

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

**PATRÍCIA GIBBERT**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE  
*Myrcianthes pungens* (BERG) LEGR.**

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2018**

**PATRÍCIA GIBBERT**

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E ARMAZENAMENTO DE SEMENTES DE  
*Myrcianthes pungens* (BERG) LEGR.**

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

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>a</sup> Marlene de Matos Malavasi

Co-orientadores: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi

Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ**

**2018**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Gibbert, Patrícia

Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr. / Patrícia Gibbert; orientador(a), Marlene de Matos Malavasi; coorientador(a), Ubirajara Contro Malavasi, coorientador(a)II, João Alexandre Lopes Dranski, 2018. 70 f.

Dissertação (mestrado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2018.

1. Guabiju. 2. Tetrázólio. 3. Armazenamento. I. Malavasi, Marlene de Matos . II. Malavasi, Ubirajara Contro. III. Dranski, João Alexandre Lopes. IV. Título.



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

**PATRÍCIA GIBBERT**

Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestra em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Sistemas de Produção Vegetal Sustentáveis, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - Marlene de Matos Malavasi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Librajara Contro Malavasi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

João Alexandre Lopes Dranski

Faculdade Educacional de Medianeira (FACEMED)

Cristina Fernanda Schneider

Pontifícia Universidade Católica do Paraná - Toledo (PUC-Toledo)

Marechal Cândido Rondon, 2 de maio de 2018

Á minha família e meu namorado que  
sempre me auxiliaram e apoiaram,  
dedico.

## AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, agradeço a Deus, pelo dom da vida, pela saúde e força para completar mais esta etapa da caminhada.

Aos meus pais Luiz e Alice por todo o apoio dado e por não medirem esforços em ajudar no que fosse possível.

Ao meu irmão André, por todo auxílio e apoio prestado sempre que necessário.

Ao meu namorado Anderson, por todo apoio e auxílio, sempre que possível, além da compreensão nos momentos de ausência.

A minha orientadora, Profa. Dra. Marlene de Matos Malavasi, por toda a confiança depositada em mim, por todo incentivo, conhecimento compartilhado. Agradeço também a paciência nos momentos mais difíceis.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi, por todo o conhecimento compartilhado, pelas dicas dadas a fim de melhorar os trabalhos.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski, por todo o conhecimento compartilhado, por toda a paciência e ajuda nos pontos de dificuldade. Agradeço ainda, pela disposição em ajudar a concretizar o teste de respiração e auxílio com o teste de tetrazólio.

A Daiana K. Kaiser por todos os conhecimentos compartilhados e pela ajuda com a padronização do teste de tetrazólio, pela disposição e disponibilidade aos fins de semana.

A banca por todas as contribuições, que foram de grande valia e ajudaram a tornarem o trabalho melhor.

Aos profs. Dr. Vandeir e Dra. Vanda pela permissão em utilizar os equipamentos necessários para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Dr. Marlene, Dr. Ubirajara, Dr. Vandeir, Dr. Edmar, Dra. Fabíola e Dr. Eurides por todo conhecimento repassado durante as aulas.

A todos os funcionários envolvidos na execução do trabalho, bem como os funcionários do PPGA, que sempre foram prestativos.

A CAPES e a UNIOESTE pela concessão da bolsa e oportunidade de estudo e pesquisa

Enfim, a todos que não mediram esforços em ajudar e/ou que compartilharam de seus conhecimentos para que melhoras de execução e escritas pudessem ser realizadas.

## RESUMO

GIBBERT, Patrícia, M.S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, abril –2018. **Qualidade fisiológica e armazenamento de sementes de *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.** Orientador: Profa. Dra. Marlene de Matos Malavasi. Co-orientadores: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi; Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski.

A produção irregular de sementes arbóreas nativas, torna importante a conservação do material genético disponível. *Myrcianthes pungens* (guabiju) possui sementes recalcitrantes, logo o desafio é preservar o potencial fisiológico destas por métodos *ex-situ*. Sabe-se que a redução da eficiência respiratória é um bom indicador do início da deterioração de sementes. A determinação da atividade das desidrogenases (teste de tetrazólio (TZ) e mensuração da atividade respiratória (MAR)) poderão auxiliar na definição das condições adequadas para manter a longevidade das sementes. Objetivou-se padronizar a metodologia do TZ. Adicionalmente, estudou-se o comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de guabiju armazenadas em diferentes embalagens por até 10 meses. Coletou-se sementes em Toledo (M1), Pato Bragado (M2) e Marechal Cândido Rondon (M3). Determinou-se o teor de água (TA). Para padronização do TZ, testou-se preparo e pré-condicionamento das sementes. Testou-se as temperaturas de 30 e 40 °C e concentrações de 0,50, 0,75, 1,00, 1,25 e 1,50% de sal de tetrazólio por 24 horas. Adicionalmente realizou-se o teste de germinação (TG). Para o armazenamento, avaliou-se inicialmente as sementes pelo TA, TG e teste de emergência (TE). Armazenou-se sementes em câmara fria e seca em embalagens de plástico, vidro e papel com TA inicial por zero, dois, quatro, seis, oito e dez meses. Para cada período de armazenamento realizou-se o TA, TG, TZ e MAR. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado e análise não paramétrica de Friedman. Sementes recém colhidas apresentaram 39,4, 40,4 e 39,3% de TA para M1, M2 e M3. Sementes sem embebição e com tegumento não coloriram, as com corte, coloriram excessivamente. As porcentagens de TZ foram similares as do TG. Inicialmente a germinação foi de 92, 86 e 85% e a emergência 82, 84 e 53% para M1, M2 e M3 respectivamente. Durante o armazenamento o TA manteve-se para as sementes armazenadas no vidro e plástico e diminuiu para o papel. A germinação para sementes armazenadas no plástico permaneceu elevada até os dez meses. Para vidro e papel apenas até os dois meses. A porcentagem de sementes mortas e não germinadas, porém viáveis, índice de velocidade e tempo médio de germinação, comprimento e massa de matéria seca de plântulas diminuiram de acordo com o TG para vidro e papel e variaram para plástico. O TZ apontou viabilidade até os

dez, dois e quatro meses para plástico, vidro e papel respectivamente. A MAR para papel aumentou, para vidro diminuiu e para plástico manteve-se com pequenas variações. Deve-se realizar o TZ com pré-condicionamento das sementes sem tegumento por 24 horas seguido de embebição em solução de tetrazólio 0,75% por 24 horas a 30 °C. O plástico foi a melhor embalagem de armazenamento das sementes de guabiju, mantendo a viabilidade e vigor das mesmas pelo período de 10 meses. As demais embalagens, mantiveram a viabilidade e vigor por apenas 2 meses, não sendo recomendada para a espécie.

Palavras-chave: Guabiju. Espécie florestal. Germinação. Vigor. Viabilidade.

## ABSTRACT

GIBBERT, Patrícia, M.S., Universidade Estadual do Oeste do Paraná, april – 2018. **Physiological quality and storage of *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.** Advisor: Profa. Dra. Marlene de Matos Malavasi. Co-Advisors: Prof. Dr. Ubirajara Contro Malavasi; Prof. Dr. João Alexandre Lopes Dranski.

The irregular production of native tree seeds, makes it important to the conservation of the genetic material available. *Myrcianthes pungens* has recalcitrant seeds, then the challenge is to preserve the physiological potential by *ex-situ* methods. It is known that the reduction of respiratory efficiency is a good indicator of the beginning of seed deterioration. The determination of dehydrogenases activity (tetrazolium test (ZT) and measurement of respiratory activity (MRA)) may assist in defining the adequate conditions to maintain the longevity of seeds. The aim was to standardize the ZT methodology. Additionally, the physiological and biochemical behavior of guabiju seeds stored in different packages for up to 10 months was studied. Seeds were collected in Toledo (M1), Pato Bragado (M2) and Marechal Cândido Rondon (M3). The water content (WC) was determined. For ZT standardization, seed preparation and pre-conditioning were tested. The temperatures of 30 and 40 °C and concentrations of 0,50, 0,75, 1,00, 1,25 and 1,50% of tetrazolium salt were tested for 24 hours. In addition, the germination test (GT) was performed. For storage, the seeds were initially evaluated by WC, GT and emergency test (ET). Seeds were stored in cold and dry chamber in plastic, glass and paper containers at initial WC for zero, two, four, six, eight and ten months. For each storage period, the WC, GT, ZT and MRA were carried out. A completely randomized design and non-parametric Friedman analysis were used. Freshly harvested seeds had 39,4, 40,4 and 39,3% WC for M1, M2 and M3. Seeds without imbibition and with tegument did not color, with cut, colored excessively. The percentages of ZT were similar to those of GT. Initially germination was 92, 86 and 85% and emergence 82, 84 and 53% for M1, M2 and M3 respectively. During storage WC kept for seeds stored in glass and plastic and decreased for paper. Germination for seeds stored in the plastic remained high up to ten months. For glass and paper only up to two months. The percentage of dead and non-germinated but viable seeds, speed index and mean germination time, seedling dry mass and mass decreased according to GT for glass and paper and varied for plastic. The ZT indicated viability up to ten, two and four months for plastic, glass and paper respectively. The MRA for paper increased, for glass decreased and for plastic remained with slight variations. The ZT must be performed with pre-

conditioning of the seeds without integument for 24 hours followed by soaking in 0,75% solution of tetrazolium for 24 hours at 30 °C. The plastic was the best storage packaging of the guabiju seeds, maintaining the viability and vigor of the seeds for the period of 10 months. The other packages, maintaining the viability and vigor for only 2 months, and are not recommended for the species.

Keywords: Guabiju. Forest species. Germination. Vigor. Viability.

## SUMÁRIO

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>1</b>     | <b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>2</b>     | <b>REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>8</b>  |
| <b>3</b>     | <b>ARTIGO 1 – PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA<br/>AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE <i>MYRCIANTHES PUNGENS</i><br/>(BERG) LEGR. ....</b>   | <b>12</b> |
| 3.1          | INTRODUÇÃO .....  | 13        |
| 3.2          | MATERIAL E MÉTODOS .....  | 15        |
| 3.3          | RESULTADOS E DISCUSSÕES .....   | 18        |
| 3.4          | CONCLUSÕES .....  | 23        |
| 3.5          | REFERÊNCIAS .....   | 23        |
| <b>4</b>     | <b>ARTIGO 2 - CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE <i>MYRCIANTHES</i><br/><i>PUNGENS</i> (BERG) LEGR. EM DIFERENTES EMBALAGENS EM AMBIENTE<br/>CONTROLADO .....</b> | <b>26</b> |
| 4.1          | INTRODUÇÃO .....  | 27        |
| 4.2          | MATERIAL E MÉTODOS .....  | 29        |
| <b>4.2.1</b> | <b>Armazenamento.....</b>   | <b>31</b> |
| <b>4.2.2</b> | <b>Análise dos dados.....</b>   | <b>32</b> |
| 4.3          | RESULTADOS E DISCUSSÕES .....   | 32        |
| <b>4.3.1</b> | <b>Armazenamento.....</b>   | <b>35</b> |
| 4.4          | CONCLUSÕES .....  | 53        |
| 4.5          | REFERÊNCIAS .....   | 53        |
| <b>5</b>     | <b>CONSIDERAÇÕES GERAIS .....</b>   | <b>59</b> |

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O desmatamento, os cultivos agrícolas e as queimadas vêm contribuindo para a destruição dos habitats e diminuição de espécies arbóreas nativas que se destacam, muitas delas, pela qualidade da madeira (celulose, fibras, polpa e biomassa para produção de energia), uso medicinal e industrial, produção de mel e utilização ornamental e paisagística (SARMENTO; VILLELA, 2010). As ações antrópicas têm gerado risco real de erosão genética e até mesmo extinção de espécies (BATISTA et al., 2012).

Quando a floresta se torna fragmentada ocorre a diminuição no tamanho das populações e, conseqüentemente na sua diversidade genética e no potencial adaptativo das populações arbóreas ali presentes, tornando-as, com este isolamento, potencialmente vulneráveis a eventos ambientais, demográficos e genéticos (BATISTA et al., 2012). Infelizmente, muitas biotas tropicais já sofreram uma severa perda e fragmentação do habitat, de modo que a cobertura da floresta é composta, em sua maioria, por várias manchas de florestas pequenas desconectadas (BRANCALION et al., 2013).

As espécies lenhosas nativas possuem grande relevância ecológica através do reflorestamento e recomposição de áreas ambientalmente degradadas, alimento e refúgio para a fauna silvestre, habitat para epífitas, sequestro de carbono atmosférico, fixação de nitrogênio e ciclagem de matéria orgânica no solo (SARMENTO; VILLELA, 2010). Desta forma, a restauração florestal ativa tem sido cada vez mais importante para conter as tendências atuais (LINDELL et al., 2011).

A fim de amortecer esses impactos ambientais adversos, técnicas eficazes de recuperação florestal são necessárias e o sucesso da implantação requer planejamento cuidadoso, com base em conhecimentos silviculturais e princípios ecológicos, além de que, deve-se selecionar espécies e técnicas adequadas para cada local, visando a restauração a longo prazo (AMARAL et al., 2013).

A conservação da biodiversidade envolve métodos *in-situ* e *ex-situ*, onde a conservação *ex-situ* refere-se à conservação das espécies fora do seu habitat, que pode ser feita por meio de jardins botânicos, fundações botânicas, arboretos, coleções de germoplasma, cultivo *in vitro* e por meio do armazenamento de sementes. Porém, o sucesso do armazenamento de sementes depende do conhecimento sobre o desempenho e a viabilidade das sementes durante este processo, o que possibilita a utilização de condições adequadas para manter a viabilidade (SARMENTO; VILLELA, 2010). Os autores complementaram ainda que o

armazenamento pode se dar em condições de temperatura e umidade baixas, câmara fria e seca, resfriamento em refrigerador, congelamento em freezer ou criopreservação.

A preservação da qualidade de sementes durante a estocagem requer integração de vários fatores, como temperatura, umidade relativa, tipo de embalagem e grau de umidade das sementes. Também, é necessário o conhecimento prévio do comportamento fisiológico das sementes durante a secagem e o armazenamento, visto que, nem todas as sementes são tolerantes a dessecação, exigindo condições especiais de armazenagem (GOMES et al., 2013).

As sementes têm sido classificadas em três categorias quanto ao seu comportamento durante a dessecação e armazenamento: ortodoxas, recalcitrantes e intermediárias (JOSÉ et al., 2012). As sementes ortodoxas mantêm a viabilidade após a secagem até teores de água próximos de 5% e podem ser armazenadas sob baixas temperaturas por longos períodos (MOROZESK et al., 2014).

As sementes recalcitrantes não são capazes de tolerar a perda de água, perdendo sua viabilidade ao atingir 12-31% do teor de água. Essas sementes apresentam metabolismo intenso durante seu desenvolvimento e estágio pós-colheita, e normalmente possuem grandes sementes e frutos que os impedem de morrer por dessecação (MAYRINCK; VAZ; DAVIDE, 2016). As sementes recalcitrantes apresentam também longevidade curta, além de não suportarem armazenamento em temperaturas negativas (OLIVEIRA et al., 2015).

As sementes intermediárias, por sua vez, toleram dessecação parcial em torno de 10-7% de teor de água, e rapidamente perdem a viabilidade quando são armazenadas em baixas temperaturas (MAGISTRALI et al., 2013). A exemplo das espécies recalcitrantes, têm-se as espécies da família Myrtaceae, a qual possui vários exemplares com esta característica, como por exemplo a espécie *Myrcianthes pungens*.

Myrtaceae é uma das grandes famílias de Angiospermas, engloba quase 6 mil espécies de plantas, que por suas características e tributos são incluídas em duas subfamílias – Psiloxylloideae com duas tribos e Myrtoideae com 15 tribos. No Brasil ocorrem quase mil espécies subordinadas a 23 gêneros, o que coloca a família entre as dez com maior riqueza de espécies da flora do país. Myrtaceae está distribuída em todos os domínios fitogeográficos brasileiros, sendo a Floresta Atlântica um dos centros de diversidade de Myrtaceae, onde é a sexta maior família em riqueza de espécies (GIARETTA et al., 2016). No Brasil são conhecidas 1.034 espécies e 23 gêneros (SILVA; MAZINE, 2016).

Segundo Giaretta et al. (2016) e Moraes, Conceição e Nascimento (2014), 795 espécies de Myrtaceae são endêmicas do Brasil, ou seja, só ocorrem no território do país. A família é amplamente reconhecida pela sua importância, visto que, vários gêneros possuem frutos

comestíveis e comercializados, como *Psidium* (goiaba), *Eugenia* (pitanga), *Plinia* (jabuticaba) e *Syzygium* (jambo e jamelão); especiarias como o gênero *Syzygium* (cravo-da-índia) e importantes fontes de madeira e óleos essenciais como *Eucalyptus* e *Corymbia*. Muitas espécies de *Psidium* são empregadas na medicina tradicional contra diarreias, dores de barriga e afecções da garganta, além do potencial ornamental de alguns gêneros como *Callistemon*, *Melaleuca*, *Myrrhiniym* e *Eugenia*. Espécies de Myrtaceae possuem ainda potencial ecológico, como fonte alimentar para a fauna silvestre, sendo utilizadas em programas de restauração ecológica de ecossistemas naturais, como por exemplo a espécie *M. pungens*.

*M. pungens* (Berg) Legr. pertencente à família Myrtaceae é conhecida popularmente por guabiju, guabiroba-açu, guabiraguaçu, guajaraí-da-várzea e guavira-guaçu (LORENZI, 1992). O guabiju é considerado uma espécie pioneira e ocorre desde o estado de São Paulo até o norte do Uruguai, alcançando a Bolívia, Paraguai e Argentina (SANTOS; MARCHIORI, 2009). Atualmente, a espécie encontra-se em risco de extinção (IUCN, 2018). No estado do Paraná a espécie é encontrada mais frequentemente na floresta estacional semidecidual, embora de forma rara (CORDEIRO et al. 2013).

A árvore da espécie (Figura 1a) possui porte médio a grande, podendo atingir até 27 m de altura e 60 cm de D.A.P. (SANTOS; MARCHIORI, 2009). O sistema radicular é do tipo pivotante. O tronco é frequentemente tortuoso com casca lisa, acinzentada, deiscente por pequenas placas que deixam manchas amareladas na superfície do tronco (RASEIRA et al., 2004). A copa da árvore é arredondada e perenifólia. Os ramos jovens são pilosos e com aspecto aveludado. As folhas são simples, opostas, ovaladas, com bordos lisos, base atenuada e com ápice cuspidado terminado por um acúleo. As folhas são verde-escuras, com 3 a 7 cm de comprimento e 1,5 a 5 cm de largura. Os pecíolos são pubescentes e, em média com 0,6 cm de comprimento. A nervação secundária é numerosa e proeminente em ambas faces da epiderme (RASEIRA et al., 2004).

As flores de guabiju possuem 1,5 a 2 cm de diâmetro, partem em tufo, de ramos do ano e de pedúnculos com cerca de 0,7 a 2,0 cm de comprimento. São hermafroditas, claras e muito vistosas. Os estames são numerosos, com filetes brancos e anteras amarelas. A corola é constituída por quatro pétalas livres, branco-esverdeadas, com consistência membranácea e delicada. As pétalas ocupam os espaços entre as sépalas e, na antese total, dobram a face dorsal sobre o cálice. As sépalas são menores que as pétalas, em número de quatro, verde-escuras, subcoriáceas, pubescentes, côncavas, opostas duas a duas, levemente concrecidas na base dando continuidade ao receptáculo floral, este também pubescente, esbranquiçado e ovalado, com cerca de 0,3 cm de altura (RASEIRA et al., 2004).

Os frutos de guabiju (Figura 1b) são bagas globosas, com aspecto aveludado e de forma oblata. O epicarpo passa de verde acastanhado ao marrom avermelhado e, finalmente ao preto. O epicarpo é coriáceo, aderente ao endocarpo. O endocarpo é carnosos e branco amarelado, adocicado, adstringente (e com maior ou menor sensação de pungência), com uma a duas sementes reniformes (Figura 1c) que medem de 6 a 7 mm (SOUZA et al., 2011), lisas, esverdeadas e com tegumento fino (RASEIRA et al., 2004), o embrião é do tipo eugenóide (SANTOS; FERREIRA; ÁQUILA, 2004).

Planta semidecidual, esciófita até mesófita, e seletiva hidrófita, característica das florestas semidecíduas. A planta ocorre de forma isolada e descontínua (rara) nas partes úmidas e rochosas das submatas dos pinhais e nas encostas rochosas das formações abertas da bacia do rio Uruguai. Produz anualmente grande quantidade de sementes, amplamente disseminadas pela avifauna (LORENZI, 1992).

