e barato.

Entretanto, algumas desvantagens também são mencionadas pelo mesmo autor: requer treinamento tanto das estruturas embrionárias da semente como das técnicas de interpretação; é relativamente tedioso; maior número de homem-hora é necessário em relação ao teste de germinação; não mostra a eficácia de tratamentos químicos, nem as injúrias que estes possam causar; e requer do analista capacidade de decisão pelas características do teste (FRANÇA NETO,1999).

Oliveira et al. (2005a) empregaram o teste de tetrazólio para avaliar a qualidade de lotes de sementes de *Peltophorum dubium* (canafístula), sendo os embriões (sementes sem tegumento) imersos em soluções de tetrazólio a 0,07; 0,1 e 0,3% por 150 minutos a 25°C. A concentração 0,1% da solução de tetrazólio por 150 minutos a 25°C foi indicada por eles como mais eficiente para determinação da qualidade de lotes de sementes dessa espécie.

Para *Tabebuia aurea* Oliveira et al. (2006) empregaram a metodologia proposta por Marcos Filho (1999) e Piña-Rodrigues & Santos (1988), onde sementes sem alas foram acondicionadas entre duas folhas de papel-filtro, embebidas em solução de tetrazólio 0,1% e mantidas no escuro durante 24 h, à temperatura de 28°C. As classes obtidas foram: classe 4 – sementes consideradas viáveis, pois apresentaram de 76 a 100% de suas áreas vitais, eixo embrionário e cotilédones, corados de vermelho-carmim-claro, além de turgor dos tecidos e estruturas do embrião desenvolvidas e intactas; classe 3 - sementes de média viabilidade, com índice entre 51 e 75% de suas áreas vitais coradas; classe 2 - baixa viabilidade com índice entre 26 e

50% de suas áreas vitais coradas; e, classe 1 - muito baixa viabilidade, com índice entre 0 e 25% de suas áreas vitais coradas.

Outro exemplo de trabalho empregando o teste em espécie florestal foi realizado por Oliveira et al. (2005b) com as espécies *Tabebuia serratifolia* (ipê-amarelo) e *Tabebuia impetiginosa* (ipê-roxo). Os autores realizaram primeiramente pré-testes para selecionar, por análise visual, as condições mais favoráveis para coloração das sementes das duas espécies em estudo. As concentrações de tetrazólio, tempos de imersão e temperaturas testadas foram, respectivamente: 0,05, 0,07, 0,1, 0,5 e 1%; 6, 12, 18, 24 e 48 horas; 25°C, 30°C e 35°C. Além destes parâmetros, para o ipê-amarelo foram verificadas três condições de preparo das sementes (retirada do tegumento, corte lateral do tegumento e tegumento intacto). A partir dos resultados obtidos no pré-teste, os autores optaram pela metodologia descrita na seqüência.

As sementes foram embebidas em papel umedecido em água por 12 horas. Em seguida as sementes de *T. serratifolia* foram preparadas com a retirada ou corte dos tegumentos e imersas em solução 0,5% de tetrazólio a 30°C por um período de 12, 24 e 48 horas. Já as sementes de *T. impetiginosa* tiveram seu tegumento retirado e foram imersas em solução de 0,07% e 0,1% de tetrazólio a 30°C por um período de 12 horas. As melhores condições para realização do teste para *T. serratifolia* foram pré-condicionamento com retirada do tegumento, solução 0,5% de tetrazólio e período de imersão de 12 horas. Para *T. impetiginosa* a solução de tetrazólio indicada foi de 0,07% e os demais parâmetros foram os mesmos indicados para espécie anterior (OLIVEIRA et al., 2005b).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção de sementes e local de realização dos experimentos

A pesquisa foi realizada no laboratório de Tecnologia de Sementes da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, Campus de Marechal Cândido Rondon – PR, entre o período de outubro de 2006 a julho de 2007.

As sementes foram fornecidas pelo Núcleo de Estações Experimentais - NEE da UNIOESTE, sendo os frutos coletados em setembro de 2006, diretamente de três matrizes localizadas nos municípios de Marechal Cândido Rondon (401 m, 24°32'42"S, 054°02'35"W), Mercedes (375 m de altitude, latitude 24°26'38,2"S e longitude 054°11'27,3"W) e Quatro Pontes (448 m, 24°35'35"S e 054°57'00"W), Paraná. As sementes de tais origens passaram a ser designadas de, respectivamente, Lote 1, Lote 2 e Lote 3.

Após a coleta, os frutos permaneceram em ambiente coberto e ventilado até deiscência das sementes. As sementes foram beneficiadas manualmente com a retirada das alas e armazenadas, durante a realização do trabalho, inicialmente em embalagens plásticas sob condições ambientais não controladas e no período de janeiro a julho de 2007 em embalagens de papel sob condições controladas de temperatura (17 a 20°C) e umidade relativa (32 a 52%), dentro de câmara seca.

3.2 Embebição das sementes

Para determinação da curva de embebição, quatro repetições com aproximadamente 1g de sementes do Lote 1 foram pesadas inicialmente em balança

analítica digital com sensibilidade de 0,1 mg. Na seqüência estas sementes foram acondicionadas em beckers de 100 ml, aos quais se acrescentou 5 ml de água destilada, volume suficiente para cobrir as sementes. A embebição ocorreu em câmara de germinação, tipo BOD, a 25°C e no escuro.

Pesagens subseqüentes foram realizadas após transcorridas 1/2, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 30, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108, 120, 132, 144, 156 e 168 horas, sendo também executadas em balança analítica digital com sensibilidade de 0,1 mg.

Antes de cada pesagem, removeu-se a umidade superficial das sementes com uso de papel absorvente e, posteriormente, as mesmas foram recolocadas em água destilada. Com os valores das porcentagens consecutivas foi calculada a porcentagem de ganho de água em relação ao peso inicial das sementes, a fim de se estabelecer a curva de embebição, utilizando-se o cálculo proposto por Santos et al. (1994):

$$\% \text{ embebição} = \frac{P_f - P_i}{P_i} \times 100$$

Onde:

Pf = Peso final

Pi = Peso inicial

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado, sendo os dados de porcentagem de ganho de água em função do tempo transformados em arco seno raiz quadrada de $x/100$ e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade.

3.3 Caracterização dos Lotes

3.3.1 Teor de água

O teor de água das sementes foi determinado pelo método de estufa a 105 °C ± 3 °C por 24 h, conforme as RAS (BRASIL, 1992), utilizando-se 4 repetições de 2 g de sementes inteiras. Para cada experimentação, procedeu-se nova análise do teor de

água. O cálculo do teor de água foi realizado com base na massa de matéria úmida das sementes.

3.3.2 Massa de 1000 sementes

Como informação adicional à qualidade das sementes para os três lotes, determinou-se a massa de 1000 sementes, mas adaptando a metodologia indicada pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992) à quantidade de sementes disponível, diminuindo assim o número de repetições de 8 para 4, sendo em cada repetição efetuada pesagem de 100 sementes em balança analítica digital com sensibilidade de 0,1 mg.

3.4 Adequação de testes para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze

3.4.1 Teste de germinação

Quatro repetições de 25 sementes, por tratamento, passaram por procedimento fitossanitário em solução de hipoclorito de sódio a 10 % por 10 minutos, sendo na seqüência lavadas com água destilada e semeadas em bandejas plásticas (37 cm x 23 cm x 7 cm) sobre areia (peneirada e autoclavada por 30 minutos a 120°C) e em caixas plásticas do tipo “gerbox” sobre duas folhas de papel filtro autoclavado (120°C por 30 minutos). A quantidade de areia utilizada foi de 4 Kg por bandeja, sendo a mesma embebida com 800 ml de água destilada. O papel filtro foi embebido com 2,5 vezes o seu peso. Nos dois substratos acrescentou-se mais água destilada à medida que se verificou tal necessidade, visando conservar a umidade dos mesmos.

Os tratamentos foram mantidos em BOD nas condições de temperatura 20-30°C alternadas ou 25°C constante e fotoperíodo de 8h luz e 16h escuro, sendo

realizadas avaliações diárias até o 47º dia após semeadura (pois a germinação já estava praticamente estagnada).

Os parâmetros analisados foram emissão de radícula (sendo considerada germinada a semente que apresentasse radícula ≥ 2 mm, segundo Labouriau, 1983), formação de plântulas normais (com todas as estruturas essenciais) e anormais, e ao final do teste, número de sementes deterioradas ou mortas.

Com base nos dados obtidos foram calculados a porcentagem de germinação, a porcentagem de plântulas normais e anormais, a porcentagem de sementes deterioradas ou mortas, a velocidade média de germinação (VM) e o tempo médio de germinação (TM). Os cálculos da porcentagem de germinação, da VM e do TM foram realizados de acordo com Labouriau (1983):

$$G (\%) = (N/A) \times 100$$

Onde: G - é a porcentagem de germinação; N - é o número de sementes germinadas; e A - é o número total de sementes colocadas para germinar;

$$t = \frac{\sum ni * ti}{\sum ntotal} \text{ (dias)}$$

$$v = \frac{1}{t} \text{ (sementes/dia)}$$

Onde : t –refere-se ao tempo médio de germinação em dias; ni – é o número de sementes germinadas num intervalo de tempo; ti – é o intervalo de tempo; ntotal – é o número total de sementes germinadas; v – é a velocidade média de germinação.

O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2 x 3 (dois substratos, duas temperaturas e três lotes de sementes). Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo os dados percentuais transformados em arco seno raiz quadrada de x/100. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey à 5% de significância, sendo utilizado o programa SANEST (ZONTA & MACHADO, 1986).

3.4.2 Condutividade elétrica

Este teste foi realizado em duas etapas, tendo a primeira o objetivo de definir entre os métodos analisados, o mais adequado para a espécie em estudo, e a segunda de avaliar o método então escolhido sobre três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

- Primeira etapa

Nesta etapa foram empregadas sementes de um mesmo lote, sendo, contudo, parte das sementes submetida a envelhecimento acelerado. Para isso, primeiramente pesou-se em balança analítica digital com sensibilidade de 0,1 mg 8 repetições de 2 g e outras 8 repetições de 4 g de sementes, com teor de água próximo a 8%. Estas sementes foram distribuídas sobre tela plástica em caixas plásticas do tipo “gerbox”, dentro das quais, e sob a tela, foram colocados 40 ml de água destilada. Em seguida, as caixas foram tampadas e levadas à câmara de germinação, tipo BOD, previamente regulada para temperatura constante de 42°C, onde foram mantidas durante período de 72 horas (MARCOS FILHO, 2005).

O delineamento adotado para todos os experimentos desta etapa, analisados separadamente, foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x12 (dois lotes de sementes – envelhecidas ou não, e 12 períodos de embebição – 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 36, 48 e 60 horas), totalizando 24 tratamentos por experimento com 4 repetições cada. Os resultados da condutividade elétrica, expressos em $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$, foram submetidos à análise de variância e as médias, transformadas em \sqrt{X} , foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984).

