

## Protocolos de germinação e vigor para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Joannesia princeps*

A espécie *Joannesia princeps* Vell. vem se destacando em programas de reflorestamento. A importância da espécie e qualidade de seus coprodutos, somada ao grande potencial para a recuperação de áreas degradadas, torna-se de fundamental importância os estudos dos fatores que afetam a germinação de suas sementes, bem como informações ecofisiológicas para a espécie. Protocolos de avaliação fisiológica de sementes florestais nativas ainda são escassos. Objetivou-se testar protocolos de testes de germinação e vigor, e contribuir para a sua padronização, para avaliação da viabilidade de sementes da espécie. As sementes foram semeadas em bandejas de polietileno em diferentes substratos: vermiculita, areia, areia com giberelina (GA3) e rolo de papel. As sementes foram seccionadas longitudinalmente e extraído completamente o embrião. As sementes e os embriões foram imersos em uma solução de cloreto de 2,3,5 trifênil tetrazólio, nas concentrações de 0,5% e 1,0%, por um período de 4 horas de coloração, com quatro repetições compostas por 25 sementes e mantidas em câmara de germinação tipo BOD, no escuro, por 4 horas a 30°C. Concomitantemente aos testes de germinação e tetrazólio, realizou-se o teste de emergência em viveiro, seguindo os mesmos procedimentos descritos para o teste de germinação. A areia, com ou sem a utilização do regulador de crescimento, promoveu maior percentual de germinação (44%) e melhor índice de velocidade de germinação. A utilização da concentração de 1,0% de sal de tetrazólio durante 4 horas a 30°C permitiu coloração uniforme e foi eficiente para avaliação da viabilidade das sementes de *J. princeps*.

**Palavras-chave:** Boleira; Cutieira; Viabilidade de sementes; Substratos; Tetrazólio.

## Germination and vigor protocols for the assessment of the physiological quality of *Joannesia princeps* seeds

its co-products, added to the great potential for the recovery of degraded areas, makes the studies of the factors that affect the germination of its seeds, as well as ecophysiological information for the species, of fundamental importance. Protocols for the physiological evaluation of native forest seeds are still scarce. The objective was to test protocols for germination and vigor tests, and to contribute to their standardization, to evaluate the viability of seeds of the species. The seeds were sown in polyethylene trays on different substrates: vermiculite, sand, sand with gibberellin (GA3) and paper roll. The seeds were sectioned longitudinally and the embryo was completely extracted. The seeds and embryos were immersed in a solution of 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride, at concentrations of 0.5% and 1.0%, for a period of 4 hours of staining, with four replications consisting of 25 seeds and kept in a BOD germination chamber, in the dark, for 4 hours at 30°C. Concomitantly with the germination and tetrazolium tests, the emergence test was carried out in a nursery, following the same procedures described for the germination test. The sand, with or without the use of the growth regulator, promoted the highest percentage of germination (44%) and the best germination speed index. The use of a 1.0% concentration of tetrazolium salt for 4 hours at 30°C allowed uniform coloring and was efficient for evaluating the viability of *J. princeps* seeds.

**Keywords:** Boleira; Cutieira; Seed viability; Substrates; Tetrazolium.

Topic: Ciências Florestais

Received: 04/06/2022

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Approved: 27/06/2022

Kamila Antunes Alves 

Universidade Federal de Lavras, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/6206032667034498>  
<http://orcid.org/0000-0002-6675-9728>  
[kkantunes13@gmail.com](mailto:kkantunes13@gmail.com)

Lucas Amaral de Melo 

Universidade Federal de Lavras, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/7086136699976810>  
<http://orcid.org/0000-0001-5219-9179>  
[lucas.amaral@ufla.br](mailto:lucas.amaral@ufla.br)

Carlos Eduardo Moraes 

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/5563681097610694>  
<http://orcid.org/0000-0001-7095-1029>  
[carlosmoraes.engeflor@gmail.com](mailto:carlosmoraes.engeflor@gmail.com)

Marina Rosa de Souza

Universidade Federal do Sul da Bahia, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/8564366736749279>  
[marinaeflorestal@gmail.com](mailto:marinaeflorestal@gmail.com)

Daniel Costa Damasio

Faculdade Pitágoras, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/9283826201431351>  
[danieldamasio9@gmail.com](mailto:danieldamasio9@gmail.com)