A madeira de guabiju é pesada, muito elástica, grã-fina, compacta e de longa durabilidade natural. A madeira é própria para marcenaria de luxo, obras de torno, construção civil, cabos de ferramentas e de instrumentos agrícolas. Seus frutos são comestíveis e muito saborosos, podendo ser utilizada em compostos de bebidas (licores, sucos), geleias, doces, sorvetes, picolés, condimentos, dentre outros (SOUZA et al., 2011), além de ser um fruto muito apreciado por pássaros; é cultivada em pomares domésticos, principalmente nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. As flores são melíferas. A árvore é ornamental e pode ser empregada na arborização urbana e rural. É também recomendada para plantios mistos destinados a recuperação de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992; FIOR et al., 2010).

A planta de guabiju floresce durante os meses de outubro-novembro e os frutos amadurecem em janeiro-fevereiro. Os frutos devem ser colhidos diretamente da árvore, quando iniciarem queda espontânea, ou recolhê-los no chão após a queda. Em seguida, deixá-los amontoados por alguns dias e despulpá-los manualmente em água corrente dentro de uma peneira. Um quilograma de sementes de guabiju contém aproximadamente 4 mil unidades, tendo sua viabilidade muito curta (LORENZI, 1992), sendo classificadas como recalitrantes (MOROZESK et al., 2014).

As sementes devem ser colocadas para germinar logo que colhidas. A emergência das sementes ocorre em 30-40 dias e a germinação geralmente é superior a 50%. O desenvolvimento das mudas é lento (LORENZI, 1992). A espécie possui germinação do tipo hipógea criptocotiledonar (Figura 1d) (SANTOS; FERREIRA; ÁQUILA, 2004).

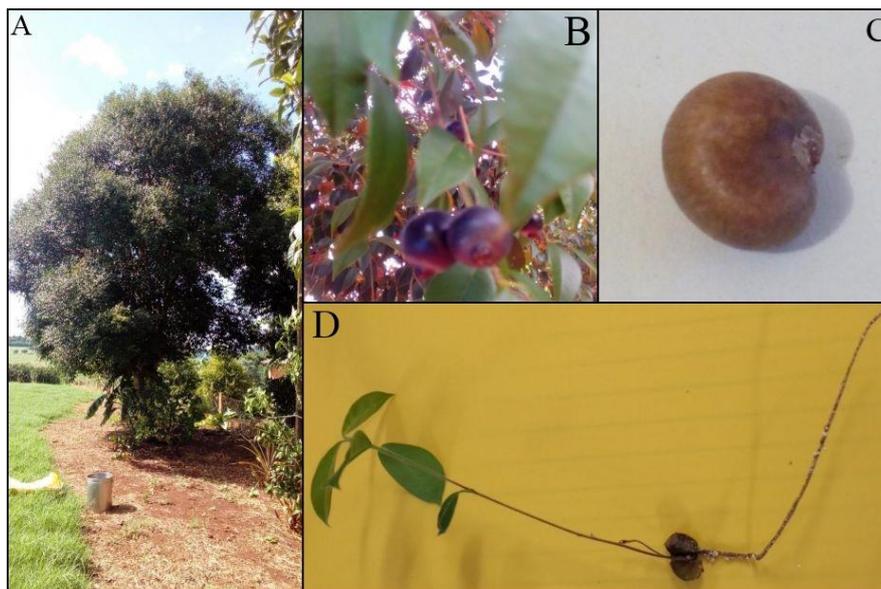


Figura 1 – Árvore (a), frutos (b), semente (c) e plântula normal na germinação hipógea criptocotiledonar (d) de *Myrcianthes pungens*. Fonte: Acervo pessoal.

Tendo em vista que, existem variações individuais entre árvores da mesma espécie, devido a influências ambientais durante o desenvolvimento das sementes, e a variabilidade genética (SANTOS; MARCHIORI, 2009), torna-se importante o estudo envolvendo diferentes locais de coleta, o que possibilita observar o comportamento dos mesmos. A importância de se trabalhar com frutos e sementes oriundos de diferentes localizações geográficas consiste em verificar as diferenças fenotípicas determinadas pelas variações ambientais, ou seja, sementes da mesma espécie estão sujeitas a variações de temperatura, comprimento do dia, pluviosidade e outras variáveis que ressaltam certos aspectos da composição genética das sementes (BOTEZELLI; DAVIDE; MALAVASI, 2000).

Visto que, muitas espécies lenhosas possuem produção irregular de sementes, sendo abundante em um ano e escassa em outros (GRUNENVALDT; CANTARELLI; SALAMONI, 2014), o armazenamento tem sido uma saída encontrada para conservá-las até sua utilização. A conservação das sementes é de grande importância e tem a função básica de manter as qualidades física, fisiológica e sanitária, preservando sua viabilidade para obtenção de plantas saudáveis (PINTO JUNIOR et al., 2012). A qualidade das sementes não pode ser melhorada durante o armazenamento, porém, pode ser preservada, utilizando-se de condições de conservação adequadas (SCHNEIDER et al., 2015).

A conservação de sementes pode ser influenciada por fatores como a qualidade inicial, teor de água, secagem, ataque de pragas, grau de injúria mecânica, embalagem e condições ambientais de armazenamento, principalmente temperatura e umidade relativa do ar (GUEDES et al., 2012).

As embalagens e condições de armazenamento devem contribuir para a manutenção da uniformidade do teor de água das sementes, logo, se as sementes são armazenadas em embalagens permeáveis (sacos de pano, plásticos perfurados e papel), seu teor de água se altera conforme as variações do ambiente. Se armazenadas em embalagens semipermeáveis (sacos plásticos de 100 a 200 micras, polietileno de baixa espessura e combinações de lâminas de papel e outro material) haverá resistência às trocas de gases e vapor de água, porém, nada que impeça completamente a passagem da umidade. Se colocadas em embalagens impermeáveis (envelopes trifoliados de polietileno ou alumínio, latas de alumínio, recipientes de vidro), não há influência da umidade do ar externo sobre a semente (OLIVEIRA-BENTO et al., 2015; GASPARIN, 2012). As embalagens utilizadas no armazenamento devem diminuir a velocidade do processo de deterioração, mantendo o teor de água inicial das sementes armazenadas a fim de diminuir a respiração (CARDOSO; BINOTTI; CARDOSO, 2012).

Quanto maior for o teor de água da semente armazenada, maior o número de fatores adversos à conservação da qualidade fisiológica (GOLDFARB; QUEIROGA, 2013). O alto teor de água das sementes, associado a altas temperaturas, acelera os processos naturais de degeneração dos sistemas biológicos, de modo que as sementes perdem o vigor rapidamente e após um tempo a capacidade de germinação (GUEDES et al., 2012).

Segundo Caldas (2013), para a maioria das espécies, quanto mais frio e seco o ambiente de armazenamento, melhor, e esta condição pode ser obtida através de câmaras frias e desumidificadores, nas quais a temperatura varia de 10 a 20 °C.

O armazenamento é uma prática fundamental para o controle da qualidade fisiológica da semente, e a observância deste fator é extremamente importante para que se obtenha a produtividade esperada, mantendo o vigor em nível razoável entre a semeadura e a colheita e, conservando a viabilidade das sementes (GUEDES et al., 2012).

Nos últimos anos têm se intensificado o interesse pela multiplicação de espécies lenhosas nativas, por conta da ênfase atual para os problemas ambientais, ressaltando-se a necessidade de recuperação de áreas degradadas e recomposição paisagística. Porém, não há muito conhecimento disponível sobre o manejo e análise das sementes da maioria dessas espécies, de modo a fornecer dados que possam caracterizar seus atributos físicos e fisiológicos. Há ainda, necessidade de se obter informações básicas sobre a germinação, cultivo e potencialidade dessas espécies lenhosas, visando sua utilização para os mais diversos fins (ANDREANI JUNIOR et al., 2014).

O teste de germinação tem sido o teste oficial utilizado para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, sendo este teste realizado em condições controladas, ideais para a

germinação (CRIPA et al., 2014). Porém, o teste de germinação apresenta desvantagens como, ter os resultados comprometidos pela presença de fungos e sementes dormentes, e principalmente, o atraso na obtenção dos resultados (KAISER et al., 2014), como no caso do guabiju.

Desta forma, a utilização de métodos rápidos e eficientes, como o teste de tetrazólio, tem sido uma opção na análise da qualidade de sementes, principalmente para as espécies com germinação lenta e/ou recalcitrantes (OLIVEIRA et al., 2014).

No teste de tetrazólio, as sementes permanecem em contato com uma solução incolor de cloreto de tetrazólio (2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio), que é absorvida pelos tecidos vivos da semente (RODRIGUES et al., 2015). Nos tecidos que há atividades respiratória e metabólica normais, as enzimas do grupo das desidrogenases liberam íons hidrogênio ( $H^+$ ) com os quais o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio reage, formando um composto insolúvel e estável, de coloração avermelhada, o trifenilformazan (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014).

A intensidade e localização das partes coloridas e descoloridas são utilizadas para a interpretação do teste. As sementes viáveis tendem a absorver a solução de tetrazólio lentamente, desenvolvendo coloração mais suave do que as sementes deterioradas, que adquirem coloração rosa forte (MASULLO et al., 2017). Já nos tecidos mortos não há atividade dessas enzimas, logo, são caracterizadas pela coloração branca ou amarelados e textura flácida (ZORZAL et al., 2015). A eficiência do teste de tetrazólio, depende do desenvolvimento de um protocolo adequado para cada espécie, definindo-se as condições apropriadas de hidratação, preparo, coloração e avaliação das sementes (REZENDE et al., 2015).

O teste de tetrazólio tem sido o mais utilizado para avaliar a atividade respiratória das sementes. Porém, o teste tem limitações quanto ao tamanho da semente que reduz a observação direta do embrião, e resultados um pouco relativos devido a percepção visual das cores (DRANSKI et al., 2013). Aqueles autores complementaram que a atividade respiratória pode ser quantificada por meio da determinação de dióxido de carbono liberado pela respiração utilizando-se o analisador de gás infravermelho (IRGA), o qual é um método não destrutivo e não depende de percepção visual, porém, com custo elevado.

A avaliação da concentração de  $CO_2$  por infravermelho consiste em esgotar o conteúdo de gás liberado pelas sementes na câmara de detecção do medidor de gás. A câmara do medidor permanece com fluxo e concentração constantes de  $CO_2$ , servindo como base. Com a quantificação do conteúdo, é possível detectar e construir um pico semelhante ao de um cromatograma, cuja área representa sua concentração (DRANSKI et al., 2017a).

Visto que a atividade respiratória é uma das primeiras manifestações biológicas da perda do vigor, e sua detecção pode ajudar no monitoramento e controle da qualidade da produção de sementes (DRANSKI et al., 2017b), destaca-se a importância de desenvolver e aprimorar testes que possibilitem monitorar a respiração, seja o teste de tetrazólio ou mensuração da atividade respiratória, testes estes que além de importantes, demandam pouco tempo de execução.

Assim sendo, no primeiro artigo do presente trabalho, testou-se a hipótese de que o teste de tetrazólio possa ser padronizado. No segundo artigo, testou-se a hipótese de que as sementes podem ser armazenadas por mais tempo, tendo em vista a utilização da embalagem e local/condições de armazenamento adequadas. Além disto, almejou-se avaliar o vigor e viabilidade de sementes de guabiju utilizando-se de testes rápidos, uma vez que a espécie apresenta germinação lenta e viabilidade curta.

Os objetivos deste trabalho foram padronizar a metodologia para o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de *M. pungens* (1). Para o segundo artigo, visou-se estudar o comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de *M. pungens* armazenadas em diferentes embalagens por um período de até 10 meses.

## 2 REFERÊNCIAS

AMARAL, W.G.; PEREIRA, I.M.; MACHADO, E.L.M.; OLIVEIRA, P.A.; DIAS, L.G.; MUCIDA, D.P.; AMARAL, C.S. Relação das espécies colonizadoras com as características do substrato em áreas degradadas na Serra do Espinhaço Meridional. **Bioscience Journal**, v. 29, n. 1, p. 1696-1707, 2013.

ANDREANI JUNIOR, R.; MELLO, W.S.; SANTOS, S.R.G.; KOZUSNY-ANDREANO, D.I. Superação da dormência de sementes de três essências florestais nativas. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 12, n. 1, p. 473-479, 2014.

BATISTA, C.M.; FREITAS, M.L.M.; MORAES, M.A.; ZANATTO, A.C.S.; SANTOS, P.C.; ZANATA, M.; MORAES, M.L.T.; SEBBENN, A.M. Estimativas de parâmetros genéticos e a variabilidade em procedências e progênies de *Handroanthus vellosi*. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 32, n. 71, p. 269-276, 2012.

BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Cerne**, v. 6, n. 1, p. 009-018, 2000.

BRANCALION, P.H.S.; MELO, F.P.L.; TABARELLI, M.; RODRIGUES, R.R. Restoration reserves as biodiversity safeguards in human-modified landscapes. **Brazilian Journal of Nature Conservation**, v. 11, n. 2, p. 1-5, 2013.

CALDAS, I.G.R. **Armazenamento de sementes germinadas de *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos e seu comportamento em viveiro.** 2013, 99 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP, Botucatu, 2013.

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

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

DRANSKI, J.A.L.; PINTO JUNIOR, A.S.; HERGOZ, N.F.M.; MALAVASI, U.C.; MALAVASI, M.M.; GUIMARÃES, V.F. Vigor of canola seeds through quantification of CO<sub>2</sub> emission. **Ciência Agrotecnologia**, v. 37, n. 3, p. 226-266, 2013.

DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C.; SCHUSTER, I.; LAZARETTI, N.S. Carbon dioxide quantified by the infrared in respiratory activity evaluation in corn seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1115-1132, 2017a.

DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C.; SCHUSTER, I.; LAZARETTI, N. Carbon dioxide quantified by the infrared in evaluation of respiratory activity of wheat seeds. **Revista Ceres**, v. 64, n. 5, p. 507-515, 2017b.

FIOR, C.S.; RODRIGUES, L.R.; CALIL, A.C.; LEONHARDT, C.; SOUZA, L.S.; SILVA, V.S. Qualidade fisiológica de sementes de guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (Berg) Legrand – Myrtaceae) em armazenamento. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 435-442, 2010.

GASPARIN, E. **Armazenamento de sementes e produção de mudas de *Parapiptadenia rígida* (Benth.) Brenan.** 2012, 158 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

GIARETTA, A.; TULER, A.C.; SOUZA, M.C.; VALDEMARIN, K.S.; MAZINE, F.F.; PEIXOTO, A.L. Diversidade de Myrtaceae na Reserva Natural Vale. **Floresta Atlântica de tabuleiro: diversidade e endemismo na Reserva Natural Vale.** 1.ed. Belo Horizonte, 2016. 496p.

GOLDFARB, M.; QUEIROGA, V.P. Considerações sobre o armazenamento de sementes. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 7, n. 3, p. 71-74, 2013.

GOMES, J.P.; OLIVEIRA, L.M.; SALDANHA, A.P.; MANFREDI, S.; FERREIRA, P.I. Secagem e classificação de sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret – Myrtaceae quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 207-215, 2013.

GRUNENVALDT, R.L.; CANTARELLI, E.B.; SALAMONI, A.T. Armazenamento de sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 1, p. 98-105, 2014.

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; BRUNO, R.L.A.; GONÇALVES, E.P.; COSTA, E.G.; MEDEIROS, M.S. Armazenamento de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 68-75, 2012.

IUCN. *Myrcianthes pungens*. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/details/full/38739/0>>. Acesso em: 19 jun. 2018.

JOSÉ, A.C.; ERASMO, E.A.L.; COUTINHO, A.B. Germinação e tolerância à dessecação de sementes de bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 651-657, 2012.

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

LINDELL, C.A.; COLE, R.J.; HOLL, K.D.; ZAHAWI, R.A. Migratory Bird species in young tropical forest restoration sites: effects of vegetation height, planting design, and season. **Bird Conservation International**, v. 22, p. 94-105, 2011.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992, v. 1, 384p.

MAGISTRALI, P.R.; JOSÉ, A.C.; FARIA, J.M.R.; GASPARIN, E. Physiological behavior of *Genipa americana* L. seeds regarding the capacity for desiccation and storage tolerance. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 4, p. 1-6, 2013.

MASULLO, L.S.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; AMÉRICO, C. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. seeds. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 2, p. 189-197, 2017.

MAYRINCK, R.C.; VAZ, T.A.A.; DAVIDE, A.C. Classificação fisiológica de sementes florestais quanto à tolerância à dessecação e ao comportamento no armazenamento. **Cerne**, v. 22, n. 1, p. 85-92, 2016.

MORAIS, L.M.F.; CONCEIÇÃO, G.M.; NASCIMENTO, J.M. Família Myrtaceae: análise morfológica e distribuição geográfica de uma coleção botânica. **Agrarian Academy**, v. 1, n. 1, p. 317-346, 2014.

MOROZESK, M.; BONOMO, M.M.; DUARTE, I.D.; ZANI, L.B.; CORTE, V.B. Longevidade de sementes nativas da Floresta Atlântica. **Natureza on line**, v. 12, n. 4, p. 185-194, 2014.

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

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

- OLIVEIRA, L.M.; BRUNO, R.L.A.; MENEGHELLO, G.E. Qualidade fisiológica de sementes de *Syzygium cumini* L. durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, p. 921-931, 2015.
- OLIVEIRA-BENTO, S.R.S.; TORRES, S.B.; BENTO, D.A.V.; SILVA, B.K.A.; DANTAS, F.J.C.; MELO, V.C. Armazenamento de sementes de flor-de-seda [*Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton]. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 1, p. 39-47, 2015.
- PINTO JUNIOR, A.S.; GUIMARÃES, V.F.; DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C. Armazenamento de sementes de pinhão manso em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 636-643, 2012.
- RASEIRA, M.C.B.; ANTNES; L.E.C.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E.D. **Espécies frutíferas nativas do sul do Brasil**. Embrapa Clima Temperado: documento 129, 2004. 124p.
- REZENDE, R.G.; JESUS, L.L.; NERY, M.C.; ROCHA, A.S.; CRUZ, S.M.; ANDRADE, P.C.R. Teste de tetrazólio em sementes de crambe. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 4, p. 2539-2544, 2015.
- RODRIGUES, A.P.M.S.; MEDONÇA JUNIOR, A.F.; TORRES, S.B.; NOGUEIRA, N.W.; FREITAS, R.M.O. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 638-644, 2015.
- SANTOS, C.M.R.; FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E.A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 14, n. 2, p. 13-20, 2004.
- SANTOS, S.R.; MARCHIORI, J.N.C. Anatomia da madeira de *Myrcianthes pungens* (O. Berg) D. Legrand (Myrtaceae). **Balduinia**, n. 19, p. 25-30, 2009.
- SARMENTO, M.B.; VILLELA, F.A. Sementes de espécies florestais nativas do sul do Brasil. **Informativo Abrates**, v. 20, n. 1,2 p. 039-044, 2010.
- SCHNEIDER, C.F.; GUSATTO, F.C.; MALAVASI, M.M. STANGARLIN, J.R.; MALAVASI, U.C. Termoterapia na qualidade fisiológica e sanitária de sementes armazenadas de pinhão-manso. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 47-56, 2015.
- SILVA, A.T.; MAZINE, F.F. A família Myrtaceae na Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, n. 1, p. 203-223, 2016.
- SOUZA, L.S.; FIOR, C.S.; SOUZA, P.V.D.; SCHWARZ, S.F. Desinfestação de sementes e multiplicação *in vitro* de guabijuzeiro a partir de segmentos apicais juvenis (*Myrcianthes pungens* O. Berg) D. Legrand. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 691-697, 2011.
- ZORZAL, T.A.; FANTINATO, D.E.; CAMPOS, L.M.; LUZ, A.C.C.; CORTE, V.B. Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes. **Natureza on line**, v. 13, n. 3, p. 144-149, 2015.