Os procedimentos e diferencial de cada experimento estão detalhados na seqüência, cabendo observar que em cada um houve combinação distinta da quantidade de sementes e volume de água deionizada.

Experimento 1: 2g e 50ml

O primeiro experimento desta etapa, consistiu em utilizar 50ml como volume de água deionizada por repetição, que foi acondicionado em becker de 100ml, e 2g de sementes, envelhecidas ou não. As sementes foram colocadas para embeber neste

volume, durante 60 horas, sendo efetuadas leituras da condutividade elétrica em 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 36, 48 e 60 horas, com aparelho portátil Lutron, modelo 4303.

Experimento 2: 2g e 75ml

Neste experimento, testou-se a mesma quantidade de sementes do anterior (2g de sementes envelhecidas ou não), modificando-se o volume de água, que aumentou de 50 para 75ml de água deionizada. As leituras da condutividade elétrica foram realizadas da maneira descrita no experimento 1.

Experimento 3: 4g e 50ml

No experimento 3 analisou-se a condutividade elétrica a partir da conjunção de 4 g de sementes (envelhecidas ou não) com o volume de 50 ml de água deionizada. Todos os demais procedimentos foram idênticos aos descritos acima.

Experimento 4: 4g e 75ml

Da mesma forma que no experimento 3, utilizou-se neste experimento 4g de sementes mas para o volume conhecido de 75 ml de água deionizada. Os demais procedimentos estão de acordo com os experimentos anteriores.

- Segunda etapa

Visto tratar-se de espécie florestal, a disponibilidade de sementes geralmente é pequena sendo necessário reduzir, quando possível, à quantidade de sementes nos testes realizados. Desta forma, a aplicação do primeiro experimento foi escolhida para esta segunda etapa, pois também apresentou resultados satisfatórios e com menor quantidade de sementes (2g).

Assim, quatro repetições de 2g de sementes por lote foram pesadas em balança eletrônica com precisão de 0,01g sendo posteriormente colocadas em beakers de 100ml com 50ml de água deionizada e incubadas em câmara do tipo BOD, à temperatura de 25°C, sem luminosidade. Após cada período de embebição (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 24, 36 e 48h) a condutividade elétrica foi medida em condutímetro Lutron, modelo 4303.

Nos experimentos 1 e 4 da primeira etapa ficou evidente que a partir de 12 horas não há mais variação significativa da condutividade elétrica. Por este motivo optou-se por aumentar o número de períodos de embebição anterior às 12h e também aumentar o intervalo de tempo entre as leituras posteriores a este período.

Os dados de condutividade elétrica foram analisados seguindo o delineamento inteiramente casualizado, e em esquema fatorial 3x13 (3 lotes e 13 períodos de embebição), sendo submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade utilizando o programa SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984).

3.4.3 Tetrazólio

Inicialmente, um pré-teste foi realizado no intuito de selecionar as condições mais favoráveis para a coloração das sementes de *Cariniana estrellensis*.

Vários períodos de embebição foram testados ficando evidente que a partir de 24 horas já era possível realizar o teste, tanto pela coloração dos embriões quanto pela facilidade de retirada do tegumento. No pré-teste também foi observado o modo de preparo da semente para coloração: sementes intactas (com tegumento e endosperma), sementes sem tegumento, mas com endosperma, sementes com corte longitudinal e sementes sem tegumento e endosperma. Ainda, as concentrações do sal de tetrazólio avaliadas foram 0,075%, 0,1%, 0,175%, 0,25%, 0,5% e 0,75%, nos períodos de 1, 2, 3, 5, 6, 10, 14 e 90 horas. Não foram testadas todas as combinações período de embebição x preparo da semente x concentração de tetrazólio x período de coloração, sendo, por exemplo, os períodos de coloração de 10, 14 e 90 horas testados apenas para a concentração de 0,75% de tetrazólio e em sementes com tegumento.

Para realização definitiva do teste de tetrazólio foi primeiramente determinado o teor de água das sementes pelo método de estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (BRASIL, 1992), utilizando-se 4 repetições de 2g de sementes.

As sementes passaram então por embebição direta em água destilada por 30 horas, estando acondicionadas em beakers de 100 ml e mantidas em câmara de germinação sob temperatura constante de 25°C . Na seqüência, tegumento e endosperma (Figura 1) das sementes foram removidos manualmente com o uso de bisturis, sendo para tanto utilizadas 4 repetições de 20 sementes para cada tratamento, considerando que durante tal preparo algumas sementes poderiam ser perdidas.

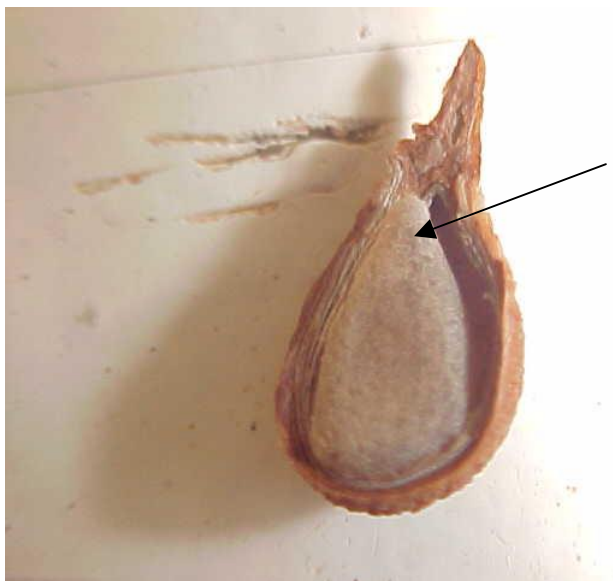


Figura 1 - Tegumento e endosperma (indicado por seta) de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Para o processo de coloração foram utilizadas 4 repetições de 10 sementes (embriões) por tratamento. Os embriões foram acondicionados em beakers de 100ml sendo adicionado volume suficiente da solução de 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio para cobri-los, nas seguintes concentrações: 0,05%, 0,1% e 0,25%. A coloração ocorreu em período de 2, 3, 4 ou 5 horas em câmaras tipo BOD a 35°C, na ausência de luz. Após cada período de coloração, as soluções foram drenadas e os embriões lavados em água corrente, sendo então mantidos imersos em água destilada em ambiente refrigerado até o momento da avaliação.

Cada embrião foi analisado individualmente, externa e internamente, após seccionamento longitudinal através do centro do eixo embrionário, com auxílio de bisturi. Os embriões foram avaliados de acordo com a ocorrência de danos (quanto à profundidade e localização) e condições físicas das estruturas embrionárias (apresentadas na Figura 2). A interpretação foi feita com auxílio de lupa de seis aumentos (6x), com iluminação fluorescente.

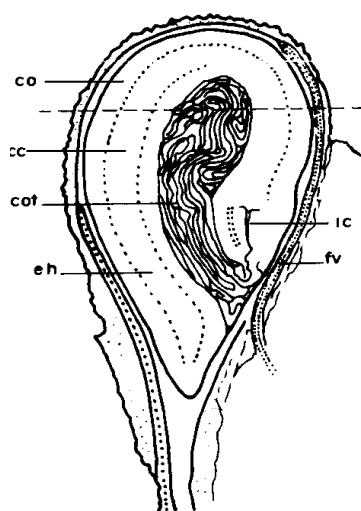


Figura 2 - Morfologia de sementes de *Cariniana estrellensis* (cot = cotilédones; eh = eixo hipocótilo-radícula; cc = cilindro central; co = córtex; ic = região de inserção dos cotilédones).¹

Considerou-se na diferenciação de cores dos tecidos embrionários, os seguintes critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio (DELOUCHE et al., 1976; BHÉRING et al., 1996; e FRANÇA NETO, 1999): vermelho brilhante ou rosa (tecido vivo e vigoroso); vermelho-carmim forte (tecido em deterioração) e branco leitoso ou amarelado (tecido morto).

Para definição das melhores condições de realização do teste foram considerados os aspectos dos tecidos e a intensidade e uniformidade de coloração, sendo a eficiência do teste avaliada pela comparação com os resultados do teste de germinação (FOGAÇA, 2003).

Desta forma, paralelamente ao teste de tetrazólio, foi conduzido teste de germinação, seguindo a metodologia descrita anteriormente utilizando-se substrato sobre papel e temperatura constante da BOD de 25°C. As avaliações realizadas diariamente definiram a porcentagem de germinação por lote, parâmetro utilizado para comparar com os resultados do teste de tetrazólio.

¹Adaptação de: BELTRATI, C.M.; PAOLI, A.A.S.; TIMONI, J.L. Morfologia e anatomia das sementes de *Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze. e de *C. estrellensis* (Raddi) O. Ktze. (Lecytidaceae). *Silvicultura*, v. 16, n. 1, p. 293-300, 1982.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3 x 4 x 3 (três concentrações da solução de tetrazólio, quatro períodos de coloração e três lotes). Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo transformados em arco seno raiz quadrada de $x/100$. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, sendo utilizado o programa SANEST (ZONTA & MACHADO, 1984).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Embebição das sementes

Na ocasião da realização do experimento, as sementes apresentaram teor de água inicial de 9,5%. Com o decorrer das horas, observou-se que as sementes estando imersas absorvem água normalmente do meio, sem haver restrição do tegumento, sendo esta absorção maior até 12 horas, quando as sementes atingem porcentagem de absorção que varia muito pouco e que se estabiliza a partir de 96 horas.

De acordo com a tabela. 1, até 12 horas depois do início da embebição, a taxa de absorção de água é de aproximadamente 35%. A partir deste momento, a variação da embebição entre os tempos torna-se cada vez menor atingindo ao final de 168 horas, cerca de 47%, ou seja, 12% a mais que no período inicial de 12 horas. Este valor é pouco significativo tendo em vista que em aproximadamente 7 dias depois houve apenas entrada de água próxima a 2% ao dia.

Desta forma, pode-se afirmar, conforme Castro et al. (2004), que para a espécie em estudo o período até 12 horas refere-se à Fase I da embebição quando tem início e é rápida a absorção de água. A duração observada está de acordo com Marcos Filho (2005) que a descreve como fase de 8 a 16 horas de captação de água, no geral.

O período compreendido entre 12 e 168 horas refere-se à Fase II, quando praticamente não há mais entrada de água. Para Taylor (1997) e Carvalho & Nakagawa (2000), quando sementes cotiledonares atingem teores de água de 35 a 40%, geralmente a absorção se estabiliza ou aumenta muito pouco, como verificado neste trabalho, começando uma fase estacionária, ou Fase II da curva de embebição.

Marcos Filho (2005) acrescentou que a ocorrência e duração da Fase II variam de acordo com a espécie analisada, e que esta se caracteriza tanto pela redução drástica

da velocidade de hidratação e da atividade respiratória, como pela realização de atividades do processo bioquímico preparatório.

