

Análise do vigor das sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart., através de técnicas não destrutivas

Nathaly Tacki Maass Ribeiro¹; Rosana de Carvalho Cristo Martins²

¹. Engenheiro Florestal, Aluna na Universidade de Brasília – Campus Darcy Ribeiro. E-mail: nathaly.tacki@gmail.com.

². Engenheira Florestal, Dr., Professora da Universidade de Brasília – Campus Darcy Ribeiro. E-mail: roccristo@gmail.com

Resumo

Faz-se necessário o aprimoramento de técnicas para a melhor compreensão do funcionamento e a ampliação do número de espécies de sementes nativas estudadas. *Aspidosperma tomentosum* Mart. é uma espécie de ocorrência no Cerrado, e no intuito de analisar o vigor das sementes dessa espécie, provenientes de área de supressão da vegetação, foram realizados os testes de condutividade elétrica e pH de exsudato. Esses testes foram sucedidos do teste de germinação e de tetrazólio. Foi constatado que as técnicas de análise não expressaram resultados efetivos devido a inviabilidade das sementes. A análise do teor de água mostrou que o teor de umidade foi inferior ao teor das sementes recém-colhidas. A morfometria está em consonância com a literatura.

Palavras-chave: Pereira do campo; Teste de condutividade elétrica; Teste de pH do exsudato.

Introdução

Devido à importância das sementes, faz-se necessário o aprimoramento de técnicas para a melhor compreensão do seu funcionamento e a ampliação do número de espécies estudadas. A avaliação do vigor das sementes é uma etapa crucial no que tange a utilização das mesmas, como por exemplo: na formação de bancos de sementes, bancos de germoplasma, produção de mudas em viveiros e recuperação de áreas degradadas. Através da análise do vigor, é possível obter dados sobre a qualidade física e fisiológica (WIELEWICKI, 2006), o que reflete diretamente na forma de armazenamento, no sucesso do estabelecimento de plantas no campo (ABATI et al., 2014) e no beneficiamento das sementes para cada espécie. A combinação da análise de vigor com a seleção é indispensável, pois, quando ambas são aplicadas, é possível obter sementes de alta qualidade (NAKAGAWA, 2014). Dentre os métodos utilizados para analisar o vigor e realizar a seleção existem os métodos mais destacados para a análise do vigor, como: o teste de condutividade e o teste de pH do exsudato. Estes testes são empregados em uma gama de estudos que destrincham as informações fornecidas por eles, e inferem sobre as características das sementes. A utilização desses métodos se destaca, pois não são destrutivos; assim, possibilita a execução cruzada com outros testes.

As espécies vegetais diferem entre si morfológica e fisiologicamente; logo, são vastas as adaptações dos espécimes com o meio. O bioma Cerrado, possuindo um elevado grau de endemismo (40%) (KLINK; MACHADO., 2005), apresenta adaptações ricas, conferindo aos espécimes características de adaptação que permitiram a perpetuação dos mesmos. Uma das espécies que ocorre neste bioma é a *Aspidosperma tomentosum* Mart., ela conta com adaptações evolutivas que permitiram o seu estabelecimento e propagação. Um dos mecanismos, de cunho estrutural, desenvolvidos no decorrer da evolução, que ocorrem na *A. tomentosum*, são as alas. Assim como as alas, que são características desta espécie, o vigor das sementes frente a diferentes testes, expressam as propriedades inerentes da *A. tomentosum*. Cada aspecto no que tange a germinação é indispensável quando se volta para o âmbito da propagação sexuada, seja objetivando atividades de natureza econômica ou de aspectos conservacionistas.

O objetivo desse estudo foi analisar o vigor das sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart., provenientes de área de supressão da vegetação, através das técnicas de condutividade elétrica e pH de exsudato, bem como analisar a morfometria das sementes, o teor de umidade e sua relação com a germinação e a viabilidade.

Material e Métodos

As sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart. foram doadas para o Laboratório de Sementes Florestais (LSF) do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade de Brasília (UnB), onde foram conduzidos os experimentos. A coleta do material ocorreu em novembro no ano de 2020, dentro do âmbito do Programa de Resgate de Germoplasma na faixa de supressão total da LDAT 138 KV Corumbá – Pirenópolis, Goiás (GO). Após a coleta as sementes, fora dos frutos, não permaneceram em regime de aclimação, foram enviadas ao LSF dentro de sacos de papel pardo. As coordenadas da área de coleta fornecidas foram: 15°52'14,8" S e 48°54'40,7" W.