### **3 ARTIGO 1 – PADRONIZAÇÃO DO TESTE DE TETRAZÓLIO PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.**

RESUMO: O teste de tetrazólio (TZ) por ser um teste rápido para avaliar a viabilidade de sementes, tem sido muito requisitado principalmente para sementes com germinação lenta e recalcitrantes, como é o caso de *Myrcianthes pungens*. Porém, ainda são escassas as informações sobre o teste para a espécie em estudo. Desta forma, objetivou-se padronizar TZ para sementes de *Myrcianthes pungens*. Coletou-se sementes em três municípios (Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon). Inicialmente determinou-se o teor de água. Parte das sementes foi armazenada em câmara fria e seca, em papel, vidro e plástico, com umidade inicial, por 2 e 4 meses, e parte submetida a padronização do TZ. Realizou-se testes preliminares de pré-condicionamento e preparo, com sementes umedecidas por 24 horas a 30 °C. Definiu-se a melhor concentração de tetrazólio (0,50, 0,75, 1,00, 1,25 e 1,50%) e temperatura (30 e 40 °C). Avaliou-se as sementes através do TZ e pelo TG. O teor de água foi de 39,9%, 40,4% e 39,3% para Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon respectivamente. Os resultados entre TZ e TG mostraram-se próximos e tiveram correlação positiva. A avaliação do TZ deve ser realizada com o pré-condicionamento de sementes sem tegumento, por 24 horas seguido da embebição em solução de tetrazólio a 0,75% por 24 horas a 30 °C.

Palavras-chave: Guabiju. Espécie florestal. Germinação.

### **ARTICLE 1 - STANDARDIZATION OF THE TETRAZOLIUM TEST TO EVALUATE THE VIABILITY OF SEEDS OF *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr.**

ABSTRACT: The test of tetrazolium (ZT) for being a rapid test to evaluate the viability of seeds, has been demanded mainly for seeds with slow germination and recalcitrant, as is the case of *Myrcianthes pungens*. However, there is still little information on the test for the species under study. In this way, the aim of this study was to standardize the ZT for seeds of *Myrcianthes pungens*. Seeds were collected in three municipalities (Toledo, Pato Bragado and Marechal Cândido Rondon). The water content was initially determined. Part of the seeds was stored in a cold and dry chamber, in paper, glass and plastic, with initial moisture for 2 and 4 months, and part submitted the standardization of ZT. Pre-conditioning and preparation methods were

performed with seeds moistened for 24 hours at 30 °C. The best concentration (0,50, 0,75, 1,00, 1,25 and 1,50%), and temperature (30 and 40 °C) were defined. Seeds were evaluated by the ZT and by GT. The water content was 39,9%, 40,4% and 39,3% for Toledo, Pato Bragado and Marechal Cândido Rondon. The results between ZT and GT were close and had a positive correlation. The evaluation should be performed with the pre-conditioning of seeds without integument, for 24 hours followed by soaking in 0,75% solution of tetrazolium for 24 hours at 30 °C.

Keywords: Guabiju. Forest species. Germination.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Muitas regiões brasileiras, a partir da expansão agrícola, perderam áreas com florestas nativas, as quais deram lugar às lavouras (GUOLLO; FELIPPI; POSSENTI, 2016). Estas perdas, acarretaram na extinção de muitas espécies. Uma alternativa encontrada para a preservação destes componentes genéticos das espécies tem sido a criação de bancos de sementes, tanto na conservação *ex-situ* quanto *in-situ*. Muitas dificuldades são encontradas na conservação de espécies que produzem sementes com características de recalcitrância, as quais podem perder a viabilidade com o processo de secagem (VIEIRA et al., 2008). De acordo com Fior et al. (2010), esta é uma das características das sementes de *Myrcianthes pungens*.

*M. pungens* (Berg) Legr., conhecida popularmente como guabiju, pertence à família Myrtaceae. Trata-se de uma espécie arbórea nativa do Brasil, ocorrendo desde São Paulo até o Rio Grande do Sul. A espécie é encontrada em todas as formações florestais (FIOR et al., 2010). Seus frutos são do tipo baga globosa contendo de uma a duas sementes reniformes, medindo de 6 a 7 mm (SOUZA et al., 2011). Segundo Fior et al. (2010), os frutos são comestíveis e muito apreciados pela fauna nativa e também pelos humanos, a espécie também é ornamental, sendo utilizada na arborização urbana. Também pode ser utilizada para elaboração de doces, marcenaria de luxo, fins medicinais e restauração florestal (Souza et al., 2011; Lorenzi, 1992).

O sucesso em um reflorestamento com espécies lenhosas nativas, depende principalmente da disponibilidade de sementes com elevado potencial fisiológico, para que produzam mudas mais vigorosas (DAVIDE et al., 2008). A análise de sementes tem sido um instrumento fundamental no controle da qualidade das sementes produzidas e/ou da avaliação da tecnologia de produção empregada. A análise de sementes determina o valor de cada lote para fins de semeadura ou armazenamento (ZUCARELI et al., 2001).

O parâmetro oficial usado para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, é o teste de germinação realizado em condições controladas e ideais prescritas em normas oficiais (BRASIL, 2013). O teste de germinação possui algumas limitações em sua condução, como atraso e possível alteração dos resultados por conta dos fungos (CRIPA et al., 2014), demora de execução além de não permitir identificar com precisão os fatores que afetaram a qualidade das sementes (FOGAÇA et al., 2006).

Desta forma, necessita-se desenvolver e aperfeiçoar testes rápidos e confiáveis que ofereçam a caracterização do potencial fisiológico das sementes (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014), auxiliando na tomada de decisões quanto ao uso ou descarte de lotes (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011), principalmente para sementes como de *M. pungens* que germinam lentamente.

Dentre estes testes rápidos, há o de tetrazólio, o qual não é afetado por diversas condições que podem alterar os resultados do teste padrão de germinação, como a presença de fungos; enfoca as condições físicas e fisiológicas do embrião de cada semente; permite rápida avaliação da viabilidade; pode fornecer o diagnóstico da causa da perda da viabilidade das sementes, além de requerer equipamentos simples e baratos (FOGAÇA et al., 2006).

O teste de tetrazólio estima a viabilidade das sementes com base na alteração da coloração dos tecidos vivos, o que representa a atividade enzimática, quando imersos em solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio. A formação de um vermelho claro, indica que o tecido é viável, enquanto um vermelho carmim intenso representa tecido já deteriorado (OLIVEIRA et al., 2014). A formação do composto vermelho indica que o sal de tetrazólio foi reduzido, demonstrando haver atividade respiratória nas mitocôndrias, indicando viabilidade celular nos tecidos (ZORZAL et al., 2015).

A intensidade e localização das partes com e sem coloração são utilizadas para a interpretação do teste. As sementes viáveis tendem a absorver a solução de tetrazólio lentamente, logo, apresentam coloração mais suave do que as deterioradas, que apresentam coloração forte. Por outro lado, os tecidos mortos não apresentam atividade enzimática, logo, são caracterizadas pela coloração branca ou amarelada e textura flácida (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014). Tecidos acentuadamente deteriorados liberam pequenas quantidades de íons de hidrogênio, insuficientes para que ocorra a reação normal com o sal de tetrazólio. Além disso, a formação do vermelho intenso ocorre em virtude da maior difusão da solução de tetrazólio entre as membranas celulares comprometidas (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011).

Diversos fatores, por sua vez, podem interferir na obtenção de resultados satisfatórios no teste de tetrazólio, principalmente aqueles relacionados à metodologia de execução como preparo das sementes antes da coloração, concentração da solução de tetrazólio, período e temperatura de exposição à solução e critérios de interpretação (LAZAROTTO et al., 2011).

Vários autores têm padronizado e utilizado o teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais como: *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014), *Piptadenia moniliformis* Benth. (AZERÊDO; PAULA; VALERI, 2011), *Eugenia involucrata* DC. e *Eugenia pyriformis* Cambess. (CRIPA et al., 2014), *Gleiditschia amorphoides* Taub. (FOGAÇA et al., 2006), *Eugenia uniflora* LAM. (KAISER et al., 2014), *Albizia hasslerii* (Chodat) Burr. (ZUCARELI et al., 2001), *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) (ABBADE; TAKAKI, 2014), *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. (SOUSA et al., 2017), *Platymiscium floribundum* Vog., *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. e *Acacia polyphylla* DC. (MASULLO et al., 2017), *Jatropha elliptica* M. Arg. (AÑEZ et al., 2007), *Amburana cearenses* (Allemão) A.C. Smith (GUEDES et al., 2010), *Parkia velutina* Benoist (MENDES; BASTOS; MELO, 2009), dentre outros.

Na literatura são indicados procedimentos de pré-condicionamento para garantir a penetração da solução nos tecidos de interesse a serem avaliados; a utilização de diferentes concentrações da solução de tetrazólio, tempos e temperaturas de condicionamento e a avaliação adequada da coloração das sementes, fatores estes, fundamentais para que se obtenha resultados confiáveis da qualidade das sementes (NOGUEIRA; TORRES; FREITAS, 2014).

Embora a espécie *M. pungens* seja considerada importante devido seu potencial econômico e ecológico, tendo em vista sua utilização para ornamentação, arborização urbana, elaboração de doces, para marcenaria de luxo, para fins medicinais, restauração florestal e manutenção da fauna (Souza et al., 2011; Lorenzi, 1992; Fior et al. 2010), ainda são escassas as informações precisas para a análise de qualidade de suas sementes, principalmente através de métodos rápidos, visando a produção de mudas de boa qualidade. Desta forma, este trabalho objetivou padronizar a metodologia para o teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de *Myrcianthes pungens*.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de *M. pungens* foram colhidos de árvores, provenientes de fragmentos florestais da Floresta Estacional Semidecidual. As colheitas foram efetuadas em novembro de 2016, nos municípios de Toledo (24°38'15.85"S, 53°57'24.70"O, altitude de 354 m), Pato Bragado

(24°37'22.02"S, 24°13'17.11"O, altitude de 270 m) e Marechal Cândido Rondon (24°33'04.50"S, 54°02'46.14"O, altitude de 420 m).

A colheita foi realizada manualmente quando os frutos apresentavam coloração roxa escura e iniciavam queda espontânea (LORENZI, 1992). Os frutos do tipo baga globosa foram despolidos manualmente em peneira sob água corrente, separando a semente do pericarpo. Para eliminar o excesso de água, as sementes foram secas a sombra por quatro dias.

A caracterização inicial dos locais de coleta de sementes foi realizada através do teor de água e massa de matéria seca de sementes. O teor de água foi determinado pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas, utilizando quatro repetições de 25 sementes (BRASIL, 2009) quantificando-se também a massa de matéria seca das sementes (mg por semente).

Parte das sementes foi armazenada em câmara fria e seca (11 °C e 6,3% UR), em sacos de papel tipo *kraft* trifoliado, em vidro (do tipo conserva de 600 mL) e em sacos plásticos (com aproximadamente oito mm de espessura), com umidade inicial, por dois e quatro meses.

As sementes coletadas em Pato Bragado foram utilizadas para a padronização do teste de tetrazólio. Estas sementes permaneceram armazenadas em câmara fria e seca (11 °C e 6,3% UR), em sacos de papel tipo *kraft* até serem utilizadas. O teste de padronização iniciou-se aproximadamente 20 dias após a coleta das sementes e teve duração de cerca de um mês. Neste período, as demais sementes permaneceram armazenadas. Desta forma, realizou-se novo teste de umidade quando se iniciaram os testes.

Inicialmente foram realizados testes preliminares, para determinação da melhor forma de preparo da semente e período de pré-condicionamento. As sementes foram embebidas entre papel a 30 °C por 24 horas com e sem tegumento. A partir disto, os seguintes pré-tratamentos foram estudados: sementes intactas e sementes seccionadas longitudinalmente através do centro do eixo embrionário até a região mediana. Estes mesmos preparos foram submetidos em sementes sem embebição. Após o pré-condicionamento as sementes foram colocadas em solução de tetrazólio a 0,75 e 1% a 30 °C por até 24 horas, no escuro.

Após o período de coloração as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas em ambiente refrigerado até o momento da análise, realizada com auxílio de uma lupa de mesa com lâmpada fluorescente no aumento de 6 x.

O melhor método de preparo das sementes foi escolhido pelos seguintes fatores: facilidade de manuseio e favorecimento da coloração adequada das partes vitais da semente. Desta forma, o método de preparo usado foi a remoção cuidadosa do tegumento com auxílio de bisturi e pinça, de modo que não ocorressem danos na semente, seguido de embebição por 24 horas. Após a definição do método de preparo e pré-condicionamento, foram testadas as reações

com o sal de tetrazólio a 30 e 40 °C e cinco concentrações do sal de tetrazólio (0,50, 0,75, 1,00, 1,25 e 1,50%), por 24 horas. A avaliação das sementes, foi realizada individualmente.

As sementes foram classificadas em: viáveis, inviáveis e mortas, com base na coloração das regiões vitais da semente (Figura 1). A intensidade de coloração, o aspecto da semente como um todo, a localização de possíveis danos e firmeza dos tecidos também foram considerados.

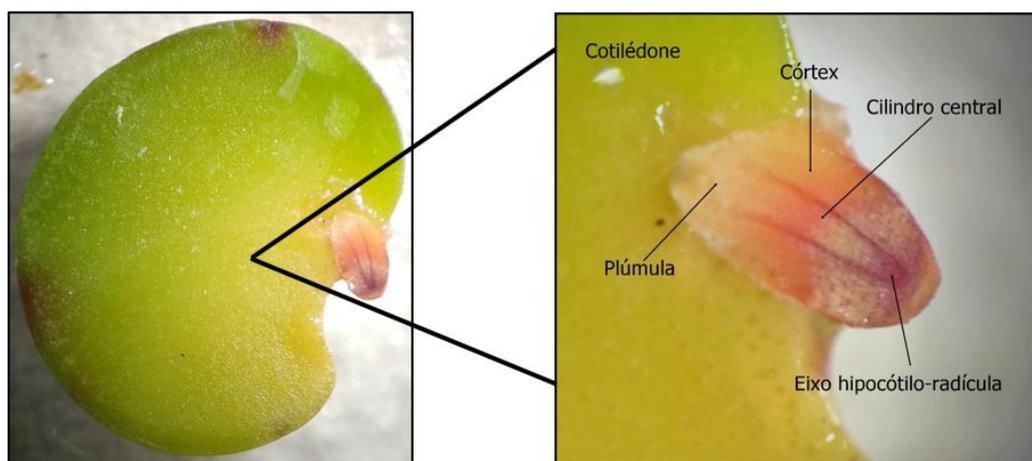


Figura 1 – Estruturas vitais do eixo embrionário da semente de *M. pungens*.

Paralelamente, realizou-se o teste padrão de germinação. O teste de germinação foi conduzido com oito repetições de 25 sementes para cada local de coleta, semeadas em vermiculita, umedecida até a saturação. O teste foi desenvolvido em câmara germinadora (BOD) a 25 °C (FIOR et al., 2010) e fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas diariamente até a estabilização. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais. O critério de plântula normal foi a presença de epicótilo, hipocótilo e radícula desenvolvidos e primeiro par de folhas definitivo.

As sementes que não germinaram durante o teste de germinação foram submetidas ao teste de tetrazólio, a fim de verificar se havia viabilidade. Se viáveis, as sementes foram classificadas em não germinadas, porém, viáveis.

Para a avaliação da concentração de tetrazólio e temperatura de reação foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial (cinco concentrações x duas temperaturas). Os dados foram analisados quanto a normalidade da distribuição dos resíduos pelo teste de Liliefors e quanto a homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett. Posteriormente os dados foram submetidos à análise de variância. Quando da existência de diferenças estatisticamente significativas, utilizou-se o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade de erro.

Adicionalmente, as médias dos resultados obtidos de cada local de coleta e período de armazenamento para o teste de germinação e tetrazólio foram comparados pelo teste t a 5% de probabilidade de erro, bem como foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r), entre os resultados dos testes, tendo-se para o teste 21 lotes, sendo estes formados pelas três procedências (Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon), quando padronizou-se o teste de tetrazólio e a combinação destas procedências com as três embalagens (vidro, sacos plásticos e sacos de papel) de armazenamento e o tempo de armazenamento (dois e quatro meses). Utilizou-se o programa Sigmaplot.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teor de água das sementes colhidas, beneficiadas e não armazenadas foi de 39,9%, 40,4% e 39,3% para sementes de Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon, respectivamente. Resultados estes, similares a Santos, Ferreira e Áquila (2004) que obtiveram teor de água em torno de 40%. Fior et al. (2010) obtiveram teor de água entre 41,4 e 43,6%, os mesmos relataram que elevados teores de água no estágio de maturação, são características de espécies recalcitrantes. A massa de matéria seca das sementes foi de 122,8 mg, 132,6 mg e 103 mg por semente, para as sementes colhidas em Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon, respectivamente.

A partir do conhecimento das partes essenciais do embrião e sua relação com as estruturas vitais envolvidas durante o processo de germinação foi realizada a classificação das sementes em três grupos de viabilidade: viáveis, inviáveis e mortas (Figura 2).

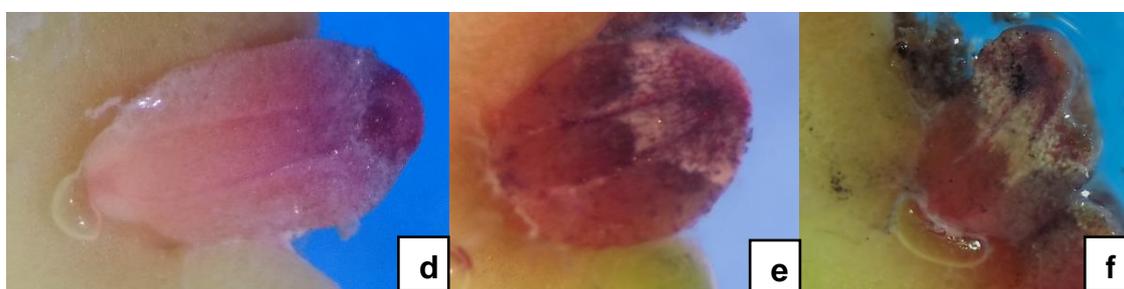
No momento da padronização do teste de tetrazólio as sementes apresentavam 29% de teor de água, pois estavam armazenadas em sacos de papel, em câmara fria e seca (11 °C e 6,3% UR) por aproximadamente um mês. Durante a determinação dos métodos de preparo, observou-se que as sementes sem embebição não exibiram coloração, assim como as que permaneceram com tegumento (com e sem embebição). As sementes com corte longitudinal apresentaram coloração excessiva.

Durante os pré-testes de embebição, as sementes foram embebidas por 24 horas, e neste período alcançaram 35% de teor de água. O processo de embebição fez-se necessário, devido ao teor de água que as sementes apresentavam no momento do teste (29%). O tempo de embebição de 24 horas permitiu que as sementes absorvessem e reagissem ao tetrazólio obtendo uma coloração adequada. Portanto, optou-se pelo seguinte método de preparo: embebição por 24 horas da semente intacta sem tegumento.

Figura 2 – Classificação topográfica das sementes de *M. pungens* em viáveis (a, b, c), inviáveis (d, e, f) e sementes mortas (g, h, i).



(a) Categoria 1 (viável): eixo embrionário com coloração rósea suave e tecidos com aspecto normal e firme. (b) Categoria 2 (viável): eixo embrionário com coloração uniforme rósea suave e tecidos com aspecto normal e firme. (c) Categoria 3 (viável): extremidade da radícula com coloração vermelha intensa sem atingir o cilindro central e tecidos com aspecto firme e normal.



(d) Categoria 4 (inviável): extremidade da radícula vermelha intensa, atingindo o cilindro central. (e) Categoria 5 (inviável): coloração vermelha intensa atingindo metade da região embrionária, tecidos com aspecto levemente flácido. (f) Categoria 6 (inviável): metade do eixo embrionário afetado, com coloração vermelha-intensa e tecidos flácidos.



(g) Categoria 7 (morta): embora com coloração verde, não há coloração pelo tetrazólio e os tecidos apresentam-se flácidos. (h) Categoria 8 (morta): embrião com coloração esbranquiçada, tecidos flácidos e em deterioração. (i) Categoria 9 (morta): embrião com coloração escura, tecidos flácidos.

O principal objetivo do pré-condicionamento das sementes é facilitar a penetração da solução de tetrazólio entre os tecidos (CRIPA et al., 2014), e fornecer coloração homogênea (KAISER et al. 2014). Segundo Mendes, Bastos e Melo (2009), a penetração do tetrazólio é facilitada através de cortes ou punções ou até mesmo a completa retirada do tegumento, no caso de algumas espécies como *Parkia velutina* Benoist, e neste caso, o pré-condicionamento visou facilitar a retirada completa do tegumento, sem provocar injúrias mecânicas, expondo o embrião, e assim facilitando a penetração do tetrazólio.

Segundo Guedes et al. (2010), é necessária a hidratação prévia das sementes de algumas espécies, antes da exposição à solução de tetrazólio, de modo que ocorra o amolecimento do tegumento e a ativação do sistema enzimático, permitindo a absorção da solução e coloração uniforme.