Tabela 1 - Médias de porcentagem de absorção de água em relação ao peso inicial de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Tempo (h)	Médias	5%
0,5	12,2134	h
1	15,0106	gh
2	18,8695	fgh
4	22,9399	efg
6	26,3589	def
8	29,7094	cdef
10	31,6494	bcde
12	35,1796	abcd
14	35,0444	abcd
16	35,4624	abcd
18	36,3911	abcd
20	37,0233	abcd
22	38,7352	abc
24	39,0953	abc
30	39,4182	abc
36	40,0352	abc
48	41,1581	abc
60	42,0294	abc
72	43,5246	ab
84	44,2557	ab
96	45,2269	a
108	44,9500	a
120	47,0575	a
132	46,9341	a
144	46,5769	a
156	46,7134	a
168	46,7309	a
C.V.	7,539%	

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

(C.V.) coeficiente de variação

Verifica-se, ainda com base nos dados da Tabela 1, que o período entre 12 e 96 horas, correspondente a Fase II da embebição, pode ser considerado de transição, ocorrendo neste, gradativa redução na porcentagem de absorção de água até alcançar a estabilização em cerca de 45%.

A Figura 3 ilustra a curva obtida com os dados de porcentagem de absorção de água.

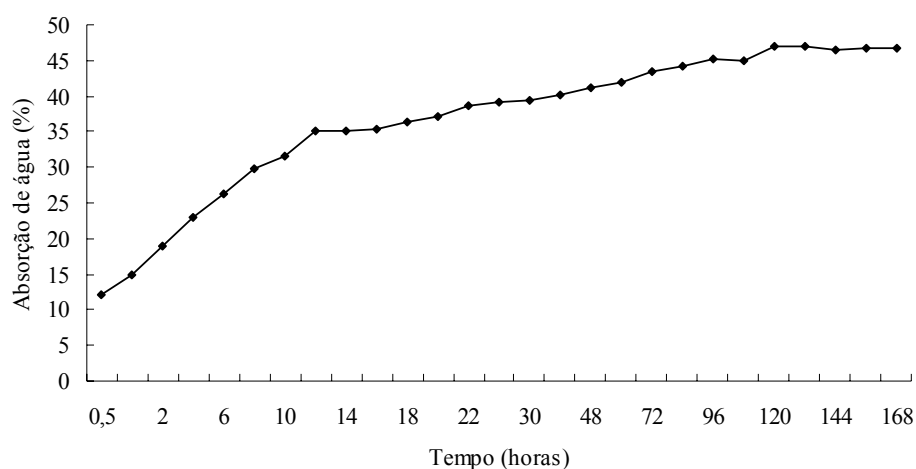


Figura 3 - Curva de embebição de sementes de *Cariniana estrellensis*.

Com base na Figura 3 é possível observar a estabilização da porcentagem de absorção de água a partir de 96 horas de embebição. Após 168 horas poderia ser verificado o início da Fase III, mas como o objetivo do experimento foi apenas de observar se as sementes apresentavam dormência tegumentar, não se estendeu para depois deste período. Contudo, é bem possível, com base nos resultados dos testes de germinação, que a partir deste momento, conforme caracterizam esta fase Carvalho & Nakagawa (2000) e Marcos Filho (2005), reiniciaria a absorção de água e o crescimento do embrião seria retomado com a protusão da raiz primária.

4.2 Caracterização dos lotes

4.2.1 Teor de água

A Tabela 2 apresenta o teor de água inicial para cada lote. Constatou-se que houve diferença significativa entre os lotes, decorrente provavelmente de fatores edafoclimáticos do local de coleta dos frutos; das condições de beneficiamento e armazenamento das sementes; do grau de maturação das sementes; ou ainda, de características genéticas das sementes (por exemplo, diferenças na composição química).

Tabela 2 - Teor de água inicial dos três lotes analisados de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Teor inicial (%)	9,5 B	10,3 A	9,0 C

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4.2.2 Massa de 1000 sementes

Conforme a Tabela 3, observa-se que houve entre os lotes variação significativa na massa de 1000 sementes, sendo essa maior para o Lote 2, que também apresentou maior teor de água. Assim, parte da massa das sementes deste lote pode ser atribuída a maior quantidade de água presente em suas sementes, o que condiz com as RAS (BRASIL, 1992) que afirmam que esta pode ser influenciada pelo grau de umidade. Entretanto, outros fatores podem ainda interferir na massa das sementes, como o espessamento do tegumento em função de características edafoclimáticas da procedência e o tamanho das sementes. Dos três lotes analisados, as menores sementes pertenciam ao Lote 1 e as maiores ao Lote 2, contudo não foi realizada coleta destes parâmetros biométricos.

Tabela 3 - Massa de mil sementes dos três lotes analisados de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

	Lote 1	Lote 2	Lote 3
Massa de mil sementes (g)	5,568 C	8,913 A	7,832 B

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Alves et al. (2005) verificaram que, embora não tenha influenciado a germinação de sementes de *Mimosa caesalpinifolia* Benth., o tamanho das sementes afetou o vigor das mesmas.

Segundo Nakagawa (1994) este fator deve ser considerado nos trabalhos de pesquisa, pois pode interferir nos resultados de vigor de diferentes lotes. Carvalho (1986), citado por Nakagawa (1994), afirmou que sementes menores, por necessitarem de menor quantidade de água, germinam primeiro; por outro lado, sementes maiores, que possuem conteúdo de tecido de reserva maior, originam plântulas de maior tamanho ou peso.

4.3 Adequação de testes para avaliação da viabilidade e vigor de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze

4.3.1 Teste de germinação

As análises de variância para o teste de germinação são apresentadas em Apêndice (Tabela 3A e Tabela 4A).

Em todos os parâmetros analisados, houve efeito significativo do fator substrato. Os resultados foram mais satisfatórios quando se realizou semeadura sobre papel (Figuras 4, 5 e 6).

O fator lote não apresentou efeito significativo apenas para a porcentagem de plântulas normais. O lote 3 mostrou qualidade superior a dos demais nos quesitos

porcentagem de germinação e de sementes mortas, mas apresentou índice de plântulas anormais maior (Figura 7).

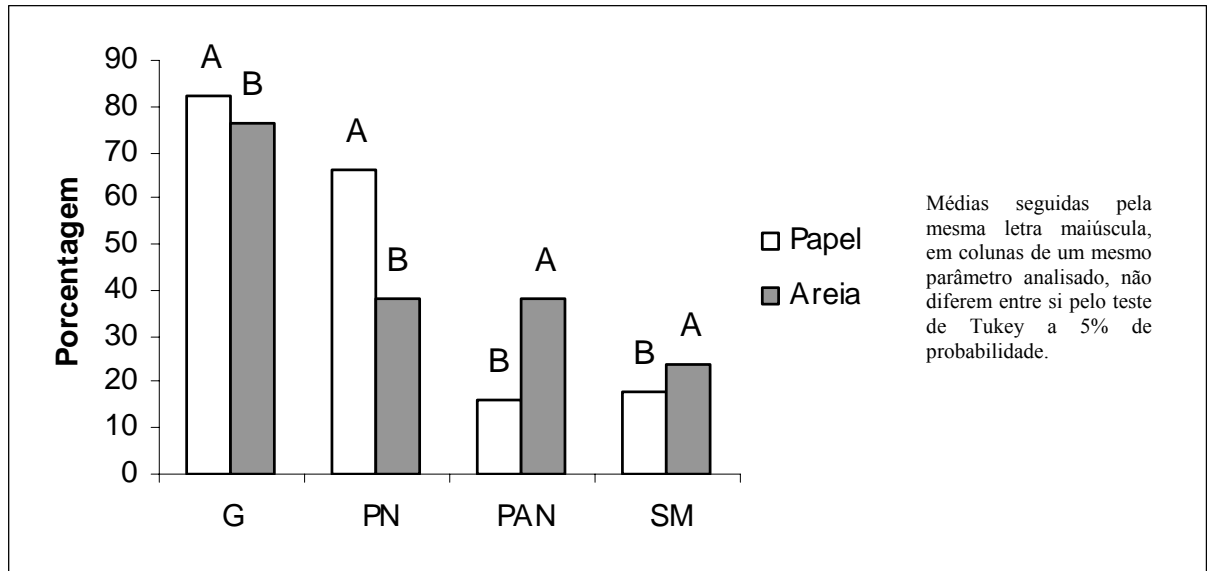


Figura 4 - Efeito de diferentes substratos sobre porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PAN) e de sementes mortas (SM) em sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Entretanto, com base na interação significativa dos substratos e lotes, esta maior porcentagem de plântulas anormais apenas foi verificada no substrato sobre areia (Tabela 4), havendo possibilidade de influência negativa deste substrato sobre o Lote 3. Em relação à velocidade média e ao tempo médio de germinação, verificou-se diferença significativa entre os lotes 1 e 2, com maior velocidade e menor tempo médio para o primeiro (Figuras 5 e 6).

Quanto à temperatura, observou-se efeito significativo somente na velocidade média e tempo médio de germinação (Figuras 5, 6 e 8), sendo que nestes, a temperatura constante de 25°C proporcionou germinação significativamente melhor que a de 20-30°C, com maior número de sementes germinadas por dia e em menor intervalo de tempo.

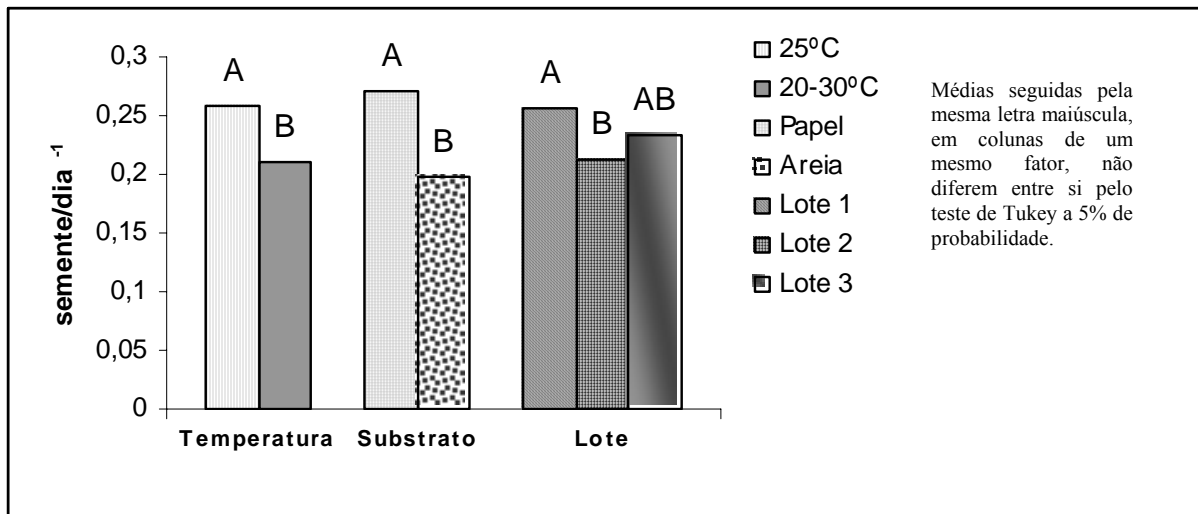


Figura 5 - Velocidade média (semente/dia⁻¹) de germinação de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze submetidas a diferentes temperaturas e substratos.