As sementes foram contadas e distinguidas entre sadias e com alguma avaria (descartadas após a contagem). Foi feita a medição de largura e comprimento das sementes com alas. Para o cálculo do peso de mil sementes, foram pesadas dez repetições de dez sementes aladas. Para a determinação da umidade foram feitas dez repetições de dez sementes cada. Os grupos foram colocados um a um dentro da balança determinadora de umidade. Após finalizado a análise, as sementes foram descartadas.

Para o teste de Condutividade Elétrica (CE) e pH do Exsudato foram utilizadas no total 250 sementes sem alas, estas divididas em 4 tratamentos e um grupo de controle, cada um com 5 repetições com 10 sementes cada. Os tempos dos tratamentos foram: 1, 6, 24 e 48 horas. As sementes foram separadas, pesadas e colocadas em recipientes plásticos contendo 20 ml de água destilada. Os tratamentos foram colocados na câmara de germinação em temperatura constante de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Ao final de cada período de tratamento foi medida a condutividade elétrica. Os valores em microsiemens por centímetros ($\mu\text{S}/\text{cm}$), apresentado no visor da máquina foram divididos pelo peso das amostras. Em seguida foi executado o teste colorimétrico do pH do exsudato, sendo os agentes indicadores as soluções de fenolftaleína e de carbonato de sódio. Para a solução de fenolftaleína foi dissolvido 1g do indicador em 100ml de álcool absoluto, depois foi adicionado 100ml de água destilada. Para a solução de carbonato de sódio foram dissolvidos 8,5g de carbonato de sódio em 1 litro de água destilada. Foram adicionadas duas gotas de cada indicador nos meios de embebição. As soluções foram agitadas para a homogeneização da cor. As cores apresentadas foram anotadas.

As sementes foram colocadas em recipientes de Gerbox, contendo folha de papel de filtro tipo Germitest umedecidos com água destilada, lacrados com fita para a realização do teste de germinação. Os recipientes foram levados para câmaras de germinação tipo B.O.D. com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Efetuou-se o monitoramento semanal da umidade dos substratos bem como da evolução da germinação. Decorridos 30 dias o teste de germinação foi finalizado, as sementes que germinaram foram contabilizadas, aquelas que não germinaram foram direcionadas para o teste de tetrazólio. As sementes foram seccionadas ao meio, separando os cotilédones que foram depositados em recipientes contendo 15 ml de solução a 1% de tetrazólio. Após 24 horas, as sementes foram retiradas da solução e analisadas, avaliando-se a coloração que as sementes, em especial do eixo embrionário, com o auxílio de uma lupa estereoscópica.

Foram selecionadas ao acaso 50 sementes oriundas do armazenamento, refletindo as condições de armazenamento, que foram submetidas ao teste de tetrazólio. Para isso foi realizado pré-condicionamento; as alas foram removidas e as sementes foram colocadas entre folhas de papel filtro umedecido com água destilada por 24 horas. Decorrido o período de reativação, as sementes foram seccionadas e colocadas em submersão em 15 ml de solução de tetrazólio a 1%, por um período de 24 horas. Decorrido tempo de submersão foram analisadas as colorações e os embriões foram analisados com auxílio de uma lupa estereoscópica.

Para análise estatística foi considerado em toda a pesquisa o nível de significância igual a 5%. Foram calculados intervalos de confiança por meio do coeficiente de variação. Para análise dos valores de condutividade elétrica foi utilizada a ANOVA (gerado através do software EXCEL) e o teste de TUKEY, a 5%.

Resultados e Discussão

Das sementes doadas, 10,88% estavam com algum tipo de avaria e 89,12% estavam aptas para o teste. Após a medição de comprimento e da largura das sementes (considerando as alas), os valores médios encontrados foram: 3,9 cm para comprimento e 2,6 cm para largura. Os valores encontrados estão em consonância com os de Zambrano (2017), onde foram encontrados $4,436 \pm 0,443$ cm de comprimento e $2,799 \pm 0,301$ cm de largura. As sementes possuem duas partes distintas: a ala e o Núcleo Seminífero (NS), ambas possuem formato elíptico assimétrico, com as faces concolor e glabras. As alas possuem consistência papirácea e ao serem postas contra a luz mostram características translúcidas. O NS apresenta a superfície ligeiramente rugosa; nessa região localiza-se o hilo e micrópila. O valor de Peso de Mil Sementes (PMS) encontrado foi de $259,6 \text{ g} \pm 8,74$. O coeficiente de variação (CV) encontrado foi 9,4%, é considerado estatisticamente baixo, o que evidencia homogeneidade nas amostras. Segundo a Regra de Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009), devem ser realizadas 8 repetições de 100 sementes, se o coeficiente de variação exceder 6% para as sementes palhentas ou 4% para as demais devem ser lançadas outras repetições, portanto, para estimação precisa do peso de mil sementes, conforme a RAS, seriam necessárias mais amostras.