A partir da análise estatística visando obter a melhor concentração do sal de tetrazólio e melhor temperatura para execução do teste, concluiu-se que não havia diferença ( $p > 0,05$ ) para nenhum dos parâmetros. Portanto, optou-se pelas condições mais acessíveis, ou seja, a menor concentração de tetrazólio e menor temperatura, visando menos gastos e maior praticidade.

Ao avaliar-se as sementes, observou-se que a menor concentração apresentou coloração mais fraca, embora permitiu a avaliação. Desta forma, foi necessária a aplicação de uma concentração maior, de modo a distinguir os tecidos vivos e mortos. Por isto, optou-se pela concentração de 0,75% que se mostrou adequada e propiciou distinguir os tecidos mais facilmente.

Masullo et al. (2017) relataram que a escolha da metodologia adequada para o emprego do teste de tetrazólio, deve ser baseado na facilidade de diferenciação de tecidos viáveis e inviáveis e na capacidade de diferenciar lotes de qualidade fisiológica distinta. Segundo Silva et al. (2013), metodologias eficientes, com utilização de solução de tetrazólio em baixas concentrações, são importantes para otimizar a aplicação de recursos dentro dos laboratórios e possibilitar a análise de mais amostras com menor custo.

Segundo Souza et al. (2017), a eficiência do teste em tetrazólio em avaliar a viabilidade e o vigor das sementes está relacionada ao desenvolvimento de uma metodologia adequada para cada espécie, definindo as condições mais adequadas para o preparo, pré-condicionamento e a coloração das sementes, sendo que os métodos anteriores a coloração, são fatores decisivos.

Para Rezende et al. (2015), outro fator que deve ser levado em consideração na avaliação da viabilidade de sementes, é o tempo de execução do teste, uma vez que, a rapidez na avaliação proporciona vantagens como o descarte de lotes com qualidade inadequada, além de prevenir a comercialização de lotes de sementes de baixa qualidade fisiológica. No presente trabalho, as sementes expostas ao tetrazólio foram avaliadas a cada 2 horas, a fim de verificar o tempo que ocasionasse a melhor coloração, e desta forma 24 horas foi o tempo adequado.

As porcentagens de germinação, sementes não germinadas, porém viáveis e sementes viáveis pelo teste de tetrazólio foram expressas na tabela 1. Os resultados obtidos no teste de germinação, quando comparados com o teste de tetrazólio, resultaram significativamente, com correlação positiva de 0,988, e os resultados de germinação + sementes não germinadas e o teste de tetrazólio tiveram correlação positiva de 0,993. Resultados estes já esperados, visto

que, à medida que aumentou a porcentagem de viabilidade pelo tetrazólio, houve um aumento de germinação.

Dos vinte e um lotes estudados, ao comparar-se apenas a porcentagem de germinação e viabilidade, observou-se que apenas seis lotes não apresentaram diferença significativa (tabela 1). Ao comparar os resultados das porcentagens de germinação, sementes não germinadas, porém viáveis e viabilidade, observou-se que quinze lotes mostraram não haver diferença significativa (Tabela 1).

Tabela 1 – Porcentagem de germinação, sementes não germinadas, porém viáveis e sementes viáveis pelo teste de tetrazólio (TZ), probabilidade de significância pelo teste t e coeficiente de correlação simples (r) em 21 lotes de sementes de *M. pungens*.

| Lote            | PG            | PG + SNG | TZ <sub>viab</sub> | $P_{\text{valor PG x TZ}_{\text{viab}}}$ | $P_{\text{valor PG+ SNG x TZ}_{\text{viab}}}$ |
|-----------------|---------------|----------|--------------------|--|---|
|                 | ----- % ----- |          | -----              | TZ <sub>viab</sub>                       | TZ <sub>viab</sub>                            |
| Toledo          | 74            | 84       | 85                 | <0,001                                   | 0,687   |
| Pato Bragado    | 86*           | 91*      | 94                 | <0,001                                   | 0,686   |
| M.C. Rondon*    | 85*           | 88*      | 97                 | 0,029                                    | 0,014   |
| T PP 2 meses    | 7             | 14*      | 16                 | <0,001                                   | 0,686   |
| T P 2 meses     | 78            | 82       | 84                 | 0,002                                    | 0,573   |
| T V 2 meses     | 16            | 31       | 37                 | <0,001                                   | 0,032   |
| PB PP 2 meses   | 16            | 20       | 20                 | 0,134                                    | 1,000   |
| PB P 2 meses    | 93            | 93       | 95                 | 0,190                                    | 0,190   |
| PB V 2 meses    | 80*           | 84*      | 83                 | 1,000                                    | 0,664   |
| MCR PP 2 meses* | 8*            | 17       | 20                 | 0,029                                    | 0,214   |
| MCR P 2 meses   | 83            | 85       | 88                 | 0,005                                    | 0,190   |
| MCR V 2 meses   | 3             | 5        | 5                  | 0,463                                    | 1,000   |
| T PP 4 meses*   | 0*            | 0*       | 17                 | 0,029                                    | 0,029   |
| T P 4 meses     | 79            | 80       | 83                 | 0,083                                    | 0,267   |
| T V 4 meses*    | 0*            | 0*       | 0                  | 1,000                                    | 1,000   |
| PB PP 4 meses*  | 0*            | 0*       | 7                  | 0,029                                    | 0,029   |
| PB P 4 meses    | 88*           | 87       | 90                 | 0,886                                    | 0,371   |
| PB V 4 meses    | 0             | 0        | 0                  | 1,000                                    | 1,000   |
| MCR PP 4 meses* | 0             | 0        | 7                  | 0,029                                    | 0,029   |
| MCR P 4 meses   | 74*           | 74*      | 70                 | 0,664                                    | 0,664   |
| MCR V 4 meses*  | 0             | 0        | 2                  | 0,029                                    | 0,029   |
| R (n=21)        | 0,988         | 0,993    |                    | <0,001                                   | <0,001  |

Em que: PG: porcentagem de germinação; SNG: porcentagem de sementes não germinadas, porém viáveis; TZ<sub>viab</sub>: porcentagem de sementes viáveis pelo teste tetrazólio;  $p$ : probabilidade de significância pelo teste t ou pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney ao nível de 5% de probabilidade de erro. \* Indicam valores medianos. R: coeficiente de correlação simples de Pearson. T: Toledo; PB: Pato Bragado; MCR: Marechal Cândido Rondon; V: vidro; P: plástico; PP: papel.

Segundo França-Neto, Krzyzanowski e Costa (1998), em condições normais, os resultados de viabilidade obtidos nos testes de germinação e tetrazólio devem ser semelhantes, sendo permitido diferenças de até 5% entre os testes. Porém, segundo os mesmos autores, podem haver maiores diferenças entre os resultados, devido a diferenças de amostragem,

técnicas impróprias nos testes de germinação e tetrazólio, presença de sementes duras ou dormentes nas amostras, uso de lotes de sementes com vigor médio ou baixo, presença de sementes com elevados índices de danos mecânicos ou por percevejos e sementes infectadas por fungos (FERREIRA et al., 2001).

Segundo Nogueira, Torres e Freitas (2014), os resultados do teste de tetrazólio podem ser iguais ou maiores que os de germinação, e isto ocorre porque no teste de tetrazólio somente o embrião é avaliado, não considerando a influência das estruturas externas das sementes nos resultados dos testes de germinação.

Conforme observou-se no presente trabalho, haviam sementes não germinadas, porém viáveis (Tabela 1) após o fim do teste de germinação. Esta diferença entre o teste de germinação e tetrazólio pode ser explicada pela existência destas sementes, visto que, quando as sementes não germinadas, porém viáveis foram adicionadas a estatística, poucos lotes apresentaram diferença significativa. O teste de tetrazólio determina a viabilidade da semente, porém, quando as mesmas são submetidas ao teste de germinação, diversos fatores podem atuar e determinar se a semente germinará ou não, fatores estes que podem ocasionar a diferença nas porcentagens entre os testes, e conseqüentemente as médias do teste de tetrazólio tendem a ser maiores.

Outro fator preponderante é a presença de lotes envelhecidos que estavam armazenados por dois e quatro meses em diferentes embalagens (saco de papel, saco plástico e vidro). Os lotes que se apresentavam deteriorados apresentaram diferenças significativas entre os resultados dos testes, com exceção dos lotes que não apresentaram viabilidade e nem germinação. Nestes casos, o teste de tetrazólio pode apresentar viabilidade, uma vez que se avaliou apenas o embrião, porém, como estavam se deteriorando, não conseguiram germinar em condições de laboratório.

Segundo Lazarotto et al. (2011), as sementes armazenadas podem sofrer influência de fungos, o que reduz a germinação das sementes. Azerêdo, Paula e Valeri (2011) observaram que os lotes submetidos e não ao armazenamento apresentaram resultados diferenciados no momento de padronização do teste. Logo, os resultados discrepantes no presente trabalho, poderiam ser associados ao armazenamento, tendo em vista que as sementes armazenadas em papel, por exemplo, apresentavam teor de água inferior, se comparada às sementes armazenadas em sacos plásticos e vidro, assim, as sementes tendem a apresentar metabolismo e resposta diferenciados.

Segundo Azerêdo, Paula e Valeri (2011), a importância do teste de tetrazólio, como instrumento de avaliação das sementes, deve-se a rapidez na obtenção dos resultados, os quais

podem ser úteis nas áreas de comercialização, beneficiamento, armazenamento e produção de mudas.

### 3.4 CONCLUSÕES

Foi possível padronizar a metodologia para o teste de tetrazólio para sementes de *M. pungens*. A avaliação deve ser realizada iniciando com o pré-condicionamento de sementes sem tegumento por 24 horas seguido da embebição em solução de tetrazólio a 0,75% por 24 horas a 30 °C na ausência de luz.

### 3.5 REFERÊNCIAS

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

AÑEZ, L.M.M.; COELHO, M.F.B.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; MEDONÇA, E.A.F.; DOMBROSKI, J.L.D. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 82-88, 2007.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de Sementes florestais**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2013. 97 p.

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

DAVIDE, A.C.; DA SILVA, E.A.A.; FARIA, J.M.R.; ZANETTI, R.; RESENDE, M.L.V. **Produção de Sementes e Mudanças de Espécies Florestais**. Lavras: Editora UFLA, 2008. 174 p.

FERREIRA, R.A.; VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R.; TONETTI, O.A.O. Morfologia da semente e de plântulas e avaliação da viabilidade da semente de sucupira-branca (*Pterodon pubescens* Benth. - Fabaceae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.1, p. 108-115, 2001.

FIOR, C.S.; RODRIGUES, L.R.; CALIL, A.C.; LEONHARDT, C. SOUZA, L.S.; SILVA, V.S. Qualidade fisiológica de sementes de guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (Berg) Legrand – Myrtaceae) em armazenamento. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 435-442, 2010.

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

GUEDES, R.S; ALVES, E.U.; GONÇALVES, E.P.; VIANA, J.S.; SILVA, K.B.; GOMES, M.S.S. Metodologia para teste de tetrazólio em sementes de *Amburana cearenses* (Allemão) A.C. Smith. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 120-126, 2010.

GUOLLO, K.; FELIPPI, M.; POSSENTI, J.C. Germinação de sementes de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. em função de diferentes formas de coleta. **Ciência Florestal**, v. 26, n. 3, p. 979-984, 2016.

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

LABOURIAU, L.G. **A germinação de sementes**. Washington: Organização dos Estados Americanos, 1983. 174 p.

LAZAROTTO, M.; PIVETA, G.; MUNIZ, M.F.B.; REINIGER, L.R.S. Adequação do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Ceiba speciosa*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1243-1250, 2011.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum. 1992. 384 p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.1, n.1, p.176-177, 1962.

MASULLO, L.S.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; FIGLIOLIA, M.B.; AMÉRICO, C. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. seeds. **Journal of Seed Science**, v. 39, n. 2, p. 189-197, 2017.

MENDES, A.M.S.; BASTOS, A.A.; MELO, M.G.G. Padronização do teste de tetrazólio em sementes de *Parkia velutina* Benoist (Leguminosae – Mimosoideae). **Acta Amazônica**, v.39, n.4, p.823-828, 2009.

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

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

REZENDE, R.G.; JESUS, L. L.; NERY, M.C.; ROCHA, A.S.; CRUZ, S.M.; ANDRADE, P.C.R. Teste de tetrazólio em sementes de crambe. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 4, p. 2539-2544, 2015.

SANTOS, C.M.R.; FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E.A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 14, n. 2, p. 13-20. 2004.

SILVA, R.C.; GRZYBOWSKI, C.R.S.; FRANÇA-NETO, J.B.; PANOBIANCO, M. Adaptação do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 1, p. 105-113, 2013.

SOUZA, D.M.M.; BRUNO, R.L.A.; SILVA, KR.G.; TORRES, S.B.; ANDRADE, A.P. Viabilidade e vigor de sementes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz pelo teste de tetrazólio. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 2, p. 381-388, 2017.

SOUZA, L.S.; FIOR, C.S.; SOUZA, P.V.D.; SCHWARZ, S.F. Desinfestação de sementes e multiplicação *in vitro* de guabijuzeiro a partir de segmentos apicais juvenis (*Myrcianthes pungens* O.Berg) D. Legrand. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 691-697, 2011.

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

ZORZAL, A.T.; FANTINATO, D.E.; CAMPOS, L.M.; LUZ, A.C.C.; CORTE, V.B. Teste de tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes. **Natureza on line**, v. 13, n. 3, p. 144-149, 2015.

ZUCARELI, C.; MALAVASI, M.M.; FOGAÇA, C.A.; MALAVASI, U.C. Preparo e coloração de sementes de farinha-seca (*Albizia hasslerii* (Chodat) Burr.) para o teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 186-191, 2001.

#### **4 ARTIGO 2 - CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr. EM DIFERENTES EMBALAGENS EM AMBIENTE CONTROLADO**

**RESUMO:** Objetivou-se estudar o comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de *Myrcianthes pungens* armazenadas em diferentes embalagens por até 10 meses. Sementes foram coletadas em Toledo (M1), Pato Bragado (M2) e Marechal Cândido Rondon (M3). Inicialmente determinou-se o teor de água (TA), massa de matéria seca de sementes (MMS), peso de mil sementes (PMS), teste de germinação (TG) e teste de emergência (TE). Armazenou-se parte das sementes, em câmara fria e seca por zero, dois, quatro, seis, oito e dez meses. A cada avaliação realizou-se TA, TG (porcentagem de sementes mortas e (SM), sementes não germinadas, porém viáveis (SNG), índice de velocidade (IVG) e tempo médio de germinação (TMG), comprimento de plântulas (CP) e massa de matéria seca de plântulas (MSP)), tetrazólio (TZ) e mensuração da atividade respiratória (MAR). Os testes se deram em delineamento inteiramente casualizado, utilizando a análise não paramétrica de Friedman. O TA foi de 39,9, 40,4 e 39,3%, a MMS 122,8, 132,6 e 103 mg e o PMS 307,6, 327,9 e 261,9 g, a germinação inicial foi de 92, 86 e 85% e a emergência 82, 84 e 53%, para M1, M2 e M3 respectivamente. Durante o armazenamento, o TA para plástico e vidro variou pouco, já o papel decresceu. A germinação manteve-se até os dez meses para plástico e até os dois meses para vidro e papel. As variáveis SM, SNG, IVG, TMG, CP e MSP apresentaram variações ao longo do armazenamento. No TZ o plástico apresentou viabilidade até os dez meses, o vidro até dois meses e o papel até quatro meses. A MAR para plástico praticamente não variou, para vidro houve decréscimo e papel acréscimo. O plástico foi a melhor embalagem de armazenamento das sementes de *Myrcianthes pungens*, mantendo a viabilidade e vigor das mesmas pelo período de 10 meses. As demais embalagens, mantiveram a viabilidade e vigor por apenas 2 meses, não sendo recomendada para a espécie.

Palavras-chave: Guabiju; semente florestal; qualidade fisiológica; longevidade.

#### **ARTICLE 2 – CONSERVATION OF SEEDS OF *Myrcianthes pungens* (Berg) Legr. IN DIFFERENT PACKAGING IN A CONTROLLED ENVIRONMENT**

**ABSTRACT:** The aim was to study the physiological and biochemical behavior of *Myrcianthes pungens* seeds stored in different packages for up to 10 months. Seeds were collected in Toledo

(M1), Pato Bragado (M2) and Marechal Cândido Rondon (M3). The water content (WC), seed dry mass (SDM), weight of one thousand seeds (WTS), germination test (GT) and emergency test (ET) were determined initially. Part of the seeds were stored in a cold and dry chamber for zero, two, four, six, eight and ten months. Each evaluation was carried out WC, GT (percentage of dead seeds (DS), non-germinated but viable seeds (NGS), speed index (SI) and mean germination time (MGT), length of seedlings (LS) and dry matter mass of seedlings (DMS)), tetrazolium (ZT) and measurement of respiratory activity (MRA). The tests were done in a completely randomized design using Friedman's non-parametric analysis. The WC was 39,9, 40,4 and 39,3%, the SDM 122,8, 132,6 and 103 mg and the WTS 307,6, 327,9 and 261,9 g, the initial germination was 92, 86 and 85% and emergency 82, 84 and 53% for M1, M2 and M3 respectively. During storage, the WC for plastic and glass varied little, since the paper decreased. Germination was maintained up to ten months for plastic and up to two months for glass and paper. The variables DS, NGS, SI, MGT, LS and DMS presented variations throughout the storage. In the ZT the plastic presented viability until the ten months the glass until two months and the paper until four months. The MRA for plastic practically did not vary, for glass there was decreased and paper addition. The plastic was the best packaging of the seeds of *Myrcianthes pungens*, maintaining the viability and vigor of the seeds for the period of 10 months. The other packages, maintained viability and vigor for only 2 months, and are not recommended for the species.

Keywords: Guabiju; forest seed; physiological quality; longevity.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

*Myrcianthes pungens* (Berg) Legr., conhecida popularmente por guabiju, pertence à família Myrtaceae. A espécie é nativa e ocorre desde o estado de São Paulo até o norte do Uruguai, alcançando a Bolívia, Paraguai e Argentina (RASEIRA et al., 2004). Atualmente encontra-se em risco de extinção (IUCN, 2018). Os frutos da espécie são do tipo baga globosa, contendo de uma a duas sementes reniformes, as quais medem em torno de 6 a 7 mm (SOUZA et al., 2011).

Os frutos de guabiju são muito apreciados pela fauna nativa e também pelos humanos. A espécie pode ser utilizada para ornamentação, arborização urbana, embora ainda pouco utilizada para este fim (FIOR et al., 2010). A espécie pode ser fonte de renda para famílias de agricultores, tendo em vista que os frutos podem ser utilizados na elaboração de doces, iogurtes,

sucos, sorvetes, etc (HOSSEL et al., 2016). A madeira é própria para marcenaria de luxo, as flores são melíferas, além de a espécie ser recomendada para plantios mistos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente (LORENZI, 1992).

Tendo em vista as diversas finalidades da planta haverá sempre a necessidade da obtenção de mudas de alta qualidade e adaptadas aos diversos sítios de plantio. Visto que o principal meio de propagação se dá por sementes, a conservação *ex-situ* da espécie deve ser prioridade em programas de produção de mudas para as diversas finalidades de cultivo.

Entretanto, a espécie *M. pungens* apresenta limitações quando se trata de armazenamento (HOSSEL et al., 2016), pois suas sementes são classificadas como recalcitrantes. Sementes com este comportamento fisiológico possuem elevados teores de água por ocasião da maturação dos frutos e curta longevidade, mesmo em condições de elevada umidade do ar e baixa temperatura (FIOR et al., 2010). As sementes recalcitrantes não toleram dessecação abaixo de 40-50% de umidade podendo vir a comprometer sua viabilidade (OLIVEIRA; BRUNO; MENEGHELLO, 2015). Segundo Fior et al. (2010), uma forma de manter o poder germinativo por curtos períodos seria armazenar em embalagens que mantenham a umidade original, sob temperaturas de 4 °C a 6 °C.

Os métodos atuais de conservação *ex-situ* de sementes recalcitrantes são baseados na manutenção do índice de água. Existe um valor ótimo do teor de água, abaixo do qual podem ocorrer danos a germinação. Já acima desse valor ótimo, podem ocorrer reações metabólicas que levam ao desenvolvimento de microorganismos, e este fator pode ser impedido com a redução da temperatura no armazenamento (SCHORN; SILVA; MAGRO, 2010).

A preservação da qualidade das sementes durante o armazenamento requer a integração de vários fatores, como temperatura, umidade relativa, tipo de embalagem e grau de umidade das sementes, além do conhecimento prévio do comportamento fisiológico das sementes durante o armazenamento, visto que algumas sementes requerem condições especiais (GOMES et al., 2013), como a espécie *M. pungens*.