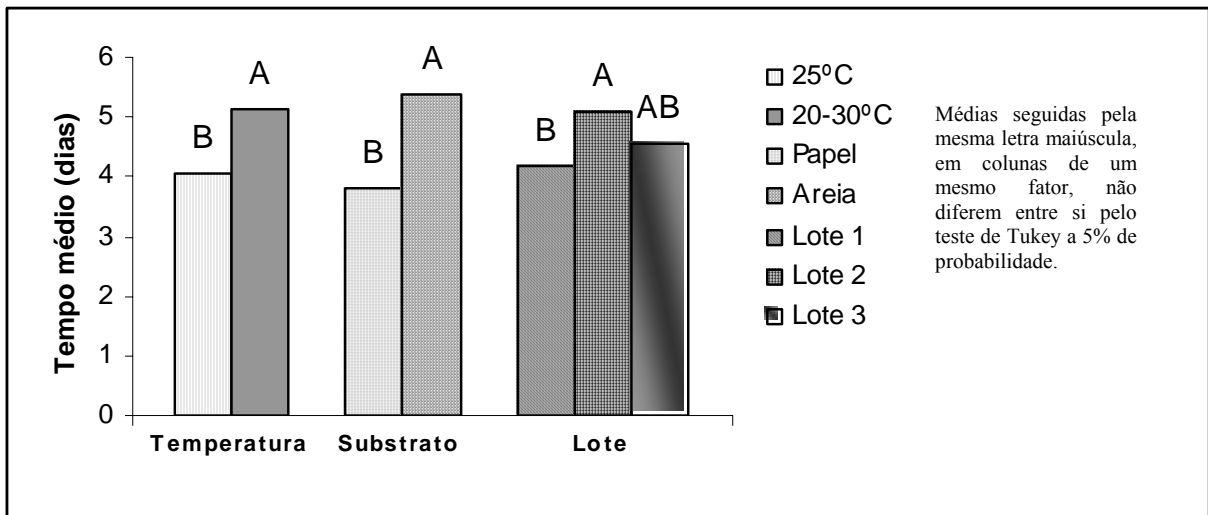


Figura 6 - Tempo médio de germinação de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze submetidas a diferentes temperaturas e substratos.

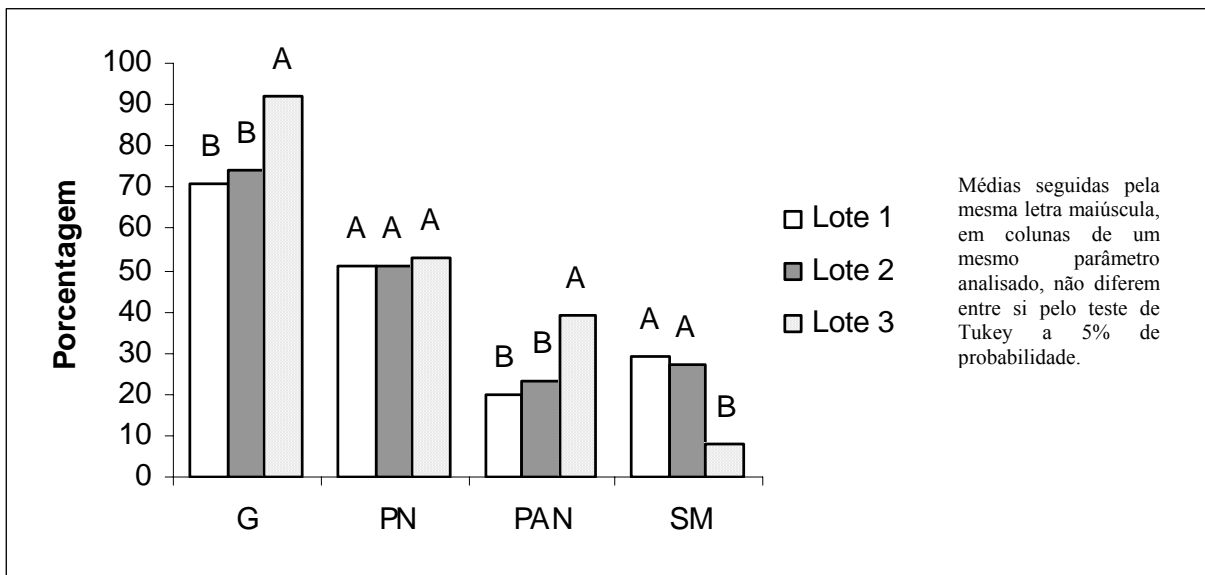


Figura 7 - Porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PAN) e de sementes mortas (SM) de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, em função da procedência do lote.

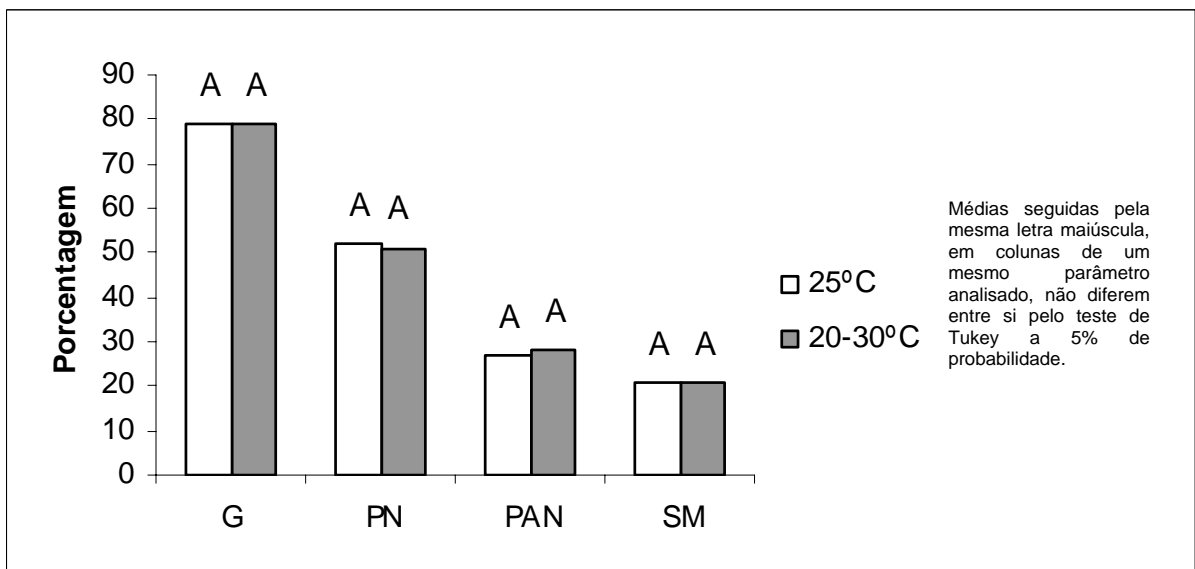


Figura 8 - Efeito de diferentes temperaturas sobre porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PAN) e de sementes mortas (SM) em sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

A única interação significativa observada foi dos fatores lote e substrato nos parâmetros porcentagem de plântulas normais e anormais. Assim, pela interação, a diferença entre lotes na porcentagem de plântulas normais e anormais depende do substrato analisado (Tabelas 4 e 5).

No caso, quando utilizado sobre papel como substrato, não houve diferença entre lotes para a porcentagem de plântulas anormais (Tabela 4), no entanto para a porcentagem de plântulas normais (Tabela 5) o lote 3 apresentou melhores resultados, com valor estatisticamente semelhante ao apresentado pelo lote 2 mas diferente ao do lote 1. Com relação ao substrato sobre areia, ocorreu o contrário. Os lotes responderam estatisticamente da mesma forma à porcentagem de plântulas normais, mas houve diferença significativa na anormalidade de plântulas, sendo esta superior para o lote 3.

Tabela 4 - Porcentagem de plântulas anormais em três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.

Lotes	Temperaturas	Substrato		Médias (Lote)
		Papel	Areia	
Lote 1	25°C	12	25	
	20-30°C	16	26	20 b
	Médias	14 aB	26 bA	
Lote 2	25°C	10	32	
	20-30°C	17	31	23 b
	Médias	14 aB	32 bA	
Lote 3	25°C	18	62	
	20-30°C	24	52	39 a
	Médias	21 aB	57 aA	
Média Geral		16 B	38 A	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 5 - Porcentagem de plântulas normais em três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.

Lotes	Temperaturas	Substrato		Médias (Lote)
		Papel	Areia	
Lote 1	25°C	64	44	51
	20-30°C	56	39	
	Médias	60 bA	42 aB	
Lote 2	25°C	61	41	51
	20-30°C	63	39	
	Médias	62 abA	40 aB	
Lote 3	25°C	75	28	54
	20-30°C	74	36	
	Médias	75 aA	32 aB	
Média Geral		66 A	38 B	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com base na interação, observou-se ainda que todos os lotes apresentaram porcentagens de plântulas normais maior e de anormais menor quando o substrato utilizado foi sobre papel.

Os resultados mais satisfatórios ao substrato sobre papel indicam que este proporcionou de alguma forma vantagens germinativas às sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze. Por tratar-se de um ambiente fechado (em caixas “gerbox”), a umidade do substrato sobre papel foi melhor conservada e desta forma, houve disponibilidade constante de água para as sementes. No substrato areia, e por ser realizada semeadura sobre areia, pode ter havido em algum momento água insuficiente para a germinação das sementes e desenvolvimento adequado das plântulas o que resultou em menor porcentagem de germinação (Tabela 6) e de plântulas normais (Tabela 5) e maior porcentagem de plântulas anormais (Tabela 4) e sementes mortas (Tabela 7), além de acarretar em menor velocidade (Tabela 8) e maior tempo médio de germinação (Tabela 9).

Tabela 6 - Porcentagem de germinação de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.

Lotes	Temperaturas	Substrato		Médias (Lote)
		Papel	Areia	
Lote 1	25°C	76	69	71 b
	20-30°C	72	65	
Lote 2	25°C	71	73	74 b
	20-30°C	80	70	
Lote 3	25°C	93	90	92 a
	20-30°C	98	88	
Médias		82 A	76 B	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 7 - Porcentagem de sementes mortas em três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.

Lotes	Temperaturas	Substrato		Médias (Lote)
		Papel	Areia	
Lote 1	25°C	24	29	29 a
	20-30°C	28	35	
Lote 2	25°C	29	27	27 a
	20-30°C	20	30	
Lote 3	25°C	07	10	8 b
	20-30°C	02	12	
Média Geral		18 B	24 A	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 8 - Velocidade média de germinação (semente/dia⁻¹) de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.