O Teor de Umidade (TU) médio encontrado para uma semente foi de 3,82 %, o que destoa dos teores de umidade inicial encontrados por Zambrano (2017) e por Oliveira (2011), que foram

respectivamente $8,58 \pm 0,72\%$ e $7,7\%$ (considerando sementes recém-colhidas). Isso pode ter ocorrido devido ao tempo decorrido do momento de coleta até a análise das sementes no laboratório, o que pode ter gerado valores mais baixos de umidade nas sementes analisadas neste estudo.

O valor máximo encontrado para CE foi $170 \mu\text{S}/\text{cm.g}$ no tratamento de 48 horas. O menor valor de CE foi encontrado no controle. Através do teste da ANOVA, verificou-se que houve variação significativa a 5% entre os tratamentos. Com o teste de TUKEY, foi constatado que o controle, tratamento de 1h e o tratamento de 6 horas não diferiram significativamente entre si, assim como os tratamentos 24h e de 48h também não diferiram entre si. Logo, os três primeiros tratamentos possuem variação significativa em relação aos dois últimos tratamentos.

No teste colorimétrico do pH do exsudato a solução transparente indica de sementes mortas e o rosa sinaliza de sementes vivas. Avaliando a coloração das soluções do controle e do tratamento de 1 hora as sementes estariam viáveis em todas as repetições. Nos tratamentos de 6, 24 e 48 horas houveram repetições viáveis e não viáveis. Comparando os resultados encontrados de condutividade e pH; no controle e no tratamento de 1 hora não houve diferença na coloração, mesmo com os valores de condutividade variando. As repetições que apresentaram coloração rosa foram, na maioria dos casos, as que apresentaram menores valores de CE. Contudo, não foi possível definir intervalos dos valores de CE compreendidos dentro das colorações do teste de pH.

Após o período de 30 dias, não houve germinações, ou seja, não houveram emissões de radículas ou parte aérea. Segundo Oliveira et al. (2011), as sementes recém-colhidas de *Aspidosperma tomentosum* germinam em média no décimo segundo dia, o que mostra que as sementes não estavam em boas condições de viabilidade. Para a realização do teste de tetrazólio foi realizado o seccionamento das sementes, as sementes apresentavam tecidos em condições sensíveis, e muitos não resistiram ao corte. Ao remover os tegumentos foi notada a presença de uma estrutura localizada entre o tegumento e os cotilédones, com aspecto gelatinoso e parcialmente transparente. Segundo Oliveira (2015), quando os cotilédones são submetidos a temperaturas mais elevadas ocorre alteração na estrutura dos cotilédones, os carboidratos presentes assumem uma aparência gelatinosa, presente algumas sementes da espécie *Aspidosperma subincanum*. Essa estrutura pode ter sido causada por uma embebição rápida e excessiva, o que pode ocasionar uma hidrólise dos carboidratos (OLIVEIRA, 2015 apud TAIZ E ZEIGER, 2009).

Foi possível, para algumas sementes, separar o cotilédone do tegumento e da estrutura gelatinosa, mas para a maioria, os cotilédones foram colocados em imersão no tetrazólio juntamente com o tegumento e com a estrutura. O teste de tetrazólio não resultou em coloração rosada significativa, assim as sementes estavam inviáveis. A coloração rosa foi presente em partes ínfimas de poucas sementes, em sua maioria na parte externa dos cotilédones. Os cotilédones que não foram individualizados no momento do corte, se separaram do tegumento e da estrutura gelatinosa depois da embebição. Com a separação ocorrida no período de imersão na solução de tetrazólio, foi possível visualizar que a estrutura reagiu com o tetrazólio colorindo partes externas dos cotilédones. Dessa forma, concluiu-se que os cotilédones estavam com manchas rosadas devido a estrutura e não em resposta a respiração.

As sementes retiradas do armazenamento entumeceram com o pré-condicionamento, facilitando o seccionamento e a individualização dos cotilédones. Foi nítida a presença da estrutura gelatinosa. O teste de tetrazólio, a 1% não resultou em coloração. Isso corrobora com os resultados encontrados no teste de tetrazólio feito nas sementes providas dos testes de vigor. As sementes utilizadas neste estudo não estavam viáveis e a presença da estrutura gelatinosa é independente do período de absorção de água e ocorre em temperatura constante de 25°C . Sendo a estrutura presente na semente, é notável que é necessário realizar estudos anatômicos e morfológicos para a correta execução e interpretação dos resultados dos testes. Essa necessidade tem ênfase nas sementes de espécies florestais devido as lacunas referentes as suas características físicas.