A conservação de sementes em condições ideais à espécie tem a função básica de manter as qualidades física, fisiológica e sanitária, preservando a viabilidade e vigor das sementes (MARCOS FILHO, 2015). Portanto, a avaliação da qualidade de sementes é muito importante para o sucesso do armazenamento e produção de mudas. O vigor é um dos aspectos mais importantes na análise de qualidade de sementes, tendo em vista que, o processo de deterioração está diretamente relacionado com a perda de vigor (CHEROBINI et al., 2008). O conhecimento do vigor e da viabilidade das sementes permite o conhecimento do potencial fisiológico das mesmas.

A condução de testes de vigor procura detectar diferenças significativas no potencial fisiológico, fornecendo informações adicionais às do teste de germinação. Simultaneamente, espera-se que os resultados daqueles testes permitam distinguir os lotes de alto dos de baixo vigor e que as diferenças encontradas estejam relacionadas ao comportamento das sementes durante o armazenamento e/ou após a sementeira. Os testes de viabilidade por sua vez, tem por objetivo verificar se a semente é ou não capaz de germinar, por meios diretos ou indiretos (MARCOS FILHO, 2015).

O parâmetro oficial utilizado para avaliar a qualidade fisiológica das sementes é o teste de germinação, o qual é realizado em condições controladas e ideais. O teste de germinação atua ainda como suporte para outras análises, porém, há algumas limitações quanto a sua condução, como atraso e possíveis modificações dos resultados devido a presença de fungos, assim sendo, torna-se necessário o emprego de testes rápidos e confiáveis para estimar a viabilidade de sementes armazenadas (CRIPA et al., 2014).

Dentre os testes rápidos mais estudados para a avaliação do vigor, estão os relacionados aos eventos iniciais do processo de deterioração, como degradação, perda de seletividade das membranas celulares e mudanças na atividade respiratória (DRANSKI et al., 2013).

O teste de tetrazólio é um exemplo de teste rápido, que tem por base a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas no processo de respiração (ABBADE; TAKAKI, 2014). Outro exemplo de teste rápido é a quantificação de CO<sub>2</sub>, realizada através de um analisador de gás infravermelho (IRGA) (DRANSKI et al., 2013).

Tendo em vista o risco de extinção da espécie e sua importância econômica e ecológica, além de sua utilização para fins de restauração florestal, torna-se importante seu armazenamento a fim de conservar as sementes para usos futuros. Desta forma, o objetivo do presente trabalho estudar o comportamento fisiológico e bioquímico de sementes de *Myrcianthes pungens* armazenadas em diferentes embalagens por um período de até 10 meses.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de *M. pungens* foram colhidos de árvores, provenientes de fragmentos florestais da Floresta Estacional Semidecidual. As colheitas foram efetuadas nos municípios de Toledo (24°38'15.85"S, 53°57'24.70"O, altitude de 354 m), Pato Bragado (24°37'22.02"S, 24°13'17.11"O, altitude de 270 m) e Marechal Cândido Rondon (24°33'04.50"S, 54°02'46.14"O, altitude de 420 m).

A colheita foi realizada manualmente quando os frutos apresentavam coloração roxa escura e iniciavam queda espontânea (LORENZI, 1992). Os frutos do tipo baga globosa foram despulpados manualmente em peneira sob água corrente, separando a semente do pericarpo. Para eliminar o excesso de água, as sementes foram secas à sombra por quatro dias.

A caracterização inicial dos locais de coleta de sementes foi realizada através do teor de água, massa de matéria seca de sementes, peso de mil sementes, teste de germinação e teste de emergência em ambiente protegido. O teor de água foi determinado pelo método da estufa a  $105\pm 3$  °C por 24 horas, utilizando quatro repetições de 25 sementes (BRASIL, 2009), quantificando-se também a massa de matéria seca das sementes (mg por semente). O peso de mil sementes foi realizado utilizando-se oito repetições de 100 sementes, seguindo recomendações de Brasil (2009).

Conduziu-se o teste de germinação, com oito repetições de 25 sementes para cada local de coleta, semeadas em vermiculita, umedecida até a saturação. O teste foi desenvolvido em câmara germinadora (BOD) a 25 °C (Fior et al., 2010) com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas diariamente até a estabilização. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais. O critério de plântula normal foi a presença de epicótilo, hipocótilo e radícula desenvolvidos e primeiro par de folhas definitivas.

Após a estabilização, aproximadamente 100 dias após a semeadura, calculou-se o índice de velocidade de germinação, conforme equação proposta por Maguire (1962), e o tempo médio de germinação, pela equação proposta por Laboriau (1983). Contabilizou-se também as sementes não germinadas que se encontravam viáveis, pelo teste de tetrazólio realizado após a finalização do teste de germinação e as sementes mortas

Para a condução do teste de emergência, utilizou-se oito repetições de 25 sementes para cada local de coleta, as quais foram semeadas em tubetes de 120 cm<sup>3</sup>, preenchidos com substrato comercial. A emergência foi conduzida em ambiente protegido com 50% de sombreamento, com irrigação 3x ao dia por aproximadamente 30 minutos. As avaliações foram realizadas diariamente até a estabilização, aproximadamente cinco meses após a semeadura, utilizando como parâmetro de emergência o surgimento do epicótilo, hipocótilo e primeiro par de folhas definitivas.

Após a estabilização, calculou-se o índice de velocidade de emergência e tempo médio de emergência. Contabilizou-se também a porcentagem de sementes não germinadas que se encontravam viáveis, pelo teste de tetrazólio realizado após a finalização do teste de emergência e a porcentagem sementes mortas.

#### 4.2.1 Armazenamento

As sementes dos três locais de coleta foram armazenadas em câmara fria e seca (11 °C e 6,3% UR), separadamente em sacos de papel tipo *kraft* trifoliado (600 mL), em vidro (do tipo conserva 600 mL) e em sacos plásticos (com aproximadamente 8 mm de espessura e 600 mL), com umidade inicial por zero, dois, quatro, seis, oito e dez meses. O saco de papel e plástico foram vedados com fita larga, a fim de selar completamente a abertura.

Para cada período de armazenamento e tipo de embalagem colocou-se o número de sementes necessárias para a realização dos testes teor de água (conforme já descrito), teste de germinação (conforme já descrito, utilizando-se neste caso quatro repetições de 25 sementes), teste de tetrazólio e mensuração da atividade respiratória, de modo que caso restassem sementes na embalagem as mesmas eram descartadas, não havendo assim, influência nas sementes que permaneceram armazenadas.

O teste de tetrazólio foi realizado utilizando-se quatro repetições de 25 sementes para cada variável (local de coleta (Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon), tipo de embalagem (sacos de papel e plástico e vidro) e período de armazenamento (zero, dois, quatro, seis, oito e dez meses).

As sementes foram acondicionadas entre papel umedecido por 24 horas, em BOD a 30 °C, sem tegumento. Posteriormente foram colocadas em solução de tetrazólio a 0,75% por 24 horas a 30 °C na ausência de luz. As sementes foram avaliadas individualmente com auxílio de lupa de mesa com lâmpada fluorescente no aumento de 6 x. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis.

A mensuração da atividade respiratória foi realizada no momento da instalação do experimento (sementes recém-colhidas) e a cada retirada dos lotes armazenados (dois, quatro, seis, oito e dez meses). A atividade respiratória foi quantificada através da medição da concentração de CO<sub>2</sub> liberado durante a respiração, com auxílio de um analisador de trocas gasosas – IRGA (LI-COR 6400 XT), segundo metodologia proposta por Dranski et al. (2013), realizando-se algumas modificações para a espécie em estudo.

Primeiramente determinou-se o teor de água das sementes. Quatro repetições de 25 sementes foram acondicionadas em frascos de vidro de penicilina com volume de 60 mL, posteriormente calculou-se o volume de água necessário para igualar o teor de água de todos os tratamentos.

Os frascos de penicilina permaneceram em BOD por 24 horas a 25 °C, após este período, os frascos foram devidamente lacrados com septo de borracha e lacre de alumínio e

acomodadas em BOD a 25 °C por uma hora e então realizou-se a leitura do conteúdo dos frascos.

Acoplada ao equipamento, uma injeção de ar livre de CO<sub>2</sub> foi equipada com um compressor de fluxo de ar ajustado 140 mL min<sup>-1</sup>, o qual injetou ar em um frasco de 50 mL, cheio de soda lime, frasco este devidamente selado com septo de borracha e lacre de alumínio. Para conectar o sistema formado pelo compressor, o recipiente com soda lime e o frasco de amostra, utilizou-se mangueiras de plástico com diâmetro de três mm e 15 cm de comprimento, juntamente com agulhas hipodérmicas descartáveis nas extremidades.

No equipamento foi anexado um segmento de mangueira plástica com as mesmas características descritas acima, sendo uma extremidade inserida na câmara de gás do IRGA e outra no frasco de amostra de sementes. No momento da amostra, duas agulhas foram inseridas no frasco da amostra e simultaneamente ligou-se o sistema de fluxo de ar.

O valor de cada leitura foi obtido através de leituras realizadas pelo aparelho a cada 0,5 segundo, até haver esgotamento total do conteúdo do frasco. A câmara do analisador de gás foi mantida na concentração constante de 380 µmol de CO<sub>2</sub>, com fluxo de 500 µmol s<sup>-1</sup>. Com os valores de cada repetição, os picos de gás foram ajustados para uma distribuição log normal e obtiveram a área do pico. Os resultados foram expressos em µmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> de sementes.

#### **4.2.2 Análise dos dados**

Os testes se deram em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados da caracterização inicial dos locais de coleta, para os testes de germinação e emergência foram submetidos aos cálculos de média e desvio padrão.

Para as análises durante o período de armazenamento (teor de água, germinação, tetrazólio e respiração) utilizou-se a análise não paramétrica, pois os dados não apresentaram normalidade e homogeneidade. Primeiramente analisou-se separadamente cada fator (período de armazenamento, embalagem e local de coleta) através do teste de Friedman e posteriormente realizou-se a comparação de médias, comparando-se as embalagens para cada período de armazenamento e os períodos de armazenamento para cada embalagem a 5% de probabilidade de erro. O programa utilizado para as análises foi o Sigmaplot 14.0 (versão trial).

### **4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

O teor de água das sementes colhidas, beneficiadas e não armazenadas foi de 39,9%, 40,4% e 39,3% para sementes de Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon, respectivamente. Resultados estes, similares a Santos, Ferreira e Áquila (2004) que encontraram o teor de água em torno de 40%. Fior et al. (2010) encontraram o teor de água entre 41,4 e 43,6%, os mesmos relataram que elevados teores de água no estádio de maturação são características de espécies recalcitrantes.

A massa de matéria seca das sementes foi de 122,8 mg, 132,6 mg e 103 mg para as sementes colhidas em Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon, respectivamente. O peso de mil sementes foi de 307,6 g, 327,9 g e 261,9 g para as sementes colhidas em Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon, respectivamente, pesos similares aos encontrados por Fior et al. (2010) que variaram entre 184,8 e 388,2 g ao estudar diferentes lotes e Santos, Ferreira e Áquila (2004) que encontraram peso de mil sementes de 287 g.

A maior quantidade de reservas aumenta a probabilidade de sucesso no estabelecimento da plântula, uma vez que permite a sobrevivência por mais tempo em condições ambientais desfavoráveis (PÁDUA et al., 2010).

No teste de germinação realizado inicialmente para caracterização dos locais de coleta, nenhum dos locais de coleta apresentou sementes mortas (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias e desvio padrão dos resultados para o teste de germinação, com sementes de *M. pungens* sem armazenamento.

| Germinação | Toledo      | Pato Bragado | Marechal Cândido Rondon |
|------------|-------------|--------------|-------------------------|
| G (%)      | 92 ± 5,2    | 86 ± 5,2     | 85 ± 9,3                |
| SNG (%)    | 2,5 ± 3     | 5 ± 3        | 2,5 ± 4,2               |
| SM         | 5,5 ± 6     | 9 ± 6        | 12,5 ± 8,4              |
| IVG        | 0,47 ± 0,06 | 0,47 ± 0,02  | 0,40 ± 0,05             |
| TMG (dias) | 52,17 ± 6,7 | 47,86 ± 2,2  | 56,56 ± 6,1             |

G: germinação; SNG: semente não germinada; SM: semente morta IVG: índice de velocidade de germinação; TMG: tempo médio de germinação.

Santos, Ferreira e Áquila (2004), trabalhando com a mesma espécie, obtiveram germinabilidade de 98%, porcentagem esta, superior à obtida no presente trabalho (85, 86 e 92%, Tabela 1). Embora as condições utilizadas pelos autores fossem as mesmas, os mesmos avaliaram a germinação no momento da protrusão radicular (igual ou maior que cinco mm), o que pode gerar uma diferença, tendo em vista que o presente trabalho avaliou como germinada

a formação da plântula normal. Santos, Ferreira e Áquila (2004) encontraram também o tempo médio de germinação inferior ao do presente trabalho (20,52 dias).

Fior et al. (2010), trabalhando com vários lotes de sementes, encontraram porcentagens de germinação entre 82 e 100%, porcentagens estas próximas às encontradas no presente trabalho. O tempo médio de germinação encontrado pelos autores acima foi entre 17,6 e 30,1 dias, tempos estes bem menores que os encontrados no presente trabalho, embora este fato possa estar ligado a avaliação da germinação, visto que os autores consideraram a germinação no momento da protrusão radicular (2 mm).

O IVG possui uma forte relação com a velocidade de germinação das sementes, sendo que, quanto maior o índice, maior será a velocidade de germinação das sementes, e quanto maior a velocidade de germinação, menor o tempo que a semente leva para germinar (OLIVEIRA et al., 2009).

Os resultados médios e desvio padrão do teste de emergência, realizado em ambiente protegido com 50% de sombreamento, encontram-se expressos na Tabela 2.

Tabela 2 - Médias e desvio padrão dos resultados para o teste de emergência, com sementes de *M. pungens* sem armazenamento.

| Emergência | Toledo        | Pato Bragado  | Marechal Cândido Rondon |
|------------|---------------|---------------|-------------------------|
| E (%)      | 82 ± 7,1      | 84 ± 6,8      | 53 ± 7                  |
| SNE (%)    | 6 ± 2,1       | 6 ± 4,3       | 7 ± 4,2                 |
| SM (%)     | 12 ± 6,0      | 10 ± 4,8      | 40 ± 7,8                |
| IVE        | 0,21 ± 0,02   | 0,21 ± 0,02   | 0,13 ± 0,01             |
| TME (dias) | 110,63 ± 5,41 | 113,89 ± 8,65 | 114,1 ± 12,41           |

E: emergência; SNE: semente não emergida; SM: semente morta; IVE: índice de velocidade de emergência; TME: tempo médio de emergência.

Fior et al. (2010) trabalhando com sementes de guabiju encontraram porcentagens de emergência entre 66 e 91%, porcentagens estas similares ao do presente trabalho (Tabela 2), embora os autores tenham avaliado como emergidas o aparecimento do epicótilo, e não da plântula como um todo, conforme avaliou-se no presente trabalho.

Hossel et al. (2016), trabalhando com emergência de sementes de guabiju observaram porcentagens de emergência de 54,58 e 65,21%, porcentagens essas similares as encontradas para as sementes coletadas em Marechal Cândido Rondon, porém inferiores aos demais locais de coleta. O IVE encontrado por Hossel et al. (2016) foi de 1,35 e 1,21, sendo superior ao do presente trabalho, que variou entre 0,13 e 0,21.

Comparando-se o teste de germinação (Tabela 1) e emergência (Tabela 2), observou-se que ambos tiveram porcentagens elevadas, com exceção da emergência de sementes coletadas em Marechal Cândido Rondon (53%). O índice de velocidade foi menor para o teste de emergência se comparada a de germinação, logo, o tempo de germinação foi menor que o de emergência.

Este fato pode ser explicado devido as condições ambientais, visto que, a germinação se deu em laboratório, onde as sementes estavam expostas a condições ideais de temperatura, luz e água. Sementes submetidas a emergência não tiveram condições controladas, ou seja, as temperaturas mostraram-se mais elevadas, chegando até 50 °C em dias mais quentes, bem como a quantidade de luz que em dias normais pode ter sido maior que 12 horas, e em dias nublados e chuvosos podem ter sido menores e em menor intensidade, fatores estes, que segundo Kerbauy (2004) podem influenciar positiva ou negativamente sobre a germinação de sementes.

Como pode-se verificar nos resultados dos testes aplicados às sementes coletadas em diferentes locais, é possível concluir que há diferenças, mesmo pertencendo a mesma espécie. Segundo Botezelli, Davide e Malavasi (2000), é importante trabalhar com frutos e sementes oriundos de diferentes localidades, pois pode-se constatar as diferenças fenotípicas determinadas pelas variações ambientais, assim, mesmo pertencendo a uma só espécie. Em cada localidade as sementes estão sujeitas a variações de temperatura, horas de luz por dia, índices de pluviosidade e outras variantes que acabam por ressaltar certos aspectos de sua composição genética, ou seja, o meio pode ser adequado para a expressão de determinadas características, que em outro local poderiam não se manifestar.

#### **4.3.1 Armazenamento**

Foi possível observar que as maiores porcentagens de teor de água foram para sementes armazenadas em plástico e vidro, diferindo significativamente do saco de papel, durante o armazenamento, fato este que se aplicou para todos os locais de coleta (Tabela 3).

Ao analisar o comportamento das embalagens ao longo do armazenamento, verificou-se que para o plástico, houve redução do teor de água, e de modo geral um aumento aos 8 meses de armazenamento, diferindo significativamente dos demais períodos de armazenamento. O vidro de modo geral apresentou comportamento similar ao plástico, com variações ao longo do armazenamento. O saco de papel apresentou decréscimo do teor de água, diferindo significativamente. Para o saco de papel verificou-se em todos os locais de coleta, que houve aumento do teor de água aos 10 meses. A variação do teor de água ao longo do armazenamento,

para sementes do plástico e vidro variaram em até 6%, em contrapartida, as sementes do saco de papel apresentaram variação média de 29,6% de redução (Tabela 3).

Tabela 3 – Resultados médios do teor de água (%) de sementes de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo  |         |        | Pato Bragado |         |        | Marechal Cândido Rondon |        |        |
|-----|---------|---------|--------|--------------|---------|--------|-------------------------|--------|--------|
|     | R1      | R2      | R3     | R1           | R2      | R3     | R1                      | R2     | R3     |
| 0   | 39,9aB  | 39,9aD  | 39,9aA | 40,4aC       | 40,4aD  | 40,4Aa | 39,3aD                  | 39,3aC | 39,3aA |
| 2   | 40,7bB  | 43,2aAB | 19,6cB | 42,1aAB      | 43,1aB  | 26,7bB | 42,7bB                  | 44,7aA | 23,2cB |
| 4   | 40,7aB  | 40,4aCD | 12,1bD | 42,1aAB      | 42,1aC  | 13,3bD | 42,7aB                  | 43aBC  | 13,5bC |
| 6   | 41,3aAB | 41,9aBC | 10,2bE | 39,8bBC      | 42,7aBC | 9,3cE  | 41,4bC                  | 43,3aB | 10,2cE |
| 8   | 42,9aA  | 43,9aA  | 10,2bE | 43,1aA       | 43,9aA  | 9,3bE  | 45,2aA                  | 44,3bA | 10,2cE |
| 10  | 42aAB   | 43,6aA  | 13,1bC | 42,9bA       | 44,1aA  | 14,5cC | 44,9aA                  | 45,1aA | 12,7bD |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p>0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Garcia et al. (2014) trabalhando com sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, armazenaram por até 180 dias em sacos de polietileno e refrigerador (5 °C) e observaram que o teor de água se manteve próximo ao inicial, embora com pequenas variações, resultado este parecido com o de Leonhardt, Calil e Fior (2010), com armazenamento de *Myrcia glabra* (O.Berg) e *Myrcia Palustres* DC. em câmara fria (5 °C) por 150 dias, resultados também similares aos de Ferreira e Gentil (2003) com sementes de *Myrciaria dúbia* (H.B.K) McVaugh em ambiente refrigerado (10 °C). Esses resultados se mostraram próximos ao do presente trabalho, onde a variação do teor de água não ultrapassou 6% (Tabela 3).

Hossel et al. (2017) trabalhando com sementes de *Eugenia pyriformis* (Cambess) observaram perda do teor de água ao longo do armazenamento em sacos de papel e refrigerador (5 °C), fato constatado também no presente trabalho. O mesmo foi verificado por Hossel et al. (2016) trabalhando com sementes de *M. pungens* armazenadas em geladeira (5 °C). Segundo os autores, um fator de extrema importância no armazenamento é a embalagem, tendo em vista que os sacos de papel são embalagens permeáveis.