Lotes	Temperatura	Substrato		Médias		Médias Lote
		Papel	Areia	25°C	20-30°C	
Lote 1	25°C	0,3134	0,2572	0,2853	0,2291	0,2572a
	20-30°C	0,2850	0,1731			
Lote 2	25°C	0,2747	0,2096	0,2422	0,1845	0,2133b
	20-30°C	0,2146	0,1544			
Lote 3	25°C	0,2991	0,2013	0,2502	0,2153	0,2327ab
	20-30°C	0,2403	0,1902			
Médias Substrato		0,2712A	0,1976B	----	----	----
Médias Temperatura		----	----	0,2592A	0,2096B	----

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9 - Tempo médio de germinação (dias) de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* submetidas a diferentes condições de temperatura e substrato.

Lotes	Temperatura	Substrato		Médias		Médias Lote
		Papel	Areia	25°C	20-30°C	
Lote 1	25°C	3,2368	3,9529	3,5949	4,7238	4,1593b
	20-30°C	3,5590	5,8885			
Lote 2	25°C	3,7042	4,9007	4,3025	5,8648	5,0836a
	20-30°C	4,7688	6,9607			
Lote 3	25°C	3,4032	5,1917	4,2975	4,8406	4,5690ab
	20-30°C	4,1811	5,5000			
Médias Substrato		3,8089B	5,3991A	----	----	----
Médias Temperatura		----	----	4,0650B	5,1431A	----

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esta explicação também foi dada por Andrade et al. (2006) e por Varela et al. (2005) às melhores respostas germinativas de sementes de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. e *Acosmium nitens* (Vog.) Yakovlev, respectivamente, ambas semeadas sobre substrato vermiculita.

No substrato sobre papel, respostas germinativas positivas também foram encontradas para *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. (NOVEMBRE, 2007).

Segundo Marcos Filho (2005), se depois de iniciada a captação de água pela semente houver carência de água para continuidade do metabolismo, a germinação é paralisada. O restabelecimento do suprimento de água deve ser realizado o mais rápido possível, pois do contrário ocorre a liberação de exsudados, dentre eles os açúcares, o que estimula o desenvolvimento de fungos e prejudica a germinação.

Marcos Filho (2005) ainda acrescenta que à medida que o teor de água do solo (substrato) diminui, verifica-se inicialmente redução da velocidade de germinação; com restrições mais severas a porcentagem de germinação também passa a ser prejudicada.

Quanto às diferenças encontradas na germinação de lotes de procedências distintas, elas podem ocorrer, conforme Wielewicki et al. (2006), devido: 1) a grande variabilidade genética que espécies silvestres em seu estado natural comportam e que resultam em ampla variedade de características morfofisiológicas que, por sua vez, são determinantes no comportamento ecológico dos indivíduos de mesma espécie; 2) distribuição em grande extensão geográfica, sujeitando essas espécies a variações edafoclimáticas em escalas espaciais e temporais; e, 3) manejo de coleta e pós-coleta capaz de influenciar diretamente na qualidade germinativa das sementes.

A temperatura constante de 25°C pode ter sido favorável devido a possível necessidade das sementes a maiores temperaturas, pois no regime alternado de 20-30°C as sementes estavam expostas por período maior de tempo (16 horas) à menor temperatura (20°C). Para Bilia et al. (1995), citados por Carvalho (1994), a maior velocidade de germinação de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze foi encontrada sob a temperatura de 30°C.

Em *Cariniana legalis* (Martius) Kuntze, dentre as temperaturas testadas de 20, 25, 30, 20-30 e 35°C, Rêgo & Possamai (2004) verificaram maior velocidade e porcentagem de germinação sob 30°C e 20-30°C.

Oliveira et al. (1996) recomendaram que em estudos relacionados à metodologia de análise de germinação de sementes florestais sejam incluídas temperaturas alternadas, pois essas simulariam flutuações de temperaturas que ocorrem próximo ao solo, em condições naturais de floresta.

Neste trabalho, os resultados demonstraram que as sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze não necessitam de alternância de temperatura para iniciar o processo germinativo ou acelerá-lo, pois para os dois regimes de temperaturas testados as porcentagens de germinação e de plântulas normais foram estatisticamente semelhantes, além de haver valores superiores de velocidade média e inferiores de tempo médio de germinação para temperatura constante de 25°C.

A alternância de temperatura também não favoreceu a germinação de sementes de *Cedrela odorata* L. (ANDRADE & PEREIRA, 1994) e de *Acacia polyphylla* DC (ARAÚJO NETO et al., 2003), sendo que, da mesma forma que em *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze houve apenas diferença significativa entre 25°C constante e 20-30°C alternada para tempo médio e/ou velocidade de germinação. Para *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (PACHECO et al., 2006) também foram encontrados resultados favoráveis à germinação sob temperatura constante nos quesitos porcentagem de germinação e primeira contagem.

4.3.2 Condutividade elétrica

- Primeira etapa

Todos os experimentos, com exceção do segundo (2g e 75ml), apresentaram resultados satisfatórios para diferenciação de lotes quanto ao vigor das sementes (Tabela 5A e Tabela 10). No experimento 2, a quantidade de sementes (2g) pode ter sido muito pequena para o volume de água utilizado (75ml) o que gerou maior diluição

dos lixiviados no meio diminuindo a condutividade e conseqüentemente interferindo na diferenciação dos lotes.

No experimento 3, a maior quantidade de sementes e menor volume de água empregados no teste (4g e 50 ml) concentrou mais o meio com lixiviados o que possivelmente afetou a variação da condutividade elétrica entre os tempos testados. Houve assim diferença significativa na leitura da condutividade elétrica em intervalos de tempo menores que nos demais experimentos, sendo possível detectar grandes discrepâncias de vigor entre lotes com tempos menores de embebição. A concentração desta relação quantidade de sementes/volume de água poderia ser obtida com o uso de 2g de sementes e 25ml de água, por exemplo, sendo mais uma opção para realização deste teste para a espécie em estudo e com menor gasto de sementes.

Verificou-se, ainda no experimento 3, interação significativa entre os fatores lote e tempo, sendo que nos tempos 4 h e 48 h não houve diferença significativa da condutividade elétrica entre os lotes normal e envelhecido.

Como esperado, e indicado pela Tabela 10, a concentração do meio variou entre os experimentos, apesar de não comparados estatisticamente, com maior condutividade elétrica nos meios mais concentrados, sendo em ordem decrescente maior no experimento 3, 4, 1 e por último 2. Além disso, com exceção do experimento 2, a maior condutividade elétrica foi observada no lote com sementes envelhecidas artificialmente, o que também era esperado.

Apesar dos dados mostrarem que maiores concentrações são mais indicadas para realização do teste de condutividade elétrica para a espécie em estudo, o experimento 1 apresenta uma vantagem entre os demais (3 e 4), a menor quantidade de sementes utilizada. Assim, esse experimento foi escolhido para a segunda etapa do teste de condutividade elétrica.

Tabela 10 - Valores médios ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) da condutividade elétrica de massa, para dois lotes (LN – normal; LEnv – envelhecido artificialmente) de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze em quatro experimentos com combinações distintas de quantidade de sementes e volume de água, em função do tempo de embebição.

Lote	Experimentos											
	2g/50ml			2g/75ml			4g/50ml			4g/75ml		
Hora	LN	LEnv	Média	LN	LEnv	Média	LN	LEnv	Média	LN	LEnv	Média
1	57,7	77,9	67,8 f	37,6	39	38,3h	109gB	154,3fA	131,7h	69,1	127,9	98,5f
2	69,1	91	80,1ef	45	45,1	45,1gh	124,2gB	178,6fA	151,4h	80,9	149,9	115,4ef
4	99,6	116,3	108def	63,6	63,6	63,6fg	172fA	195,5fA	183,8g	108,6	175,4	142def
8	121,2	139,3	130,3cde	79	78,4	78,7ef	190,8fB	324eA	257f	133,1	257,5	195,3cde
12	143,2	152,8	148bcd	92,9	91,9	92,4de	249,3eB	376,5deA	312,9e	153,2	296,8	225bcd
16	158,2	160,5	159,4abcd	101,8	101,7	101,8cde	319,3dB	407cdA	363,2d	163	320,5	241,8bcd
20	175,9	214,6	195,3abc	119,9	117,7	118,8bcd	371,8cdB	446bcdA	408,9cd	202,9	342,5	272,7abc
24	179,9	171,9	175,9abc	125,3	118,1	121,7bc	395bcB	456,8bcA	425,9c	208,6	365,5	287,1abc
28	188	223,8	205,9ab	131,6	126,7	129,2abc	403,3bcB	489,3abA	446,3bc	218,7	403,5	311,1abc
36	193,4	240,7	217,1ab	145,2	138,2	141,7ab	461abB	517,8abA	489,4ab	264,3	408	336,2ab
48	197	253,5	225,3a	154,9	145,2	150,1ab	481aA	525,5abA	503,3a	274	411,8	342,9ab
60	196,3	283,5	239,9a	162	157,9	160a	515aB	571,8aA	543,4a	288,8	449,8	369,3a
Média	148,3B	177,2A	162,8	104,9A	102A	103,5	316B	386,9A	351,4	180,4B	309,1A	244,8

Médias de um mesmo experimento seguidas da mesma letra, maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

- Segunda etapa

Houve efeito significativo dos lotes e tempos de embebição sobre a condutividade elétrica, sendo ainda observada interação significativa desses fatores (Tabela 6A).

Os resultados obtidos na época da montagem desta etapa do teste de condutividade elétrica, referentes ao teor de água, porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação, estão apresentados na Tabela 11. Observa-se que os valores de teor de água são inferiores ao recomendado pela AOSA (1983) para soja (entre 11 e 17%), o que, segundo Loeffler et al. (1988), aumenta significativamente o valor da condutividade elétrica (VIEIRA & KRZYZANOWSKI, 1999). Contudo, Marques (2001) em seu estudo com sementes de *Dalbergia nigra*, considerou que o teor de água, que variou de 9,4% a 10,6%, não afetou os resultados do teste.

Embora os teores de água dos lotes analisados tenham sido inferiores aos do trabalho de Marques (2001), a variação entre eles foi menor, um fator positivo na análise de condutividade elétrica. Mesmo assim, houve diferença significativa entre os lotes 1 e 3 tendo eles, respectivamente, o maior e o menor teor de água. Apesar do teor de água ser menor para o lote 3, a condutividade elétrica foi maior para o lote 1, demonstrando não haver interferência deste fator na realização do teste.