Natália Coelho Barbosa Albuquerque

Universidade Federal de Lavras, Brasil  
<http://lattes.cnpq.br/1924908466143058>  
[nataliacoelho.florestal@gmail.com](mailto:nataliacoelho.florestal@gmail.com)



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2022.006.0002

### Referencing this:

ALVES, K. A.; MELO, L. A.; MORAES, C. E.; SOUZA, M. R.; DAMASIO, D. C.; ALBUQUERQUE, N. C. B.. Protocolos de germinação e vigor para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Joannesia princeps*. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, v.13, n.6, p.12-22, 2022. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2022.006.0002>

## INTRODUÇÃO

A espécie *Joannesia princeps* Vell., conhecida popularmente como boleira e cotieira, é uma espécie arbórea nativa, compondo os biomas de Caatinga, Mata Atlântica (CORDEIRO et al., 2015) e Cerrado (KÜLKAMP, 2020). Ocorre nas Regiões Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil, principalmente em floresta pluvial de Mata Atlântica (AZEVEDO et al., 2006) e vem se destacando em programas de reflorestamento. Sua altura atinge cerca de 15 m a 20 m, com tronco de 40 cm a 60 cm de diâmetro, cuja madeira é utilizada na fabricação de palitos de fósforo, celulose, canoas, caixotaria, tabuado para forros e jangadas (SILVA et al., 2002).

Suas sementes possuem cerca de 37% de óleo de alta densidade e viscosidade, amarelo, útil para fins industriais e medicinais (CHAVES et al., 1996). Pode ser mais uma alternativa para a produção de biodiesel, como fonte de energia renovável e ecologicamente viável. Além disso, apresenta grande potencial para programas silvipastoris visando o sombreamento de pastagens (SILVA et al., 2002).

Portanto, a importância da espécie e qualidade de seus coprodutos, somada ao grande potencial para a recuperação de áreas degradadas, torna-se de fundamental importância os estudos dos fatores que afetam a germinação de suas sementes, bem como informações ecofisiológicas para a espécie.

Por meio do teste de germinação é possível avaliar a viabilidade e o potencial germinativo, permitindo determinar e comparar a qualidade do lote de sementes, e adquirir informações necessárias para certificação e a garantia na padronização da comercialização das sementes (COPELAND et al., 1995). Nesse tipo de avaliação, podem ser determinadas variáveis como porcentagem de germinação, qualidade de plântulas e sementes, assim como fatores inerentes à velocidade da germinação (BRASIL, 2009).

O teste do tetrazólio, por sua vez, é um teste rápido em que pode ser visualizada a coloração de tecidos vegetais vivos nas sementes, em decorrência da reação de redução do sal de tetrazólio, pela atividade de enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória. Após a reação, podem ser distinguidos tecidos com maior ou menor respiração e, a partir daí, pode ser avaliada a viabilidade da semente e a sua capacidade de produzir uma planta normal (FOGAÇA, 2006). O teste de tetrazólio é muito utilizado na avaliação da qualidade de espécies agrícolas, sendo pouco difundido para espécies florestais, não possuindo metodologia específica para grande parte das espécies, embora apresente excelentes condições para ser utilizado rotineiramente, devido à sua rapidez e praticidade.

Protocolos de avaliação fisiológica de sementes florestais nativas ainda são escassos. As espécies nativas sofrem adaptações morfológicas e fisiológicas dependendo das condições edafoclimáticas em que estão inseridas, resultando em comportamentos distintos no processo de germinação, o que torna mais difícil o estabelecimento dos padrões para análise. As RAS (BRASIL, 2009) e o Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais (BRASIL, 2013) possuem informações sobre o teste de germinação de algumas espécies florestais nativas, porém, a metodologia muitas vezes não permite resultados satisfatórios, que correspondem à realidade do lote. No caso do tetrazólio, não existe protocolo para grande parte das espécies nativas, impossibilitando o seu uso para a certificação do lote.