Kaiser (2016) ao armazenar sementes de *Allophylus edulis* [(A. ST.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. Ex Niederl.] com teor de água de 30, 10 e 5% em sacos de papel e câmara seca, observou a perda de água nos teores de 30 e 10% com o avanço do armazenamento, resultado esperado, pois segundo a autora, as sementes por possuírem natureza higroscópica, tem seu teor de água oscilando entre elas e o ambiente de armazenamento.

Catunda et al. (2003), trabalhando com armazenamento de sementes de maracujá observaram que, as sementes acondicionadas em embalagens impermeáveis praticamente não apresentaram variação no teor de água, independente do ambiente de armazenamento. Entretanto as sementes armazenadas em embalagem permeável alcançaram a umidade em equilíbrio com o ambiente de armazenamento, isto segundo os autores acima citados ocorre constantemente, sempre que houver mudanças na temperatura e umidade relativa do ar, as sementes buscarão o equilíbrio, quando em embalagem permeável.

Segundo Pinto Junior et al. (2012), mudanças na temperatura e umidade relativa do ar provocam constantes ajustes no teor de água das sementes armazenadas em embalagem permeável. Por sua vez, sementes armazenadas em vidro (impermeável), não apresentaram mudanças no teor de água, ou seja, a embalagem é eficiente quanto a manutenção do teor de água das sementes durante o armazenamento. Os autores constataram isso ao analisar o armazenamento de sementes de *Jatropha curcas* L., visto que, as sementes armazenadas em sacos de papel perderam água, já nas demais embalagens praticamente não houve alteração.

Matos et al. (2008) relataram que ao armazenar sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. em câmara (18 °C) e frascos de vidro, observaram que não houve diferença significativa no teor de água ao longo dos 225 dias de armazenamento, fato este, similar ao presente trabalho, onde o teor de água teve variação máxima de 6% ao longo do armazenamento. Gusatto (2015) trabalhando com sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel, verificou que o teor de água permaneceu com pouca variação durante os 12 meses que estudou.

Segundo Cardoso, Binotti e Cardoso (2012), as embalagens utilizadas no armazenamento devem ajudar a diminuir a velocidade do processo de deterioração, mantendo o teor de água inicial das sementes armazenadas, a fim de diminuir a respiração. Os autores complementaram que a deterioração de sementes está diretamente ligada as características das embalagens onde são armazenadas, dependendo da maior ou menor facilidade para trocas de vapor de água entre as sementes e a atmosfera e das condições do ambiente de armazenamento.

As modificações do teor de água das sementes no presente trabalho podem ser explicadas devido ao fato da câmara fria ter sido aberta frequentemente durante alguns períodos, fazendo com que houvesse oscilação de temperatura e umidade do ambiente. Logo, as sementes armazenadas em saco de papel, responderam rapidamente a essa mudança do microclima do ambiente, em contrapartida, as embalagens semipermeáveis e impermeáveis não se alteraram tanto, devido ao fato de não fazerem a troca de teor de água com o ambiente (no caso do vidro) e em menor eficiência (no caso do plástico).

Ao verificar a germinação constatou-se que se manteve até o final do armazenamento apenas para sementes armazenadas em plástico. As sementes armazenadas em vidro e saco de papel germinaram apenas até os 2 meses (Tabela 4). Ao analisar cada embalagem ao longo do armazenamento, observou-se que houve variação, com acréscimos e decréscimos, sendo as maiores porcentagens 90% para Toledo e 91% para Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon. Para sementes do vidro, para Toledo e Marechal Cândido Rondon aos 2 meses as porcentagens se mostraram baixas (16 e 3% respectivamente), Pato Bragado por sua vez apresentou 80% de germinação. Para o saco de papel, as porcentagens foram baixas nos três locais de coleta aos 2 meses (7, 16 e 8% para Toledo, Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon, respectivamente).

Tabela 4 – Resultados médios de germinação (%) de sementes de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo |      |      | Pato Bragado |      |      | Marechal Cândido Rondon |      |      |
|-----|--------|------|------|--------------|------|------|-------------------------|------|------|
|     | R1     | R2   | R3   | R1           | R2   | R3   | R1                      | R2   | R3   |
| 0   | 74aC   | 74aA | 74aA | 86aB         | 86aA | 86aA | 85aAB                   | 85aA | 85aA |
| 2   | 78aC   | 16bB | 7bB  | 93aA         | 80bA | 16cB | 83aAB                   | 3bB  | 8bB  |
| 4   | 79aBC  | 0Bc  | 0bC  | 87aAB        | 0bB  | 0bC  | 74aB                    | 0bC  | 0bC  |
| 6   | 90aA   | 0bC  | 0bC  | 91aAB        | 0bB  | 0bC  | 91aA                    | 0bC  | 0bC  |
| 8   | 88aAB  | 0bC  | 0bC  | 90aAB        | 0bB  | 0bC  | 83aAB                   | 0bC  | 0bC  |
| 10  | 87aAB  | 0bC  | 0bC  | 86aAB        | 0bB  | 0bC  | 91aA                    | 0bC  | 0bC  |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p>0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Fior et al. (2010), trabalhando com sementes de *M. pungens* armazenadas por até oito meses em polietileno em câmara fria verificaram que as porcentagens se mantiveram acima de 80% até os cinco meses e posteriormente diminuíram, porém, a germinação se manteve até o final do armazenamento. Comparando-se ao presente trabalho, verificou-se a similaridade, embora neste, as porcentagens de germinação foram mais elevadas na maioria das avaliações, e aos dez meses a porcentagem estava acima de 91% (Tabela 4) para sementes armazenadas no plástico.

Leonhardt, Calil e Fior (2010) trabalhando com sementes de *Myrcia glabra* D. Legrand e *Myrcia palustris* DC. armazenadas em câmara fria (5 °C) e polietileno, observaram que a germinação apresentou diferença significativa após 90 e 110 dias de armazenamento, quando houve redução da viabilidade e aos 180 dias as sementes apresentaram 58% de germinação, diferente do presente trabalho, onde as sementes aos 180 dias apresentavam em torno de 90%.

Batista et al. (2011) trabalhando com sementes de *Cedrela odorata* L. verificaram que embora houvesse uma diminuição da germinação durante o armazenamento em geladeira (7-8 °C e 78-80% de umidade relativa), as sementes armazenadas em sacos plásticos tiveram menor declínio, se comparadas às dos sacos de papel, isto porque a baixa temperatura e alta umidade relativa do ar, junto da embalagem semipermeável proporcionou condições favoráveis, o que minimizou a velocidade de deterioração das sementes.

Medeiros e Zanon (1998), trabalhando com armazenamento de sementes de *Podocarpus lambertii* Klotzch Ex E Ndl. em ambiente controlado (câmara fria e câmara seca) em embalagem permeável (papel) e semipermeável (polietileno) constataram que foi possível manter o potencial germinativo pelos 360 dias estudados, para sementes armazenadas em polietileno. As sementes armazenadas em saco de papel, por sua vez perderam progressivamente a viabilidade.

Hossel et al. (2017) estudando o armazenamento de sementes de *Eugenia pyriformis* Cambess em refrigerador (5 °C) e sacos de papel, observaram que a medida que o teor de água reduziu, ao longo do armazenamento, o poder germinativo e índice de velocidade de germinação também reduziram. No presente trabalho foi possível verificar que no caso do saco de papel, a redução do teor de água das sementes mostrou-se prejudicial, visto que sementes com teor de água entre 12,1 e 13,5%, (Tabela 3) não germinaram mais (Tabela 4). Por outro lado, as sementes armazenadas em vidro, mantiveram seu teor de água (Tabela 3), contudo, não germinaram aos quatro meses em diante (Tabela 4).

Barbedo, Bilia e Figueiredo-Ribeiro (2002) trabalhando com armazenamento de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. observaram que ao armazenar em baixas temperaturas (7 °C) e embalagem impermeável (vidro), quase não houve germinação das sementes. A embalagem permeável (saco de papel) por sua vez, manteve a elevada capacidade germinativa, ao contrário do presente trabalho onde sementes armazenadas em saco de papel germinaram por até dois meses apenas, já as armazenadas em vidro corroboram com os resultados de Barbedo, Bilia e Figueiredo-Ribeiro (2002).

Matos et al. (2008) estudando o armazenamento de sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. em câmara (18 °C) verificaram que, sementes armazenadas em vidro tiveram sua germinação mantida até 135 dias, e posteriormente apresentou redução drástica na porcentagem. As sementes armazenadas em sacos de papel apontaram redução na porcentagem de germinação ao longo do armazenamento. Por outro lado, as sementes armazenadas em saco de polietileno tiveram um decréscimo baixo. Estes fatos corroboram com

o presente trabalho, onde sementes armazenadas em vidro e sacos de papel tiveram redução drástica da germinação, já a semente do saco plástico manteve seu potencial germinativo.

Foi possível observar que, ao passo que não houve mais germinação das sementes armazenadas em vidro e papel (Tabela 4), houve o acréscimo da porcentagem de sementes mortas (Tabela 5), sendo para o papel a partir dos 8 meses 100% de mortalidade, para as sementes do vidro por sua vez, aos 4 meses houve 100%, diferindo significativamente, em ambos os casos. As sementes do plástico, por sua vez apresentaram variações ao longo do armazenamento, sendo a maior porcentagem de sementes mortas, 20% aos 4 meses para Toledo, 12% aos 0 meses para Pato Bragado e 26% aos 4 meses para Marechal Cândido Rondon. Comparando-se as embalagens, verificou-se que as porcentagens do vidro e papel foram maiores e significativamente diferentes das do plástico, para todos os locais de coleta.

Tabela 5 – Resultados médios de sementes mortas (%) de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo |       |       | Pato Bragado |       |       | Marechal Cândido Rondon |       |       |
|-----|--------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------------------------|-------|-------|
|     | R1     | R2    | R3    | R1           | R2    | R3    | R1                      | R2    | R3    |
| 0   | 16aA   | 16aC  | 16aD  | 12aA         | 12aB  | 12aD  | 11aBC                   | 11aC  | 11aC  |
| 2   | 18bA   | 69aB  | 84aBC | 7cA          | 16bB  | 80aC  | 15cAB                   | 95aB  | 83bB  |
| 4   | 20cAB  | 100aA | 83bB  | 10cA         | 100aA | 86bB  | 26cA                    | 100aA | 83bB  |
| 6   | 10cBC  | 100aA | 73bC  | 9cA          | 100aA | 84bBC | 9cBC                    | 100aA | 82bB  |
| 8   | 9bC    | 100aA | 100aA | 8bA          | 100aA | 100aA | 12bB                    | 100aA | 100aA |
| 10  | 7bC    | 100aA | 100aA | 9bA          | 100aA | 100aA | 4bC                     | 100aA | 100aA |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p > 0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

A porcentagem média de sementes não germinadas, porém viáveis do plástico apresentou baixas porcentagens e variações, assim como na porcentagem de germinação (Tabela 4) e sementes mortas (Tabela 5). No caso de sementes não germinadas, porém viáveis, as porcentagens foram menores (Tabela 6), do que as de sementes mortas. Para sementes do vidro, verificou-se que aos 4 meses em diante a porcentagem de sementes não germinadas foi nula, visto que as sementes se encontravam mortas (Tabela 5). Para sementes do papel, a porcentagem foi nula aos 8 e 10 meses, antes deste período, as porcentagens variaram. Comparando-se as embalagens, verificou-se que com exceção dos valores nulos, as sementes do plástico tiveram as menores porcentagens e diferiram significativamente das demais.

Tabela 6 – Resultados médios de sementes não germinadas, porém viáveis (%) de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo |      |      | Pato Bragado |      |      | Marechal Cândido Rondon |     |      |
|-----|--------|------|------|--------------|------|------|-------------------------|-----|------|
|     | R1     | R2   | R3   | R1           | R2   | R3   | R1                      | R2  | R3   |
| 0   | 10aA   | 10aA | 10aC | 2aAB         | 2aAB | 2aBC | 4aA                     | 4aA | 4aC  |
| 2   | 4bBC   | 15aA | 9abC | 0bB          | 4aA  | 4aB  | 2bAB                    | 2bA | 9aB  |
| 4   | 1bC    | 0bB  | 17aB | 3bAB         | 0cB  | 14aA | 0bB                     | 0bB | 17aA |
| 6   | 0bC    | 0bB  | 27aA | 0bB          | 0bB  | 16aA | 0bB                     | 0bB | 18aA |
| 8   | 3aBC   | 0aB  | 0aD  | 2aAB         | 0aB  | 0aC  | 5aA                     | 0bB | 0bD  |
| 10  | 6aAB   | 0bB  | 0bD  | 5aA          | 0bB  | 0bC  | 5aA                     | 0bB | 0bD  |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p>0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Comparando-se o índice de velocidade de germinação (IVG) para as diferentes embalagens, verificou-se que o plástico foi o que apresentou maiores índices de velocidade, diferindo significativamente das demais embalagens, com exceção da avaliação no tempo zero, fatos estes observados em todos os locais de coleta (Tabela 7). Para sementes do plástico constatou-se uma variação constante ao longo do armazenamento. Para sementes do vidro e papel, houve diminuição do índice de velocidade de germinação.

Tabela 7 – Resultados médios do índice de velocidade de germinação de sementes de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo  |        |        | Pato Bragado |        |        | Marechal Cândido Rondon |        |        |
|-----|---------|--------|--------|--------------|--------|--------|-------------------------|--------|--------|
|     | R1      | R2     | R3     | R1           | R2     | R3     | R1                      | R2     | R3     |
| 0   | 0,33aC  | 0,33aA | 0,33aA | 0,46aC       | 0,46aA | 0,46aA | 0,43aE                  | 0,43aA | 0,43aA |
| 2   | 0,64aAB | 0,09bB | 0,03cB | 0,52aB       | 0,41bB | 0,02cB | 0,48aDE                 | 0,01bB | 0,03bB |
| 4   | 0,71aA  | 0bC    | 0bC    | 0,60aA       | 0bC    | 0bC    | 0,64aBC                 | 0bC    | 0bC    |
| 6   | 0,74aA  | 0bC    | 0bC    | 0,50aB       | 0bC    | 0bC    | 0,74aAB                 | 0bC    | 0bC    |
| 8   | 0,50aBC | 0bC    | 0bC    | 0,54aAB      | 0bC    | 0bC    | 0,54aCD                 | 0bC    | 0bC    |
| 10  | 0,55aAB | 0bC    | 0bC    | 0,43aC       | 0bC    | 0bC    | 0,84aA                  | 0bC    | 0bC    |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p>0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Para o tempo médio de germinação (TMG) verificou-se que ao passo que o índice de velocidade de germinação aumentou (Tabela 7), o tempo médio de germinação reduziu (Tabela 8). Entre as embalagens não houve diferença significativa, com exceção do vidro e papel a partir

do 4º mês, onde não se observou mais germinação (Tabela 4). Ao verificar o comportamento ao longo do armazenamento, constatou-se que sementes armazenadas em plástico mostraram variações ao longo do tempo, assim como para outras variáveis analisadas. Por sua vez, o vidro e saco de papel para sementes coletadas em Toledo e Pato Bragado apresentaram diminuição significativa e para Marechal Cândido Rondon não houve diferença significativa entre a avaliação inicial (0 meses) e os 2 meses.

Tabela 8 – Resultados médios do tempo médio de germinação (dias) de sementes de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo  |        |        | Pato Bragado |        |        | Marechal Cândido Rondon |        |        |
|-----|---------|--------|--------|--------------|--------|--------|-------------------------|--------|--------|
|     | R1      | R2     | R3     | R1           | R2     | R3     | R1                      | R2     | R3     |
| 0   | 63,8aA  | 63,8aA | 63,8aA | 49,7aAB      | 49,7aA | 49,7aA | 53,8aA                  | 53,8aA | 53,8aA |
| 2   | 41,5aBC | 45,0aB | 45,9aB | 48,0aBC      | 53,2aB | 55,7aB | 48,6aA                  | 39,5aA | 31,8aB |
| 4   | 34,6aC  | 0bC    | 0bC    | 38,9aD       | 0bC    | 0bC    | 34,3aC                  | 0bB    | 0bC    |
| 6   | 33,8aC  | 0bC    | 0bC    | 49,9aB       | 0bC    | 0bC    | 33,7aC                  | 0bB    | 0bC    |
| 8   | 47,5aAB | 0bC    | 0bC    | 43,6aCD      | 0bC    | 0bC    | 43,2aB                  | 0bB    | 0bC    |
| 10  | 47,3aAB | 0bC    | 0bC    | 56,4aA       | 0bC    | 0bC    | 33,2aC                  | 0bB    | 0bC    |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p > 0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Foi possível constatar nas Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8 que, ao passo que a porcentagem de germinação diminuiu, houve aumento na porcentagem de sementes mortas, detectou-se algumas sementes não germinadas, porém viáveis e além disto, o índice de velocidade de germinação diminuiu assim como o tempo médio de germinação aumentou, principalmente para as sementes armazenadas em vidro e saco de papel. Entretanto, para o plástico, essa relação não foi observada. Neste caso, para as sementes coletadas em Toledo e Pato Bragado, observou-se uma redução no índice de velocidade de germinação e aumento do tempo médio de germinação à medida que aumentou o tempo de armazenamento.

Silva et al. (2011) verificaram em sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich. armazenadas em câmara fria (8 °C) e polietileno, que houve queda acentuada IVG até os três meses, seguindo com estabilidade até os 12 meses. Neves et al. (2014), ao estudar o armazenamento de sementes de *Tabebuia aurea* Benth. & Hook. armazenadas em sacos plásticos e sacos de papel em geladeira (13 °C) observaram variações do IVG ao longo do tempo de armazenamento, observando acréscimos e decréscimos (1,76 aos 30 dias de armazenamento, aumentou aos 150 dias, 2,44 e diminuiu, chegando a 1,38 aos 360 dias).

Similar ao presente trabalho, onde verificou-se variação do IVG ao longo do armazenamento. Leonhardt, Calil e Fior (2010) trabalhando com armazenamento de sementes de *Myrcia palustris* DC. armazenadas em câmara fria (5 °C) e sacos de polietileno, verificaram redução do IVG aos 150 dias do armazenamento. Já o presente trabalho avaliando-se os três locais de coleta, cada um apresentou redução em momentos diferentes.

Matos et al. (2008) trabalhando com armazenamento de sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. em câmara (18 °C) observaram que, sementes armazenadas em frasco de vidro apresentaram queda progressiva no índice velocidade de germinação, já sementes armazenadas em sacos de papel a redução ocorreu aos 45 dias, mantendo-se constante até os 180 e voltando a reduzir aos 225. Para as sementes acondicionadas em polietileno, a germinação foi lenta até os 135 dias e nos últimos meses teve leve aumento.

No presente trabalho o IVG para sementes armazenadas em vidro e coletadas em Toledo e Marechal Cândido Rondon, observou-se uma drástica redução. Para as sementes coletadas em Pato Bragado a redução não foi tão drástica, embora, aos quatro meses em diante o IVG foi nulo para todos os locais de coleta.

Kaiser (2016) trabalhando com armazenamento de sementes de *Allophylus edulis* [(A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron Ex Niederl.] em sacos de papel verificou que as sementes com teor de água de 30% tiveram redução mais expressiva no IVG.

Ferreira et al. (2010) trabalhando com sementes de *Apeia tibourbou* Aubl. armazenadas em câmara (18 °C) verificaram que sementes armazenadas em vidro e sacos de papel tiveram o índice de velocidade de germinação reduzidos.

Gusatto (2015) relatou que, sementes recalcitrantes não suportam armazenamento, apresentando queda na germinação e vigor, representado pelo índice de velocidade de germinação. A autora verificou que, a redução do teor de água demonstra a perda de viabilidade, visto que, aumentou o tempo decorrido para a germinação de sementes de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel armazenadas em embalagem de vidro.

Segundo Santos, Ferreira e Áquila (2004), quando o TMG é mais longo que trinta dias, sugere-se uma dormência inicial pouco pronunciada, fator este que pode ter determinado a variação da germinação ao longo do armazenamento (com acréscimos e decréscimos), bem como as variações das porcentagens de sementes não germinadas, porém viáveis, sementes mortas, IVG e tempo médio de germinação. No presente trabalho foi possível verificar que em poucos casos o TMG esteve próximo de 30 dias.