Tabela 11 - Teor de água (TA), germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Lote	TA (%)	G (%)	IVG
1	8,5 A	53 B	0,77 B
2	8,3 AB	32 B	0,45 B
3	8,1 B	90 A	1,17 A
CV (%)	1,48	16,90	25,14

Médias seguidas por uma mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados apresentados na Tabela 11 para porcentagem de germinação e índice de velocidade de germinação (IVG) indicam que o lote 3 é o que possui melhor qualidade fisiológica e que entre os lotes 1 e 2 não há diferença significativa.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 12, o experimento escolhido para realização desta segunda etapa do teste de condutividade elétrica obteve resultados de certa forma satisfatórios para diferenciação dos lotes quanto ao vigor. Nos primeiros períodos de embebição já é possível distinguir os lotes 1 e 3, sendo a condutividade elétrica maior para o lote menos vigoroso (Lote 1). Contudo, nos períodos compreendidos entre 1 e 48 horas de embebição, os lotes 2 e 3 apresentam vigor estatisticamente semelhante, o que difere dos resultados de porcentagem de germinação e IVG.

Para Bonner et al. (1994), utilizar apenas dados de teste de germinação para discriminar lotes de sementes não é adequado, pois a queda na germinação é um dos últimos eventos que ocorrem no declínio da qualidade fisiológica de sementes. Desta forma, segundo eles, resultados semelhantes de porcentagem de germinação podem esconder qualidades fisiológicas distintas.

Conforme Marcos Filho (2005), em sementes de alto vigor a reestruturação das membranas ocorre mais rapidamente o que acarreta em diminuição da liberação de exsudados, até que essa praticamente cesse. Verificou-se que no Lote 3 a condutividade elétrica foi estatisticamente semelhante a partir de 7 horas de embebição o que aconteceu para os lotes 1 e 2 somente a partir de 24 horas, indicando qualidade inferior das sementes desses lotes.

Considerando o exposto acima, é possível afirmar que o Lote 2, apesar de estatisticamente semelhante ao 1 quanto ao vigor pelo IVG, é mais vigoroso que este e menos vigoroso que o Lote 3 pelo teste de condutividade elétrica, o que apenas é visível a partir de 48 horas de embebição.

Quando os lotes apresentam-se muito discrepantes quanto ao vigor, a condutividade elétrica já é significativamente diferente nos primeiros períodos de embebição, o que pode ser observado na Tabela 12 desde o período 1 hora, onde o lote 1 já mostrava ser o menos vigoroso. Contudo, quando a diferença de vigor entre os lotes não é tão grande, como entre os lotes 2 e 3, é necessário um tempo maior de

embebição para diferenciá-los, o que foi visível para os três lotes somente a partir de 48 horas de embebição, quando provavelmente o sistema de membranas já estava reestruturado para o Lote 3 enquanto que as sementes do Lote 2 ainda estavam perdendo exsudados pelo sistema de membranas. A Figura 8 ilustra esta diferença de vigor pelo aspecto da solução de embebição de cada lote.

Desta forma, o emprego desta metodologia do teste de condutividade elétrica pode ser considerado mais seguro apenas a partir de 48 horas de embebição, quando ficou evidente a diferença de vigor entre os três lotes.

Tabela 12 - Valores médios ($\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$) da condutividade elétrica de massa, para sementes de três lotes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze em cada período de embebição.

Períodos de embebição (h)	Lote		
	1	2	3
0	9,05 hA	4,78 fA	4,03 eA
1	46,08 gA	23,85 efAB	19,25 deB
2	69,55 fgA	38,47 deB	33,42 cdeB
3	80,43 efA	42,40 deB	36,80 cdeB
4	89,95 defA	46,75 deB	41,08 cdB
5	99,08 defA	50,65 deB	44,48 bcdB
6	106,55 cdeA	53,83 cdeB	47,03 bcdB
7	113,30 cdeA	57,95 cdB	50,43 abcdB
8	117,55 cdA	59,48 cdB	51,83 abcdB
12	138,60 bcA	69,68 bcdB	59,23 abcB
24	171,08 abA	84,85 abcB	65,50 abcB
36	181,10 aA	96,18 abB	74,98 abB
48	187,90 aA	114,08 aB	81,50 aC
Média	108,48 A	57,14 B	46,89 C

Médias seguidas da mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

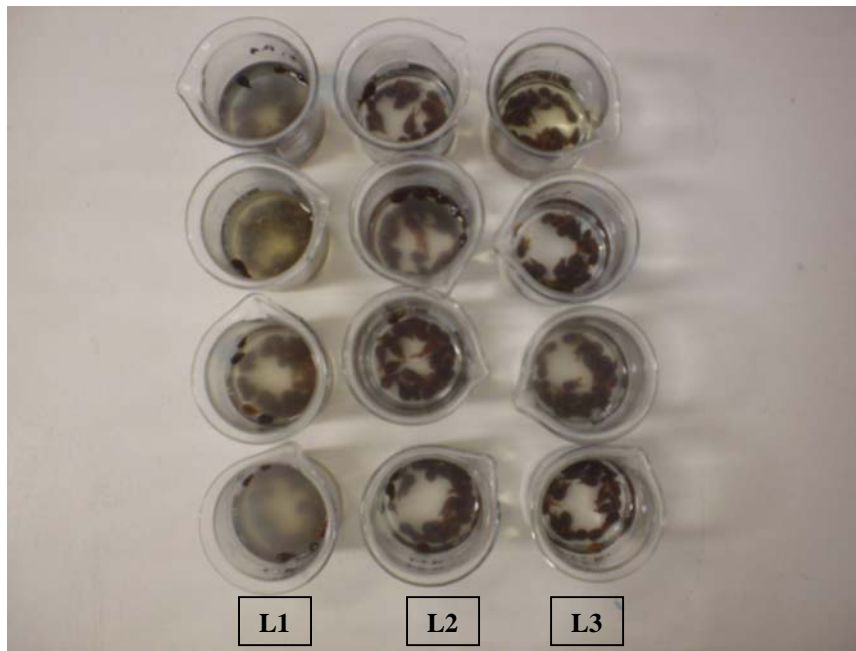


Figura 9 - Aspecto da solução de embebição com as sementes de *Cariniana estrellensis* no teste de condutividade elétrica após 48 horas de embebição.

4.3.3 Tetrazólio

O pré-teste forneceu informações importantes para a realização do teste de tetrazólio definitivo.

O período de embebição escolhido (30 horas) baseou-se na constatação no pré-teste que a partir de 24 horas já era possível obter uma coloração adequada dos tecidos embrionários bem como remover o tegumento com maior facilidade.

Quanto ao preparo das sementes para coloração, verificou-se que mesmo submetendo as sementes à alta concentração de tetrazólio e por período de tempo prolongado (10, 14 e 90 h), sementes com tegumento e endosperma intactos, ou apenas endosperma, não foram coloridas. Sementes com corte longitudinal obtiveram coloração desuniforme e o corte influenciou na coloração, o que poderia dificultar na interpretação dos resultados. Assim, optou-se por remover tanto tegumento quanto endosperma para melhor disseminação do sal de tetrazólio nos tecidos embrionários de sementes de jequitibá-branco e conseqüente uniformidade de coloração.

Para algumas espécies apenas cortes ou punções não são suficientes para a penetração da solução de tetrazólio, sendo necessária à retirada total do tegumento, o que foi observado para sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze neste trabalho assim como por Oliveira et al. (2005) para sementes de ipê-amarelo e de ipê-roxo e por Fogaça et al. (2006) para sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub.

Das concentrações do sal de tetrazólio analisadas no pré-teste, ficaram evidentes semelhanças nas colorações resultantes de concentrações próximas, como 0,075% e 0,1%. As maiores concentrações testadas (0,5% e 0,75%) produziram coloração muito intensa dos tecidos, sendo exceção à produzida pela concentração de 0,5% em período de exposição dos tecidos de 1h. Estas constatações influenciaram na escolha de número menor de concentrações com rejeição das maiores concentrações e maior diferença entre as menores. Além disso, observou-se que para as concentrações escolhidas, períodos curtos de exposição do embrião ao tetrazólio (2 a 4 h) obtiveram bons resultados, o que influenciou na escolha dos períodos de 2, 3, 4 e 5 horas no teste definitivo.

A comparação da porcentagem de viabilidade das sementes obtida através do teste de tetrazólio definitivo com a porcentagem de germinação (Tabela 11) indica que, apesar de superestimar a viabilidade dos lotes devido as condições de execução do teste, o tetrazólio diferenciou-os da mesma forma que o teste de germinação, com qualidade fisiológica superior do Lote 3. Os resultados das diferentes metodologias testadas para coloração das sementes de jequitibá-branco pelo teste de tetrazólio definitivo são apresentados na Tabela 13.

Dos fatores testados (concentração da solução, tempo de coloração e lote) verificou-se apenas efeito significativo do fator lote (Tabela 7A). Assim, independente da concentração de sal de tetrazólio ou do tempo de coloração, a viabilidade foi maior para o Lote 3, o que demonstra que todas as metodologias podem ser utilizadas.

Tabela 13 - Metodologias testadas para emprego do teste de tetrazólio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Concentração da solução (%)	Tempo de coloração (h)	Viabilidade (%)		
		L1	L2	L3
0,05	2	90	73	100
	3	88	63	100
	4	95	78	98
	5	85	78	95
0,1	2	90	73	95
	3	88	83	100
	4	83	85	93
	5	90	73	95
0,25	2	80	75	95
	3	83	83	93
	4	75	80	95
	5	93	70	98
Média		87 B	76 C	96 A

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na prática, maiores concentrações com maior tempo de exposição dos tecidos produziram coloração forte enquanto que concentrações menores da solução de tetrazólio com menor tempo de coloração resultaram em coloração fraca do embrião o que pode dificultar a avaliação da viabilidade dos lotes. Assim, recomenda-se a coloração durante 4 ou 5 horas com concentração de 0,05% de tetrazólio, ou 3 ou 4 horas com concentração de 0,1%, ou 2 ou 3 horas com concentração de 0,25% (Figura 10). Dentre esses, a escolha do método pelo analista pode ser pautada na economia de sal ou na rapidez de coloração das sementes, uma vez que os métodos aqui mencionados apresentaram coloração semelhante.

A menor concentração da solução de tetrazólio aqui testada (0,05%), com período de coloração de 5 horas, também permitiu avaliar com mais eficácia a viabilidade de sementes de guapuruvu que a concentração de 0,1% em igual período de coloração (FERREIRA et al., 2007).