O teste de pH do exsudato apontou que havia sementes viáveis no grupo analisado. Contudo, o teste de tetrazólio evidenciou que não havia. Logo, o teste de pH não se mostrou, nas condições em que se realizou, uma alternativa de análise sensível das condições de viabilidade das sementes neste teste. Segundo Otalakovski (2017), o teste de pH de exsudato não se correlacionou satisfatoriamente com a germinação para a espécie *Aspidosperma polyneuron*. É possível que o teste de pH de exsudato pelo método colorimétrico não seja adequado para a detecção de diferenças mínimas de variação na lixiviação de H^+ em métodos massais.

Os testes de vigor aplicados não surtiram efeito, pois as sementes não estavam viáveis quando foram introduzidas nos mesmos. E isto se deveu, possivelmente, as condições as quais as sementes foram sujeitas entre a colheita dos frutos e sementes e a realização das análises no laboratório de sementes. Efeitos negativos do armazenamento das sementes já foram relatados para várias espécies, mostrando que quanto maior o tempo de armazenamento, menor o poder

germinativo (ROSSATO; KOLB, 2010; SALAZAR et al., 2011). Dentre os principais problemas ocasionados pelo armazenamento está a perda da umidade da semente, que resulta em altos níveis de dessecação. Assim, dependendo das condições ambientais do local e do tempo de armazenamento, as sementes podem perder drasticamente sua longevidade e vigor, levando a uma redução da germinabilidade (OLIVEIRA et al., 2008; SCALON et al., 2012). A sequência de uma coleta e de um armazenamento não ajustado a espécie em questão, compromete as condições das sementes, o que pode ocasionar desde a inviabilidade da utilização dessas em bancos de germoplasma até a formação de mudas.

Conclusões

As técnicas rápidas de análise do vigor das sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart., condutividade elétrica e pH de exsudato, não expressaram resultados efetivos em decorrência das sementes não estarem viáveis, dado o intervalo de tempo excessivo entre a colheita das sementes e a aplicação dos testes em condições de laboratório. A morfometria das sementes de *A. tomentosum* (comprimento x largura) está em consonância com a literatura. A análise do teor de água das sementes de *A. tomentosum* mostrou que o teor de umidade médio ficou muito abaixo do teor das sementes recém-colhidas. Nenhuma semente germinou, assim como também não foram encontradas sementes viáveis com o teste de tetrazólio. Portanto o armazenamento do germoplasma não atingiu seu objetivo.

Agradecimentos/Apoio

A Universidade de Brasília, por sua estrutura. A empresa Brasil Ambiental e a Enel, que disponibilizaram o material deste estudo.

Referências Bibliográficas

- ABATI, Julia et al. Qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com biorregulador em condições de restrição hídrica. **Embrapa Soja-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, p. Informativo ABRATES, v. 24, n. 1, p. 32-36, 2014.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal, p. 399, 2009.
- KLINK, Carlos A.; MACHADO, Ricardo B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.
- NAKAGAWA, João. Os componentes da produtividade de sementes. **Informativo Abrates**, v. 24, n. 1, p. 15-21, 2014.
- OLIVEIRA, Ademir Kleber Morbeck et al. Germinação de sementes de *Aspidosperma tomentosum* Mart.(Apocynaceae) em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, n. 3, p. 392, 2011.
- OLIVEIRA, A. K. M. et al. Germinação de sementes de *Aspidosperma subincanum* Mart. ex A. DC em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 642-648, 2015.
- OTALAKOSKI, Josiane et al. INCIDÊNCIA DE FUNGOS EM SEMENTES DE *Aspidosperma parvifolium* A. DC. **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 1839-1847, 2017.
- ROSSATTO, D. R.; KOLB, R. M. Germinação de *Pyrostegia venusta* (Bignoniaceae), viabilidade de sementes e desenvolvimento pós-seminal. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 51-60, jan.-mar. 2010.
- SALAZAR, A.; GOLDSTEIN, G.; FRANCO, A. C.; MIRALLES-WILHELM, F. Timing of seed dispersal and dormancy, rather than persistent soil seed-banks, control seedling recruitment of woody plants in Neotropical savannas. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 21, n. 2, p. 103-116, jun. 2011.
- SCALON, S. P. Q., NEVES, E. M. S.; MASETO, T. E.; PEREIRA, Z. V. Sensibilidade à dessecação e ao armazenamento em sementes de *Eugenia pyriformis* Cambess. (uvaia). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 269-276, mar. 2012.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 4ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719p.
- WIELEWICKI, Angélica Polenz et al. Proposta de padrões de germinação e teor de água para sementes de algumas espécies florestais presentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, p. 191-197, 2006.
- ZAMBRANO, Ivonne Andrea Narváez. Caracterização ecológica de sementes e plântulas de árvores de Cerrado. 2017. X, 53 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Universidade de Brasília, 2017.