Segundo Marcos Filho (2015), quando a protrusão radicular é retardada, produtos da fermentação, como o etanol, podem influenciar negativamente a germinação, desta forma,

como observou-se no presente trabalho, o índice de velocidade de germinação foi menor em embalagem de vidro para Toledo e Marechal Cândido Rondon e em saco de papel para os três locais de coleta (tabela 5), assim como a porcentagem de germinação (Tabela 4).

Foi possível verificar que para o comprimento de plântulas normais (cm), de todos os locais de coleta apenas a embalagem de plástico teve plântulas normais até o final do período de armazenamento (Tabela 9). As demais embalagens obtiveram plântulas normais até os dois meses. Para os locais de coleta Toledo e Pato Bragado aos dois meses não houve diferença significativa para as embalagens de plástico e vidro. Para as sementes coletadas em Marechal Cândido Rondon não houve diferença significativa entre as embalagens no período de dois meses. Após este período as embalagens vidro e saco de papel diferiram do plástico. Comparando-se o comportamento das embalagens ao longo do tempo, verificou-se variação para plântulas no plástico. Para o vidro, houve aumento do comprimento de plântulas e para o papel diminuição, para todos os locais de coleta.

Tabela 9 – Resultados médios do comprimento de plântulas normais (cm) obtidas no teste de germinação de sementes de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo  |        |        | Pato Bragado |        |        | Marechal Cândido Rondon |        |        |
|-----|---------|--------|--------|--------------|--------|--------|-------------------------|--------|--------|
|     | R1      | R2     | R3     | R1           | R2     | R3     | R1                      | R2     | R3     |
| 0   | 14,6aA  | 14,6aB | 14,6aA | 11,6aB       | 11,6aB | 11,6aA | 14,2aAB                 | 14,2aA | 14,2aA |
| 2   | 14,4aA  | 15,7aA | 8,4bB  | 13aAB        | 13,4aA | 11,4bA | 13,6aBC                 | 13,7aA | 7aB    |
| 4   | 15,1aA  | 0bC    | 0bC    | 12aAB        | 0bC    | 0bB    | 12,2aC                  | 0bB    | 0bC    |
| 6   | 15,1aA  | 0bC    | 0bC    | 12,3aAB      | 0bC    | 0bB    | 12,1aC                  | 0bB    | 0bC    |
| 8   | 14,3aAB | 0bC    | 0bC    | 13,3aA       | 0bC    | 0bB    | 14,5aAB                 | 0bB    | 0bC    |
| 10  | 12,9aB  | 0bC    | 0bC    | 12,6aAB      | 0bC    | 0bB    | 14,6aA                  | 0bB    | 0bC    |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p > 0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Ferreira e Gentil (2003), trabalhando com armazenamento de sementes de *Myrciaria dúbia* (H.B.K.) McVaugh. em ambiente refrigerado (10 °C) e em polietileno, observaram que a altura de plântulas se manteve inalterada durante o armazenamento (variando de 6,5 a 6,9 cm), fato similar ao presente trabalho, onde a variação das medidas foi pequena (2,2 cm para Toledo, 1,33 cm para Pato Bragado e 2,5 cm para Marechal Cândido Rondon, Tabela 9).

Guedes et al. (2012) estudando o armazenamento em câmara fria para sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. observaram que para plástico houve pequena redução linear

do comprimento de plântulas, já para plântulas advindas do armazenamento em saco de papel houve redução acentuada do comprimento. Monteiro (2017) ao estudar o armazenamento de sementes de *Punica granatum* L. em polietileno em câmara de germinação (5 °C), verificou que aos 30 dias já houve redução do comprimento médio tanto da parte aérea como da radicular.

Ferreira et al. (2010) trabalhando com comprimento de raiz de plântulas de *Apeiba tibourbou* Aubl. armazenadas em câmara (18 °C) em vidro, saco de papel e polietileno apresentaram aumento de comprimento ao longo dos 225 dias, fato que foi possível observar também em algumas condições do presente trabalho (Tabela 6).

Quadros (2013) trabalhando com armazenamento de sementes de *Spondias mombin* L. em embalagem impermeável verificou decréscimo dos comprimentos de plântulas. Segundo o autor, sementes cujas plântulas possuem os maiores valores médios de comprimento, são consideradas mais vigorosas, assim, sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, em razão da maior capacidade de translocação de reservas e maior assimilação destas pelo eixo embrionário.

Para os resultados médios de massa de matéria seca de plântulas normais, pôde-se observar que no período de dois meses de armazenamento o vidro obteve maior média, para o local de coleta Toledo (150 mg), já para Pato Bragado a maior média foi para sementes armazenadas em sacos de papel (103 mg) e para as sementes coletadas em Marechal Cândido Rondon, não houve diferença entre as embalagens neste período (68, 102 e 79 mg para plástico, vidro e saco de papel, respectivamente, Tabela 10). Para os períodos de quatro a dez meses, apenas as sementes armazenadas em plástico germinaram e geraram plântulas normais, e, portanto, as maiores médias, se comparado as sementes armazenadas nos vidros e sacos de papel, que resultaram em valores nulos.

Quanto ao comportamento das embalagens ao longo do armazenamento, verificou-se que o vidro e papel para sementes de Toledo não diferiram significativamente nos 0 e 2 meses, entretanto, o vidro para Pato Bragado e Marechal Cândido Rondon e papel para Marechal Cândido Rondon tiveram diminuição da massa de matéria seca, e plântulas do papel de Pato Bragado apresentou aumento da massa de matéria seca. Plântulas no plástico variaram assim como as demais variáveis analisadas no teste de germinação.

Ferreira e Gentil (2003), trabalhando com armazenamento de sementes de *Myrciaria dúbia* (H.B.K.) McVaugh em ambiente refrigerado (10 °C) e em sacos de polietileno, observaram que a massa de matéria seca tendeu a aumentar no decorrer do armazenamento até 150 dias (0,077 mg aos 30 dias e 0,115 mg aos 150 dias). No presente trabalho a massa de matéria seca mostrou variação ao longo do armazenamento.

Tabela 10 – Resultados médios da massa de matéria seca de plântulas normais (mg) obtidas na germinação de sementes de *M. pungens* submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo  |       |       | Pato Bragado |       |       | Marechal Cândido Rondon |       |       |
|-----|---------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------------------------|-------|-------|
|     | R1      | R2    | R3    | R1           | R2    | R3    | R1                      | R2    | R3    |
| 0   | 132aA   | 132aA | 132aA | 101aA        | 101aA | 101aB | 172aA                   | 172aA | 172aA |
| 2   | 80aBC   | 150aA | 121aA | 70cB         | 78bB  | 103aA | 68aC                    | 102aB | 79aB  |
| 4   | 72aC    | 0bB   | 0bB   | 118aAB       | 0bC   | 0bC   | 128aAB                  | 0bC   | 0bC   |
| 6   | 84aB    | 0bB   | 0bB   | 85aAB        | 0bC   | 0bC   | 90aBC                   | 0bC   | 0bC   |
| 8   | 73aC    | 0bB   | 0bB   | 77aB         | 0bC   | 0bC   | 72aC                    | 0bC   | 0bC   |
| 10  | 92,6aAB | 0bB   | 0bB   | 92aAB        | 0bC   | 0bC   | 102aAB                  | 0bC   | 0bC   |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p > 0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Pádua (2017) trabalhando com armazenamento de sementes de *Acacia mangium* Willd. em sacos de polietileno e ambiente refrigerado observou redução da massa de matéria seca de plântulas, ao comparar o período inicial ao final, embora durante o armazenamento tenha havido acréscimos e decréscimos do valor, fato este similar ao observado no presente trabalho. Segundo o autor, essa diminuição da massa de matéria seca de plântulas pode estar associada a menor eficiência na mobilização das reservas durante o processo de germinação, logo, sementes mais vigorosas produzirão plântulas com maior acúmulo de biomassa.

Monteiro (2017) trabalhando com armazenamento de sementes de *Punica granatum* L. em polietileno, saco de papel e vidro observou que houve aumento significativo da massa de matéria seca aos 30 dias, se comparado ao controle. No presente trabalho ao avaliar aos dois meses verificou-se uma redução relevante da massa de matéria seca de plântulas. O autor verificou também que até os 120 dias de armazenamento houve variação da massa de matéria seca de plântulas, intercalando em acréscimos e decréscimos do valor, conforme pôde ser observado no presente trabalho.

Ferreira et al. (2010) observaram que para sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. armazenadas em câmara (18 °C) apresentou redução quando as sementes foram acondicionadas em sacos de papel, nas demais embalagens (vidro e saco de polietileno) não houve alteração. No presente trabalho, a massa de matéria seca de plântulas armazenadas em sacos de papel apresentou redução de medidas em dois locais de coleta (Toledo e Marechal Cândido Rondon, sendo que no último houve diferença estatística significativa). Nas demais embalagens, houve redução da massa de matéria seca de plântulas.

Batista (2015) trabalhando com sementes de *Piper marginatum* L. acondicionadas em saco de papel e vidro, verificou a redução da massa de matéria seca de plantas, e atribuiu o fato às mudanças fisiológicas das sementes, como a redução do teor de água ou o gasto energético para seu equilíbrio biológico, o que reduziria a energia de reserva que seria empregada para a formação da nova plântula.

Quadros (2013) trabalhando com armazenamento de sementes de *Spondias mombin* L. em embalagem impermeável observou que as sementes apresentaram redução da massa de matéria seca ao longo armazenamento. Segundo o autor, a redução no crescimento e massa de matéria seca das plântulas pode ser reflexo da deterioração das sementes.

Benedito (2010) trabalhando com sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. observou que o vidro conservou melhor as sementes, gerando assim plântulas com maior peso seco. verificou ainda que o peso seco diminuiu à medida que aumentou o tempo de armazenamento, porém a queda foi menor quando armazenou no vidro.

As sementes armazenadas em ambiente controlado tendem a se conservar por mais tempo, visto que, com o uso de temperatura reduzida pode ter ocorrido menor perda de água para o ambiente (Hossel et al., 2016). Fior et al. (2010) complementaram que uma das formas de manter o poder germinativo por períodos curtos de armazenamento de sementes recalcitrantes, é armazenar em embalagens que mantenham o conteúdo de umidade inicial, sob temperaturas de 4 a 6 °C.

As embalagens e condições de armazenamento devem contribuir para a manutenção da uniformidade do grau de umidade das sementes. Quando estas são armazenadas em embalagens permeáveis, seu teor de água se altera conforme as variações da umidade relativa do ar, já se são semipermeáveis, há resistência às trocas gasosas, porém nada que impeça completamente a passagem da umidade. Nas embalagens impermeáveis, por sua vez não há influência da umidade do ar externo sobre as sementes (Oliveira-Bento et al., 2015).

Para a conservação do poder germinativo das sementes é necessário mantê-las em ambiente seco e frio. Quanto mais seco e mais frio, dentro de certos limites, maiores as possibilidades de prolongar a conservação das sementes. Em ambientes sem controle de umidade e temperatura, a umidade presente no ar pode ser suficiente para promover o reinício de atividades do embrião, se o oxigênio e temperatura forem suficientes. A respiração, aliada à ação de microrganismos, provocam o aquecimento das sementes armazenadas, podendo reduzir drasticamente sua viabilidade (Silva, 2015).

As sementes que foram coletadas em diferentes locais e armazenadas em diferentes embalagens por até dez meses, apresentaram comportamentos diferenciados quanto a

viabilidade pelo teste de tetrazólio (Tabela 11). Pode-se concluir que dos dois até os dez meses os plásticos diferiram significativamente das demais embalagens, apresentando as maiores porcentagens. Este fato estendeu-se para todos os locais de coleta.

As sementes coletadas em Toledo e Pato Bragado e armazenadas em vidro mantiveram-se viáveis até os dois meses. Para Marechal Cândido Rondon mantiveram-se viáveis até os quatro meses, embora as porcentagens fossem baixas. Para o saco de papel, sementes coletadas em Toledo e Marechal Cândido Rondon mantiveram-se viáveis até os quatro meses e as coletadas em Pato Bragado até os seis meses, embora em porcentagens baixas (5% aos 6 meses, Tabela 11).

Ao verificar o comportamento das embalagens ao longo do armazenamento, o vidro e papel apresentaram redução das porcentagens, diferindo significativamente, já o plástico apresentou variações ao longo do tempo. Para sementes de Toledo, as porcentagens a partir dos 6 meses aumentaram e diferiram significativamente, Pato Bragado por sua vez apresentou aumento aos 8 meses, diferindo dos demais períodos. Marechal Cândido Rondon apresentou maiores porcentagens aos 0 e 6 meses diferindo significativamente dos demais períodos.

Tabela 11 – Resultados médios da viabilidade (%) de sementes de *M. pungens* armazenadas em diferentes embalagens, submetidas ao teste de tetrazólio.

| Mês | Toledo |      |      | Pato Bragado |      |      | Marechal Cândido Rondon |      |      |
|-----|--------|------|------|--------------|------|------|-------------------------|------|------|
|     | R1     | R2   | R3   | R1           | R2   | R3   | R1                      | R2   | R3   |
| 0   | 85aB   | 85aA | 85aA | 94aCD        | 94aA | 94aA | 97aAB                   | 97aA | 97aA |
| 2   | 84aB   | 37bB | 16cC | 95aBC        | 82bB | 20cB | 88aC                    | 5cB  | 20bB |
| 4   | 83aB   | 0cC  | 17bB | 90aD         | 0cC  | 7bC  | 70aC                    | 2cC  | 6bC  |
| 6   | 93aA   | 0cC  | 2bD  | 95aBC        | 0cC  | 5bD  | 98aA                    | 0bD  | 0bD  |
| 8   | 95aA   | 0bC  | 0bE  | 98aAB        | 0bC  | 0bE  | 90aBC                   | 0bD  | 0bD  |
| 10  | 93aA   | 0bC  | 0bE  | 100aA        | 0bC  | 0bE  | 90aBC                   | 0bD  | 0bD  |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p>0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Ao comparar os resultados de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio (Tabela 11 e porcentagem de germinação (Tabela 4) observou-se que a porcentagem de viabilidade sempre foi mais elevada do que a germinação. Além disso, as sementes armazenadas em sacos de papel e coletadas em Toledo e Pato Bragado, apresentaram viabilidade até os quatro meses, porém a germinação se deu apenas até os dois meses.

Segundo Grunennvaldt, Cantarelli e Salamoni (2014) pelo teste de tetrazólio realiza-se uma análise indireta e rápida, informando a qualidade das sementes em menos de 24 horas, dependendo da espécie, porém não há a possibilidade de se obter maiores informações sobre a porcentagem de sementes dormentes e nem sobre contaminação por patógenos.

As divergências entre os valores do teste de tetrazólio e demais testes de vigor, podem ocorrer devido a diferenças de amostragem, técnicas impróprias para os testes, presença de sementes duras e danos mecânicos nas sementes (Pinto Junior, 2010). O autor ao estudar o armazenamento de sementes de *Jatropha curcas* L. em embalagens permeável, semipermeável e impermeável também verificou diferenças ao comparar valores do teste de tetrazólio com os obtidos nos demais testes.

No teste de tetrazólio, quando a semente é imersa na solução de tetrazólio, esta se difunde através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução, que resulta em um composto vermelho, não difusível, o trifenilformazan, indicando haver atividade respiratória nas mitocôndrias, e conseqüentemente a viabilidade do tecido (vivo) (RODRIGUES et al., 2015). Cunha e Gomes (2015) complementaram que há nítida separação do tecido vivo, que respira, do tecido morto que não colore, e conseqüentemente não respira.

Durante o armazenamento verificou-se que a partir dos dois meses de armazenamento, iniciou o aparecimento de sementes com coloração marrom após a aplicação do sal de tetrazólio. Ao investigar uma possível presença de fungos, verificou-se que a semente apresentava fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. Principalmente nas sementes armazenadas em sacos de papel e vidro, embora pôde ser detectado, em menor incidência nas sementes armazenadas em plástico. Porém, não é possível atribuir este fato (coloração marrom no teste de tetrazólio) a presença dos fungos, sendo um fato que deve ser melhor investigado em novas pesquisas. As sementes que se apresentaram nessa coloração foram classificadas como inviáveis.

Segundo Aguiar et al. (2012), os fungos das espécies *Aspergillus* e *Penicillium* podem causar danos diretos às sementes e na germinação, com aumento da taxa de ácidos graxos e produção de toxinas.

A ação desses microrganismos, desde que haja condições de umidade e temperatura, é no sentido de acelerar a taxa de deterioração das sementes durante o armazenamento (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Os autores complementaram que se trata de um grande problema para sementes recalcitrantes, visto que precisam ser mantidas com alto teor de água, que é uma condição favorável ao desenvolvimento desses fungos. Desta forma, os autores sugeriram que antes de armazenar se realize um tratamento fúngico das sementes, após

proceder-se a secagem parcial, seguido de armazenamento em temperatura mais baixa possível (tolerável pela espécie).

Outro fator que poderia explicar o escurecimento das sementes, seria que, durante a deterioração, ocorre decréscimo de açúcares solúveis, no teor de açúcares totais e acréscimos nos níveis de açúcares redutores. Consequentemente, há perda da capacidade de utilização de carboidratos, afetando sua mobilização, dos tecidos de reserva para o eixo embrionário. A presença dos açúcares redutores pode induzir a deterioração dos componentes das proteínas através das reações de Amadori e Maillard, principalmente em sementes secas. As reações de Maillard compreendem uma série de reações não gerenciadas por enzimas. Esses complexos Maillard sofrem modificações para ceto-aminas secundárias conhecidas como arranjos moleculares Amadori, que se tornam mais estáveis, porém quimicamente reversíveis (MARCOS FILHO, 2015).

A reação de Maillard é conhecida por provocar o escurecimento não enzimático da semente e de outros produtos em virtude dos produtos finais desse complexo de reações, as meloidinas, assumirem a cor marrom. Sementes com elevados teores desses açúcares (como glicose e frutose), são predispostos a rápida deterioração durante a secagem e/ou armazenamento (MARCOS FILHO, 2015).

Para a mensuração da atividade respiratória foi possível observar que as embalagens mostraram comportamentos diferentes (Tabela 12). Pode-se constatar que para todos os locais de coleta os maiores valores foram para as sementes armazenadas em sacos de papel, diferindo significativamente das demais embalagens. Comparando-se os períodos de armazenamento para cada embalagem, verificou-se que para plástico e vidro, de modo geral, aos 2 meses houve aumento da liberação de CO<sub>2</sub> com posterior decréscimo, diferindo significativamente, em contrapartida, sementes do papel apresentaram aumento da liberação de CO<sub>2</sub>, alcançando pico máximo aos 10 meses, diferindo dos demais períodos.

Ao comparar-se os resultados da porcentagem de germinação (Tabela 4) e da atividade respiratória de sementes (Tabela 12), verificou-se que ao passo que sementes armazenadas em vidro e sacos de papel não germinaram mais (aos dois meses em diante), a taxa respiratória para sementes do saco de papel passou a aumentar gradativamente e as armazenadas em vidro passaram a diminuir gradativamente. Já as sementes armazenadas em plástico, embora apresentaram variações, as mesmas não foram tão grandes quanto das demais embalagens.

Verificando-se os resultados da porcentagem de viabilidade pelo teste de tetrazólio (Tabela 11) e da atividade respiratória de sementes (Tabela 12), constatou-se que para o vidro, a partir dos 4 meses, quando a porcentagem de viabilidade era nula (exceto para Marechal

Cândido Rondon), a atividade respiratória diminuiu. O saco de papel, por sua vez, aumentou progressivamente ao passo que não houve mais viabilidade, com exceção dos 8 meses, quando houve queda da atividade respiratória. O plástico variou aleatoriamente para ambos os testes.

Tabela 12 – Resultados médios da mensuração da atividade respiratória de sementes de *M. pungens* (mmol CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> de sementes) submetidas ao armazenamento em diferentes embalagens.

| Mês | Toledo  |         |         | Pato Bragado |         |         | Marechal Cândido Rondon |         |         |
|-----|---------|---------|---------|--------------|---------|---------|-------------------------|---------|---------|
|     | R1      | R2      | R3      | R1           | R2      | R3      | R1                      | R2      | R3      |
| 0   | 0,246aD | 0,246aF | 0,246aF | 0,244aC      | 0,244aB | 0,244aF | 0,414aB                 | 0,414aB | 0,414aD |
| 2   | 0,552bA | 1,056aA | 1,152aE | 0,474cA      | 0,877bA | 1,180aE | 0,542cA                 | 0,945bA | 1,130aC |
| 4   | 0,547bA | 0,408cC | 3,970aC | 0,459bA      | 0,259cB | 1,350aD | 0,720bA                 | 0,280cC | 2,623aB |
| 6   | 0,405bB | 0,482bB | 5,128aB | 0,347bB      | 0,216cC | 3,587aB | 0,363bB                 | 0,253cD | 4,702aA |
| 8   | 0,395bB | 0,340bD | 2,981aD | 0,393bB      | 0,193cD | 2,032aC | 0,404bB                 | 0,213cE | 2,744aB |
| 10  | 0,353bC | 0,304cE | 9,656aA | 0,334bB      | 0,200cD | 3,885aA | 0,338bB                 | 0,161cF | 5,032aA |

Letras minúsculas na linha para cada local de coleta e letra maiúscula na coluna para cada embalagem e local de coleta não diferem entre si pelo teste de Friedman ( $p > 0,05$ ). R1: plástico; R2: vidro; R3: saco de papel.