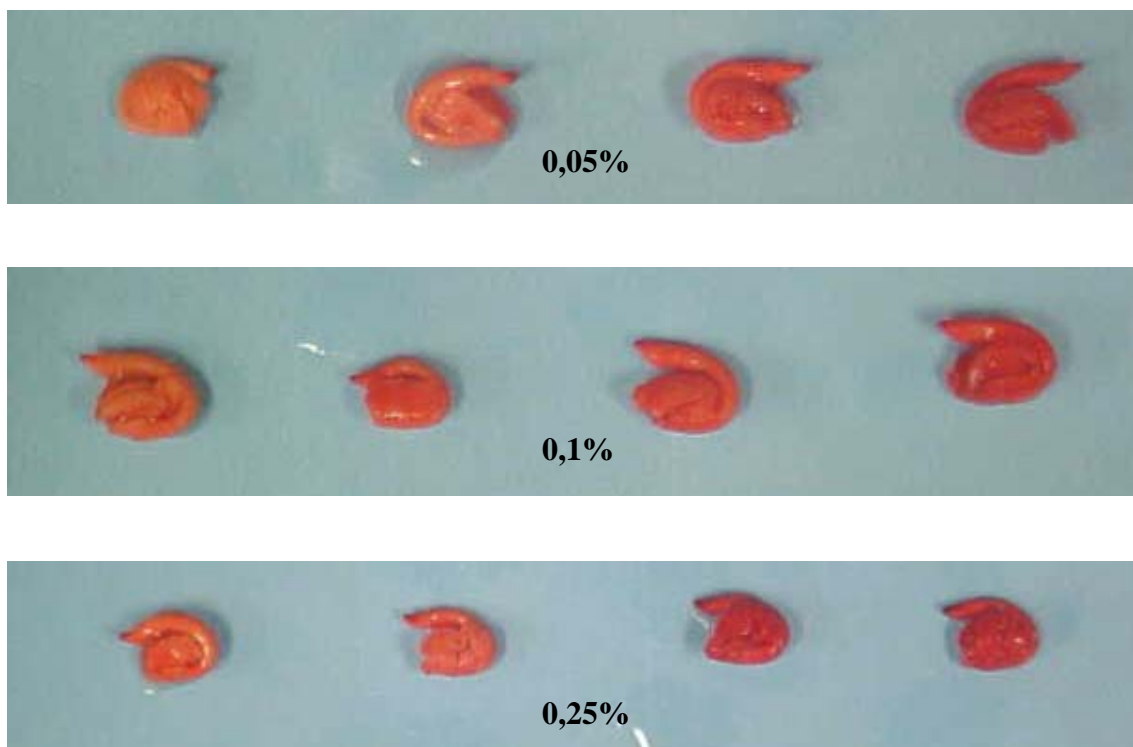


Figura 10 - Sementes viáveis de *C. estrellensis* (Raddi) Kuntze, coloridas em diferentes concentrações de solução de tetrazólio, por períodos de tempo crescente (2, 3, 4 e 5 horas respectivamente).

Na Figura 11, está representada, em diagrama, a classificação dos níveis de viabilidade empregados na definição da viabilidade dos lotes de sementes de *C. estrellensis* (Raddi) Kuntze, conforme descrito a seguir:

Classe 1 – Viável: semente apresentando coloração rósea uniforme e integral, com tecidos de aspecto normal e firme;

Classe 2 – Viável: semente com pequenas áreas nos cotilédones sem coloração ou coloridas mais intensamente, não atingindo regiões vitais;

Classe 3 – Viável: semente com coloração da extremidade da radícula branca leitosa ou vermelha intensa, sem atingir o cilindro central, podendo ainda apresentar pequenas áreas sem coloração nos cotilédones;

Classe 4 – Viável: semente apresentando menos de 50% da região cotiledonar com coloração branca leitosa e, a mesma coloração na extremidade da radícula sem atingir, contudo, o cilindro central; ou, presença de estrias sobre o eixo embrionário

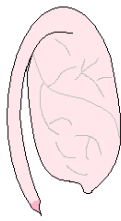
que não atingem o cilindro central; ou, mancha vermelha intensa sobre o eixo embrionário afetando apenas o cortex;

Classe 5 – Inviável: eixo embrionário apresentando coloração vermelha intensa podendo ainda ocorrer tal coloração em parte dos cotilédones;

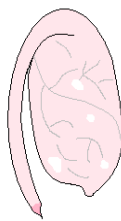
Classe 6 – Inviável: semente apresentando coloração vermelha intensa em toda sua extensão;

Classe 7 – Inviável: semente apresentando cotilédones total ou parcialmente brancos com eixo embrionário de coloração vermelha intensa; ou, eixo embrionário e região vascular com coloração branca e leitosa;

Classe 8 – Inviável: semente com coloração branca e leitosa, amarelada ou acinzentada em sua totalidade, estando os tecidos firmes ou flácidos.



Classe 1



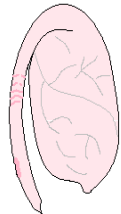
Classe 2



Classe 3



Classe 4



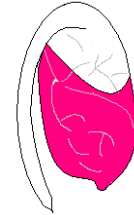
Classe 5



Classe 6



Classe 7



Classe 8



Figura 11 - Representação das classes de viabilidade para sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze: Viáveis (Classes 1 a 4) e Inviáveis (Classes 5 a 8).

A Figura 12 complementa o diagrama acima, pois mostra não esquematicamente, mas o aspecto real de sementes quanto ao estado de viabilidade.

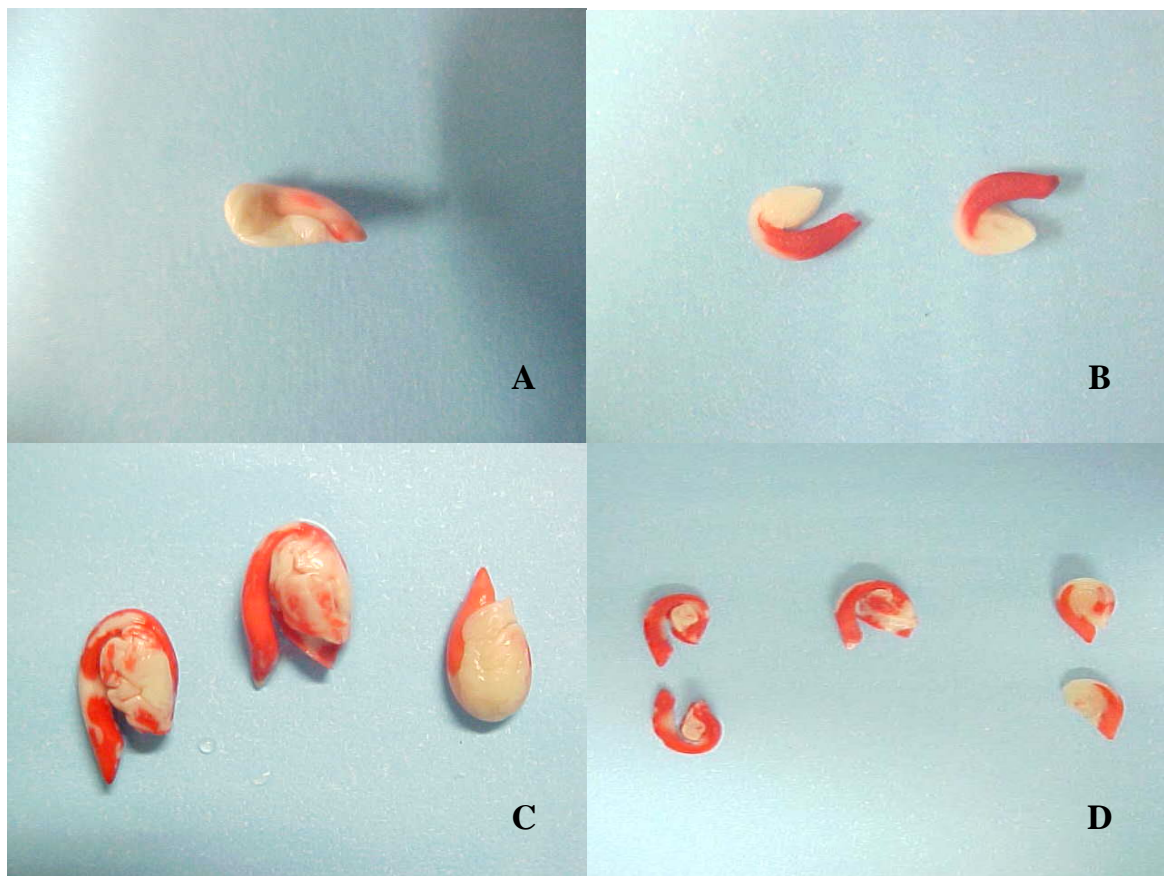


Figura 12 - Alguns danos apresentados pelas sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze depois de coloração em sal de tetrazólio. A: Classe 7 – embrião intacto; B: Classe 7 – embrião em corte longitudinal; C: Classe 5 (dois embriões à esquerda) e Classe 7 (embrião à direita) – intactos; D: Classe 5 (dois embriões à esquerda) e Classe 7 (embrião à direita) – em corte longitudinal.

5 CONCLUSÕES

1. Sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze não apresentam restrição tegumentar à permeabilidade de água, completando a Fase I da embebição com 12 horas.
2. Temperatura constante de 25°C e semeadura sobre papel mostraram-se mais adequadas para condução do teste de germinação.
3. A utilização de 2 g de sementes em 50 ml de água com embebição por 48 horas foi eficiente na classificação dos lotes quanto ao vigor.
4. As concentrações de 0,05% por 4 ou 5 horas, de 0,1% por 3 ou 4 horas e de 0,25% por 2 ou 3 horas permitiram a avaliação da viabilidade, com resultado semelhante ao teste de germinação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, E. U.; BRUNO, R.L.A.; OLIVEIRA, A.P.; ALVES, A.U.; ALVES, A.U.; PAULA, R.C. Influência do tamanho e da procedência de sementes de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. Sobre a germinação e vigor. **Revista Árvore**, v.29, n.6, p.877-885, 2005.

ANDRADE, A.C.S.; PEREIRA, T.S. Efeito do substrato e da temperatura na germinação e no vigor de sementes de cedro – *Cedrela odorata* L. (Meliaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.16, p.34-40, 1994.

ANDRADE, A.C.S.; PEREIRA, T.S.; FERNANDES, M.J.; CRUZ, A.P.M.; CARVALHO, A.S.R. Substrato, temperatura de germinação e desenvolvimento pós-seminal de sementes de *Dalbergia nigra*. **Pesquisa agropecuária brasileira**. v.41, n.3, p.517-523, 2006.

ARAÚJO NETO, J. C.; AGUIAR, I. B.; FERREIRA, VILMA M. Efeito da temperatura e da luz na germinação de sementes de *Acacia polyphylla* DC. **Revista Brasileira de Botânica**, v.26, n.2, p.249-256, 2003.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. v.1. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 1978, 255p.

BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e sementes:** morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: UFV, 1999. 443p.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds:** physiology of development and germination. New York: Plenum Press, 1994. 445 p.

BHÉRING, M. C.; SILVA, R. F.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. N. F. S.; PENA, M. F. **Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio.** Viçosa: UFV, 1996. 27 p.

BONNER, F.T.; VOZZO, J.A.; ELAN, W.W. & LAND-JR., S.B. **Tree seed technology training course:** student outline. New Orleans: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station, 1994. 81p. (General Technical Report, SO-107).

BORGES, E.E.L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I.B.; PIÑARODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B. (Coord.) **Sementes florestais tropicais.** Brasília: ABRATES, 1993. p.83-135.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.

CARNEIRO, J.G. de A. **Produção e controle de qualidade de mudas florestais.** Curitiba: UFPR/FUPEF; Campos: UENF, 1995.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras:** recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. Colombo: Embrapa-CNPQ; Brasília: Embrapa-SPI, 1994. 638p.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p.149-162.