Segundo Popinigis (1985), a perda de viabilidade pode ser o resultado da desintegração das membranas celulares, e a mais importante ocorreria na mitocôndria, o que causaria decréscimo na eficiência do mecanismo respiratório, cuja consequência final seria a perda de viabilidade, fato este que poderia auxiliar na explicação do comportamento das sementes armazenadas em vidro, visto que a medida que estavam armazenadas a respiração decaiu gradativamente, e as sementes não apresentaram mais viabilidade e nem germinação.

Segundo Marcos Filho (2015), a medida que as sementes deterioram, a respiração se torna gradativamente menos intensa, e tem por consequência final o colapso metabólico da semente, fato que poderia explicar o comportamento de sementes armazenadas em vidro. Segundo aquele autor, os decréscimos na atividade respiratória durante o armazenamento podem estar associados a alterações peroxidativas nos lipídios das mitocôndrias, o que geralmente resulta na redução da velocidade de reconstrução das membranas durante a embebição, determinando menores taxas respiratórias, com a continuidade da embebição dessas sementes, as mitocôndrias deficientes não contribuem para a produção de energia necessária para a germinação.

Marcos Filho (2015) complementou ainda que, as alterações respiratórias durante a deterioração determinam: declínio da tomada e consumo de oxigênio pelos tecidos embrionário e de reserva; aumento da liberação de gás carbônico; aumento do quociente respiratório;

alterações do nível de ATP ou decréscimo da sua formação; produção de etanol e de aldeídos voláteis, tóxicos a germinação; redução da eficiência dos mecanismos de reparo das membranas e DNA, dentre outros fatores, logo, sementes armazenadas em vidro, poderiam ter morrido por conta de uma intoxicação pelos gases liberados. Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), após determinado nível de concentração o CO<sub>2</sub> torna-se tóxico, e como o vidro não permite trocas com o meio externo, as sementes podem ter morrido por este motivo.

Dode et al. (2013), ao avaliarem a qualidade de sementes de soja, observaram que a medida que o vigor diminuiu, a atividade respiratória se intensificou. Segundo os autores acima, a desorganização das membranas e a consequente perda de permeabilidade estão entre os primeiros eventos do processo deteriorativo da semente e tem forte relação com a taxa respiratória, mudanças na atividade enzimática, redução dos tecidos de reserva, queda na velocidade e na capacidade de germinação e diminuição no crescimento de plântulas normais, logo, o aumento da deterioração, diminui o vigor, aumentando a atividade respiratória, fato que pode ser comprovado pelas sementes armazenadas em sacos de papel, ao passo que perderam o poder germinativo a atividade respiratória se intensificou.

Gusatto (2015) trabalhando com armazenamento de sementes de *Cordia trichotoma* em embalagem de vidro, observou que as maiores taxas de respiração foram verificadas em sementes não armazenadas, ou seja, a medida que se armazenou e teve-se menor teor de água, houve também redução da atividade respiratória. No presente trabalho, por sua vez o vidro não teve redução do teor de água, porém a atividade respiratória reduziu.

Carvalho et al. (2014) relataram que as principais alterações relacionadas ao processo de deterioração são a redução da atividade respiratória, a degradação e inativação de enzimas, fato que pode ser relacionado às sementes armazenadas em vidro, onde ao passo que não germinaram mais a taxa respiratória decaiu repentinamente. Fonseca e Freire (2003) relataram que no armazenamento de sementes úmidas, o suprimento de oxigênio é essencial à respiração, que produzira energia metabólica necessária à ativação e sustentação de mecanismos de reparo e substituição celular, aumentando assim o período de conservação. Paralelamente, deve-se evitar o acúmulo de gás carbônico, visto que é prejudicial à qualidade fisiológica das sementes.

Segundo Oliveira et al. (2015), a desnaturação de proteínas e a transição de fase das membranas celulares, além da limitação do processo respiratório, restrito pela difusão de gases e lenta em relação a velocidade das reações respiratórias, poderiam estar entre os fatores limitantes da germinação e crescimento inicial, fato este que poderia explicar a redução da germinação em sementes armazenadas em vidro.

Dranski et al. (2013) relataram que as mitocôndrias são os principais locais de deterioração das sementes, reduzindo a capacidade de geração de energia pela via aeróbica, proporcionando aumento de participação na geração de energia pela via anaeróbica, logo, a quantificação do CO<sub>2</sub> resultante da respiração, pode ser um indicativo de porque as sementes com maior potencial fisiológico são capazes de minimizar a deterioração, e conseqüentemente a eficiência na oxidação dos açúcares é maior, gerando menos CO<sub>2</sub> em comparação às sementes com menor vigor.

Ao trabalhar com sementes de trigo, Dranski et al. (2017b) verificaram o aumento de liberação de CO<sub>2</sub> em função da perda de viabilidade, e relataram que este fato está ligado às mudanças estruturais na membrana biológica, causada pela peroxidação lipídica, que pode influenciar na viscosidade, permeabilidade e funções celulares das mitocôndrias.

Levando-se em conta que, sementes armazenadas em sacos de papel apresentaram teor de água inferior as demais embalagens durante o armazenamento, foi necessária a embebição prévia, de modo a igualar o teor de água. Logo, o fato de as sementes estarem com menor vigor ou possivelmente mortas, assim como as sementes do vidro, poderia ser explicada pelo fato que, a atividade respiratória é rapidamente iniciada uma vez que a semente começa a embeber, a partir de um conteúdo de água ao redor de 20% (MARÇALLO, 2006).

Estudos mais aprofundados acerca da atividade respiratória de sementes recalcitrantes armazenadas, devem ser realizados, a fim de sanar as dúvidas sobre o comportamento das sementes em diferentes embalagens, e sua relação com o vigor.

#### 4.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que se deu o armazenamento, o saco plástico foi a embalagem que propiciou o melhor armazenamento das sementes de *Myrcianthes pungens*, mantendo a viabilidade e vigor das mesmas pelo período de 10 meses. As demais embalagens, por sua vez, mantiveram a viabilidade e vigor por apenas 2 meses, não sendo recomendada para a espécie.

#### 4.5 REFERÊNCIAS

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

AGUIAR, R.W.S.; BRITO, D.R.; OOTANI, M.A.; FIDELIS, R.R.; PELUZIO, J.N. Efeito do dióxido do carbono, temperatura e armazenamento sobre sementes de soja e microflora associada. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 3, p. 554-560, 2012.

BARBEDO, C.J.; BILIA, D.A.C.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Tolerância à dessecação de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil), espécie da Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 431-439, 2002.

BATISTA, I.M.P.; FIGUEIREDO, A.F.; SILVA, A.M.; SILVA, T.A.F. Efeito das embalagens, ambientes e períodos de armazenamento na germinação e no vigor das sementes de cedro (*Cedrela odorata*) em Manaus – AM. **Floresta**, v. 41, n. 4, p. 809-818, 2011.

BATISTA, A.C. **Ambientes, embalagens e épocas de armazenamento na qualidade fisiológica de sementes de *Piper marginatum* e *Piper tuberculatum***. 2015, 119 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2015.

BENEDITO, C.P. **Armazenamento e viabilidade de sementes de Catanduva (*Piptadenia moniliformis* Benth)**. 2010. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2010.

BOTEZELLI, L.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M. Características dos frutos e sementes de quatro procedências de *Dipteryx alata* Vogel (Baru). **Cerne**, v. 6, n. 1, p. 9-18, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395 p.

CARDOSO, R.B.; BINOTTI, F.F.S.; CARDOSO, E.D. Potencial fisiológico de sementes de crambe em função de embalagens e armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, p. 272-278, 2012.

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

CARVALHO, E.R.; MAVAIEIE, D.P.R.; OLIVEIRA, J.A.; CARVALHO, M.V.; VIEIRA, A.R. Alterações isoenzimáticas em sementes de cultivares de soja em diferentes condições de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 12, p. 967-976, 2014.

CATUNDA, P.H.A.; VIEIRA, H.D.; SILVA, R.F.; POSSE, S.C.P. Influência do teor de água, da embalagem e das condições de armazenamento na qualidade de sementes de maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, n. 1, p. 65-71, 2003.

CHEROBINI, E.A.I.; MUNIZ, M.F.B.; BLUME, E. Avaliação da qualidade de sementes e mudas de cedro. **Ciência Florestal**, v. 8, n. 1, p. 65-73, 2008.

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

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

DODE, J.S.; MENEGHELLO, G.E.; TIMM, F.C.; MORAES, D.M.; PESKE, S.T. Teste de respiração em sementes de soja para avaliação da qualidade fisiológica. **Ciência Rural**, v. 43, n. 2, p. 193-198, 2013.

DRANSKI, J.A.L.; PINTO JUNIOR, A.S.; HERGOZ, N.F.M.; MALAVASI, U.C.; MALAVASI, M.M.; GUIMARÃES, V.F. Vigor of canola seeds through quantification of CO<sub>2</sub> emission. **Ciência Agrotecnologia**, v. 37, n. 3, p. 226-266, 2013.

DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C.; SCHUSTER, I.; LAZARETTI, N.S. Carbon dioxide quantified by the infrared in respiratory activity evaluation in corn seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1115-1132, 2017a.

DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C.; SCHUSTER, I.; LAZARETTI, N. Carbon dioxide quantified by the infrared in evaluation of respiratory activity of wheat seeds. **Revista Ceres**, v. 64, n. 5, p. 507-515, 2017b.

FERREIRA, S.A.N.; GENTIL, D.F.O. Armazenamento de sementes de camu-camu (*Myrciaria dúbia*) com diferentes graus de umidade e temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n. 3, p. 440-442, 2003.

FERREIRA, E.G.B.S.; MATOS, V.P.; FERREIRA, R.L.C.; SALES, A.G.F.A.; SENA, L.H.M. Vigor das sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. Sob diferentes condições de armazenamento e embalagens. **Ciência Florestal**, v. 20, n. 2, p.295-305, 2010.

FIOR, C.S.; RODRIGUES, L.R.; CALIL, A.C.; LEONHARDT, C.; SOUZA, L.S.; SILVA, V.S. Qualidade fisiológica de sementes de guabijuzeiro (*Myrcianthes pungens* (Berg) Legrand – Myrtaceae) em armazenamento. **Revista Árvore**, v. 34, n. 3, p. 435-442, 2010.

FONSECA, S.C.L.; FREIRE, H.B. Sementes recalcitrantes: problemas pós colheita. **Bragantia**, v. 62, n. 2, p. 297-303, 2003.

GARCIA, C.; COELHO, C.M.M.; MARASCHIN, M.; OLIVEIRA, L.M. Conservação da viabilidade e vigor de sementes de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 857-867, 2014.

GOMES, J.P.; OLIVEIRA, L.M.; SALDANHA, A.P.; MANFREDI, S.; FERREIRA, P.I. Secagem e classificação de sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret – Myrtaceae quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 207-215, 2013.

GRUNENVALDT, R.L.; CANTARELLI, E.B.; SALAMONI, A.T. Armazenamento de sementes de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 1, p. 98-105, 2014.

GUEDES, R.S.; ALVES, E.U.; BRUNO, R.L.A.; GONÇALVES, E.P.; COSTA, E.G.; MEDEIROS, M.S. Armazenamento de sementes de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 68-75, 2012.

GUSATTO, F.C. **Secagem e armazenamento de *Cordia trichotoma* (Vellozo) Arrabida ex Steudel**. 2015, 59p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2015.

HOSSEL, J.S.A. O.; HOSSEL, C.; WAGNER JÚNIOR, A.; FABIANE, K.C.; CITADIN, I. Viabilidade de sementes de guabijuzeiro em armazenamento. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 9, n. 2, p. 79-85, 2016.

HOSSEL, J.S.A.O.; HOSSEL, C.; JÚNIOR, A.W.; FABIANE, K.C.; MAZZARO, S.M. Perda do teor de água na viabilidade das sementes de uvaieira sob armazenamento. **Revista Brasileira de Tecnologia Agropecuária**, v. 1, n. 2, p. 113-117, 2017.

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

KAISER, D.K. **Maturidade fisiológica, tolerância à dessecação e longevidade de sementes de *Allophylus edulis* [(A. ST.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Hieron. Ex Niederl.]**. 2016, 91p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2016.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2008. 431 p.

LABOURIAU, L.G. *A germinação de sementes*. Washington: Organização dos Estados Americanos, 1983. 174 p.

LEONHARDT, C.; CALIL, A.C.; FIOR, C.S. Germinação de sementes de *Myrcia glabra* (O. Berg) D. Legrand e *Myrcia palustris* DC. – *Myrtaceae* armazenadas em câmara fria. **Iheringia**, v. 65, n. 1, p. 25-33, 2010.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1992, v. 1, 384 p.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.1, n.1, p.176-177, 1962.

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

MARÇALLO, F.A. **Armazenamento de sementes de milho em atmosfera modificada com dióxido de carbono**. 2006. 92 P. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

MATOS, V.P.; FERREIRA, E.G.B.S.; FERREIRA, R.L.C.; SENA, L.H.M.; SALES, A.G.F.A. Efeito do tipo de embalagem e do ambiente de armazenamento sobre a germinação e o vigor das sementes de *Apeiba tibourbou* Aubl. **Revista Árvore**, v. 32, n.4, p. 617-625, 2008.

MEDEIROS, A.C.S.; ZANON, A. Conservação de sementes de branquilha (*Sebastiania commersoniana* (Baillon) L.B. Smith & R. J. Down). E de pinheiro-bravo (*Podocarpus lambertii* Klotzch Ex e Ndl.), armazenadas em diferentes ambientes. **Boletim de Pesquisa Florestal**, n. 36, p. 57-69, 1998.

MONTEIRO, L.N.H. **Armazenamento e tratamentos pré-germinativos em sementes de *Punica granatum* L.** 2017. 87 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia – UNESP, Ilha Solteira, 2017.

NEVES, G.; SERIGATTO, E.M.; DALCHIAVON, F.C.; SILVA, C.A. Viabilidade e longevidade de sementes de *Tabebuia aurea* Benth. & Hook. submetidas a diferentes métodos de armazenamento. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 737-742, 2014.

OLIVEIRA, A.C.S.; MARTINS, G.N.; SILVA, F.R.; VIEIRA, H.D. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **Inter Science Place**, n. 4, 2009.

OLIVEIRA, A.K.M.; SOUZA, J.S.; CARVALHO, J.M.B.; SOUZA, A. Germinação de sementes de pau-de-espeto (*Casearia gossypiosperma*) em diferentes temperaturas. **Floresta**, v. 42, n. 1, p. 97-106, 2015.

OLIVEIRA, L.M.; BRUNO, R.L.A.; MENEGUELLO, G.E. Qualidade fisiológica de sementes de *Syzygium cumini* L. durante o armazenamento. **Ciência Florestal**, v. 25, n. 4, p. 921-931, 2015.

OLIVEIRA-BENTO, S.R.S.; TORRES, S.B.; BENTO, D.A.V.; SILVA, B.K.A.; DANTAS, F.J.C.; MELO, V.C. Armazenamento de sementes de flor-de-seda [*Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton]. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 1, p. 39-47, 2015.

PÁDUA, G.P.; ZITO, R.K.; ARANTES, N.E.; FRANÇA NETO, J.B. Influência do tamanho da semente na qualidade fisiológica e na produtividade da cultura da soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 009-016, 2010.

PÁDUA, G.V.G. **Viabilidade e vigor de sementes de *Acacia mangium* Willd. Em função da temperatura de armazenamento.** 2017, 51 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Macaíba, 2017.

PINTO JUNIOR, A.S. **Qualidade fisiológica de sementes de *Jatropha curcas* L.: efeito de embalagens, ambientes e períodos de armazenamento.** 2010. 66 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2010.

PINTO JUNIOR, A.S.; GUIMARÃES, V.F.; DRANSKI, J.A.L.; MALAVASI, M.M.; MALAVASI, U.C. Armazenamento de sementes de pinhão manso em diferentes embalagens e ambientes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 4, p. 636-643, 2012.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente.** 2 ed. Brasília: AGIPLAN, 1985. 289 p.

QUADROS, B.R. **Conservação de sementes de taperebá (*Spondias mombin* L., Anacardiaceae)**. 2013, 61 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp, Botucatu, 2013.

RASEIRA, M. C.B.; ANTNES; L.E.C.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E.D. **Espécies frutíferas nativas do sul do Brasil**. Embrapa Clima Temperado: documento 129, 2004. 124 p.

RODRIGUES, A.P.M.S.; MEDONÇA JUNIOR, A.F.; TORRES, S.B.; NOGUEIRA, N.W.; FREITAS, R.M.O. de. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 638-644, 2015.

SANTOS, C.M.R.; FERREIRA, A.G.; ÁQUILA, M.E.A. Características de frutos e germinação de sementes de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Ciência Florestal**, v. 14, n. 2, p. 13-20, 2004.

SCHORN, L.A.; SILVA, R.G.X.; MAGRO, B.A. Secagem e armazenamento de sementes de *Albizia niopoides* Benth. e *Bauhinia forficata* Link. **Revista Acadêmica, Ciência Agrária e Ambiental**, v. 8, n. 2, p. 225-231, 2010.

SILVA, D.G.; CARVALHO, M.L.M.; NERY, M.C.; OLIVEIRA, L.M.; CALDEIRA, C.M. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o armazenamento de sementes de *Tabebuia serratifolia*. **Cerne**, v. 17, n. 1, p. 1-7, 2011.

SOUZA, L.S.; FIOR, C.S.; SOUZA, P.V.D.; SCHWARZ, S.F. Desinfestação de sementes e multiplicação *in vitro* de guabijuzeiro a partir de segmentos apicais juvenis (*Myrcianthes pungens* O. Berg) D. Legrand. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 691-697, 2011.

ZORZAL, T.A.; FANTINATO, D.E.; CAMPOS, L.M.; LUZ, A.C.C.; CORTE, V.B. Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes. **Natureza on line**, v. 13, n. 3, p. 144-149, 2015.

## 5 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Foi possível realizar a padronização metodológica para o teste de tetrazólio em sementes de *Myrcianthes pungens*, que deve ser realizada com pré-condicionamento de sementes sem tegumento por 24 horas, seguido de imersão em solução de tetrazólio a 0,75% por 24 horas a 30 °C na ausência de luz.

O teste de tetrazólio apresentou resultados paralelos ao teste de germinação. A diferença entre os testes deveu-se ao fato de que o tetrazólio avalia apenas o embrião, já no teste de germinação, a semente deve germinar, além de, poder ser afetado por fungos, por exemplo.

Pode-se observar que sementes submetidas a germinação e emergência possuem comportamentos diferentes, visto que, a emergência se dá em ambiente não controlado, o que exerce forte influência sobre as sementes e plântulas. O teste de emergência permitiu distinguir um lote com menor vigor (Marechal Cândido Rondon).

As sementes de *M. pungens*, apesar de serem classificadas como recalcitrantes, podem ser armazenadas em sacos plásticos, com umidade inicial por dez meses, sem que haja muita alteração de vigor. Os testes de germinação, crescimento de plântulas permitiram verificar o vigor e viabilidade das sementes armazenadas.

Embora as sementes sejam classificadas como recalcitrantes, há indícios de que elas possam ser intermediárias, visto que, sementes com 9,3% de teor de água ainda se mostraram viáveis pelo teste de tetrazólio. Desta forma, este fato deve ser melhor investigado, a fim de verificar a real classificação destas sementes quanto a tolerância a dessecação.

A mensuração da atividade respiratória, por sua vez, embora mostrou diferenças de vigor entre os lotes e diferentes embalagens, ainda necessita de mais estudos a fim de entender o comportamento da respiração em diferentes embalagens e qual comportamento de fato caracteriza a morte da semente.

O tempo de armazenamento também pode ser melhor estudado, a fim de verificar quanto tempo, além dos dez meses as sementes toleram armazenadas em sacos plásticos, e se o teor de água das sementes poderia ser diminuindo sem que haja perda de vigor.