CUSTÓDIO, C.C. Testes rápidos para avaliação do vigor de sementes: uma revisão. **Colloquium Agrariae**, v.1, n.1, 2005, p.29-41.

DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade das sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103 p.

FANTI, S. C.; PEREZ, S. C. J. G. A. Efeitos do envelhecimento precoce no vigor de sementes de *Chorisia speciosa* St. Hil. – Bombacaceae. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.29, n.3, p.345-352, 2005.

FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, L. M. de; CARVALHO, D. de; OLIVEIRA, A. F. de; GEMAQUE, R. C. R. Qualidade fisiológica de sementes de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae Caesalpinioideae) envelhecidas artificialmente. **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, n.1, p. 82-86, jan.-jun., 2004.

FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, L. M.; TONETTI, O. A. O.; DAVIDE, A. C. Comparação da viabilidade de sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake – Leguminosae Caesalpinioideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p.83-89, 2007.

FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M. Análise de sementes. In: AGUIAR, I.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. (coords). **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993, p.137-174.

FOGAÇA, C. A. **Padronização do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de três espécies florestais**. Jaboticabal, 2003. 53p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M .M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p.101-107, 2006.

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA – CNPSo, 1998. 72p.

FRANÇA NETO, J. B. Testes de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J. de B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, 218p.

GEMAQUE, R. C. R. et al. Efeito das secagens lenta e rápida em sementes de ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa* (Mart.) Standl.). **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 4, p. 329-335, 2005.

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

LABOURIAU, L.G. **A germinação de sementes**. Washington: OEA: 1983. 174p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e Textos, 2000. 531p.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

MALAVASI, M. M. Germinação de sementes. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. (coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988. p. 25-40.

MAGNANINI, A.; MAGNANINI, C. Árvores gigantes da terra e as maiores assinaladas no Brasil. **Série Ciência e Pesquisa**, nº. 2. São Paulo: CNRBMA, 2002.

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

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J. de B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999, 218p.

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

MARQUES, M. A. **Teste de condutividade elétrica para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Dalbergia nigra* Fr. Allem. (Jacarandá-da-bahia)**. Jaboticabal, 2001. 74 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 2. ed. Oxford: Pergamon Press, 1975. 192p.

MORAES, J. V. **Morfologia e germinação de sementes de *Poecilanthe parviflora* Bentham (Fabaceae - Faboideae)**. Jaboticabal, 2007. 88p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.49-83.

NOVEMBRE, A.D.L.C.; FARIA, T.C.; PINTO, D.H.V.; CHAMMA, H.M.C.P. Teste de germinação de sementes de sansão-do-campo (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. – Fabaceae-Mimosoideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 47-51, 2007.

OLIVEIRA, A. K. M. DE; SCHLEDER, E. D.; FÁVERO, S. Caracterização morfológica, viabilidade e vigor de sementes de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.30, n.1, p.25-32, 2006.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert Leguminosae Caesalpinioideae. **Cerne**, Lavras, v. 11, n. 2, p. 159-166, abr./jun. 2005a.

OLIVEIRA, L. M.; CARVALHO, M. L. M.; NERY, M. C. Teste de tetrazólio em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. e *T. impetiginosa* (Martius ex A.P. de Candolle) Standley – Bignoniaceae. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n.2, p.169-174, 2005b.

OLIVEIRA, E. C.; PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B. Propostas para a padronização de metodologias em análise de sementes florestais. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 11, n. 1,2,3, p. 1- 42, 1996.

OLIVEIRA-FILHO, A. T.; GALETTI, M. Seed predation of *Cariniana estrellensis* (Lecythidaceae) by black howler monkeys, *Alouatta caraya*. **Journal Primates**, v.37, n.1, 1996.

ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE LAS MADERAS TROPICALES. Estado de la ordenación de los bosques tropicales. **Actualidad Forestal Tropical**, 2006. p.30.

PACHECO, M. V.; MATOS, V. P.; FERREIRA, R. L. C.; FELICIANO, A. L.P.; PINTO, K. M. S. Efeito de temperaturas e substratos na germinação de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Anacardiaceae). **Revista Árvore**, v.30, n.3, p.359-367, 2006.

PACHECO, M.V.; MATOS, V.P.; FERREIRA, R.C.; FELICIANO, A.L.P. Germinação de sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. em função de diferentes substratos e temperaturas. **Scientia Forestalis**, n.73, p.19-25, 2007.

PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (orgs.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; SANTOS, N. R. F. Teste de tetrazólio. In: PINÃ-RODRIGUES, F. C. M. (coord.) **Manual de análise de sementes florestais**. Campinas: Fundação Cargill, 1988.p.32-44.

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

RÊGO, G.M.; POSSAMAI, E. Efeito do substrato e da temperatura sobre a germinação e vigor de sementes do jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*). **Comunicado técnico, 127**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004. 4 p.

ROBERTS, E.H. **Viability of seeds**. London: Chapman and Hall Ltd, 1974, 448 p.

SANTOS, S. R. G.; PAULA, R. C. Teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Sebastiania commersoniana* (Bail) Smith & Downs –Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p.136-145, 2005.

SANTOS, D. S. B.; SANTOS FILHO, B. G.; TORRES, S. B.; FIRMINO, J. L.; SMIDERLE, O. J. Efeito do substrato e profundidade de semeadura na emergência e desenvolvimento de plântulas de sabiá. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 16, n. 1, 1994, p. 50-53.

TAYLOR, A.C. Seed storage, germination and quality. In: WIEN, H.C. (Ed) **The physiological of vegetable crops**. New York, 1997, p.1-36.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. **Manual de sementes: tecnologia e produção**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1977. 224p.

TSOU, C.; MORI, S. A. Seed coat anatomy and its relationship to seed dispersal in subfamily Lecythidoideae of the Lecythidaceae (The Brazil Nut Family). **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v. 43, 2002, p.37-56.

VARELA, V.P.; COSTA, S.S.; RAMOS, M.B.P. Influência da temperatura e do substrato na germinação de sementes de itaubarana (*Acosmium nitens* (Vog.)

Yakovlev) - Leguminosae, Caesalpinoideae. **Acta amazonica**, v.35, n.1, p.35-39, 2005.

VIEIRA; R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA; R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994, p.103-132.

VIEIRA; R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA; R.D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.4.1-4.26.

WIELEWICKI, A.P.; LEONHARDT, C.; SCHLINDWEIN, 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.

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.A. **Sistema de análise estatística para microcomputadores - SANEST**. Pelotas: UFPel, Instituto de Física e Matemática, 1986. 150p.

APÊNDICE

Tabela 1A – Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para embebição de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Causa de variação	GL	Valor F
Tempo	26	20,9056**
Resíduo	81	
Coefficiente de variação		7,539 %

** significativo a 1%.

Tabela 2A - Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para teor de água e massa de mil de três lotes de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Causa de variação	GL	Valor F	
		Teor de água	Massa de mil
Lote	2	25,3598 **	634,1116 **
Resíduo	9		
Coefficiente de variação		1,457 %	1,823 %

** significativo a 1%.

Tabela 3A - Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para porcentagens de germinação (G), de plântulas normais (PN), plântulas anormais (PAN) e sementes mortas (SM) de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, em diferentes lotes, substratos e temperaturas.

Causa de variação	GL	Valor F			
		G	PN	PAN	SM
Lote (L)	2	39,9537 **	0,2350 ^{ns}	17,4864 **	37,9794 **
Substrato (S)	1	9,0785 **	67,6198 **	63,8502 **	8,1302 **
Temperatura (T)	1	0,1899 ^{ns}	0,1465 ^{ns}	0,6146 ^{ns}	0,0959 ^{ns}
L x S	2	1,4508 ^{ns}	5,4579 **	4,9740 *	1,4930 ^{ns}
L x T	2	0,8291 ^{ns}	0,6598 ^{ns}	0,2760 ^{ns}	1,0353 ^{ns}
S x T	1	2,4074 ^{ns}	0,0951 ^{ns}	3,5074 ^{ns}	2,7233 ^{ns}
L x S x T	2	0,6435 ^{ns}	0,3098 ^{ns}	0,3304 ^{ns}	0,4502 ^{ns}
Resíduo	36				
C.V.		9,938 %	15,219 %	20,716 %	25,189 %

** significativo a 1%; * significativo a 5%.

(C.V.) Coeficiente de variação

Tabela 4A - Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para velocidade média (VM) e tempo médio (TM) de germinação de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, em diferentes lotes, substratos e temperaturas.

Causa de variação	GL	Valor F	
		Velocidade média	Tempo médio
Lote	2	4,7249 *	3,3213 *
Substrato	1	39,6870 **	29,3669 **
Temperatura	1	18,0376 **	13,4980 **
Lote x Substrato	2	0,2803 ^{ns}	0,0323 ^{ns}
Lote x Temperatura	2	0,3975 ^{ns}	1,0127 ^{ns}
Substrato x Temperatura	1	0,0021 ^{ns}	1,4764 ^{ns}
Lote x Substrato x Temperatura	2	1,6542 ^{ns}	1,1076 ^{ns}
Resíduo	36		
Coefficiente de variação		17,256 %	22,079 %

** significativo a 1%; * significativo a 5%.

Tabela 5A - Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para condutividade elétrica de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, nos quatro experimentos da primeira etapa.

Causa de variação	GL	Valor F			
		2g/50ml	2g/75ml	4g/50ml	4g/75ml
Lote	1	8,5116 **	0,3054 ^{ns}	168,8408 **	95,4431 **
Tempo	11	16,8135 **	53,9496 **	233,9883 **	16,9993 **
Lote x Tempo	11	0,4476 ^{ns}	0,0606 ^{ns}	3,5937 *	0,2901 ^{ns}
Resíduo	72				
C.V.		13,057 %	8,246 %	4,161 %	13,916 %

** significativo a 1%; * significativo a 5%.

(C.V.) Coeficiente de variação

Tabela 6A - Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos para condutividade elétrica de sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze, na segunda etapa (2g/50ml).

Causa de variação	GL	Valor F
Lote	2	279,2676 **
Tempo	12	69,3449 **
Lote x Tempo	24	5,4062 **
Resíduo	117	
Coefficiente de variação		20,103 %

** significativo a 1%; * significativo a 5%.

Tabela 7A - Análise de variância (Teste F) dos resultados obtidos no teste de tetrazólio para sementes de *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze.

Causa de variação	GL	Valor F
Lote	2	34,0945 **
Tempo	3	0,1050 ^{ns}
Concentração	2	1,0533 ^{ns}
Lote x Tempo	6	0,5713 ^{ns}
Lote x Concentração	4	0,8796 ^{ns}
Tempo x Concentração	6	0,7734 ^{ns}
Lote x Tempo x Concentração	12	0,8362 ^{ns}
Resíduo	108	
Coefficiente de variação		16,772 %

** significativo a 1%; * significativo a 5%.