Pela não adequação da *Joannesia princeps* ao teste de germinação em laboratório, promovendo

índices inferiores aos observados em testes de emergência no viveiro, objetivou-se testar protocolos de testes de germinação e vigor, e contribuir para a sua padronização, para avaliação da viabilidade de sementes da espécie.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Os frutos de *J. princeps* foram coletados em núcleos de coleta do Programa *Arboretum*, localizado em Teixeira de Freitas - BA. Esses núcleos estão dispersos pela região da Hileia Baiana, que contempla o norte do Espírito Santo e extremo sul da Bahia.

Após a coleta dos frutos, estes foram armazenados em temperatura ambiente, por aproximadamente 15 dias, para posterior retirada das sementes com o auxílio de um martelo. Após o beneficiamento, as sementes foram encaminhadas ao Laboratório de Análise de Sementes do Programa *Arboretum*, dando início à instalação dos testes. As sementes foram desinfestadas com a imersão em etanol 70% por 1 minuto, seguido de solução de hipoclorito de sódio na concentração de 2,5% (v/v) por 5 minutos e enxaguadas três vezes com água destilada.

### **Teste de germinação**

Após a desinfestação, as sementes de boleira foram trincadas com auxílio de torno de bancada, semeadas em bandejas de polietileno em diferentes substratos: vermiculita, areia, areia com giberelina (GA3) e rolo de papel. Os substratos foram selecionados com base nas recomendações do Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais (BRASIL, 2013), que preconiza a vermiculita como substrato ideal para o teste de germinação da *Joannesia princeps*.

Os substratos foram umedecidos a 60% da capacidade de retenção de água, com água destilada e para o tratamento de areia com giberelina, regados com a solução de giberelina a 500 mg.L<sup>-1</sup>. Os substratos foram previamente esterilizados em estufa de circulação de ar forçada a 100 °C, por 24 horas. Após a semeadura, as bandejas plásticas foram colocadas em germinador do tipo BOD (demanda bioquímica de oxigênio), com temperatura constante de 30 °C e fotoperíodo de 16 horas de luz.

A primeira contagem foi realizada no 14º dia, com contagens diárias até o 30º dia, seguindo as recomendações do Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais (BRASIL, 2013). Após este período, foram calculados o percentual de germinação, o índice de velocidade de germinação e o tempo médio de germinação de acordo com Maguire (1962). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro tratamentos (vermiculita, areia, areia+GA3 e rolo de papel) e quatro repetições com 25 sementes por parcela. Os dados foram submetidos à análise de variância, aplicando-se o teste F e fazendo-se a comparação das médias dos tratamentos pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade e erro, utilizando o programa R.

### **Teste de tetrazólio**

Para a realização do teste de tetrazólio, as sementes foram trincadas com auxílio de um torno de

bancada e pré-umedecidas por imersão direta em água destilada por 24 horas a uma temperatura de 30 °C, em câmara de germinação tipo BOD, como pré-acondicionamento, para facilitar a abertura posterior da semente. Após esse período, removeu-se o tegumento e as sementes foram divididas em duas subamostras de 100 unidades. Em uma subamostra, as sementes foram seccionadas longitudinalmente e na outra, foi extraído completamente o embrião. As sementes e os embriões foram imersos em uma solução de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio, nas concentrações de 0,5% e 1,0%, por um período de 4 horas de coloração, com quatro repetições compostas por 25 sementes e mantidas em câmara de germinação tipo BOD, no escuro, por 4 horas a 30 °C. Após este período, as soluções foram descartadas, os embriões lavados em água corrente e as sementes foram classificadas em viáveis ou inviáveis, de acordo com a coloração e aspecto dos tecidos.

A diferenciação de cores dos tecidos foi observada de acordo com os critérios estabelecidos para o teste de tetrazólio (DELOUCHE et al., 1976; BHÉRING et al., 1996; FRANÇA NETO, 1999): vermelho brilhante ou rosa (tecido vivo e vigoroso); vermelho-carmim forte (tecido em deterioração); branco leitoso ou amarelado (tecido morto). Para a caracterização dos níveis de viabilidade foi elaborada uma representação de sementes viáveis e inviáveis, observando a presença e a localização do dano, além das condições físicas das estruturas embrionárias. As categorias foram adaptadas e distribuídas em cinco classes pelos padrões de coloração apresentados (Quadro 1). A definição da melhor preparação e condições de coloração baseou-se nos aspectos dos tecidos e na intensidade e uniformidade de coloração.

Foram retiradas três amostras de sementes, sendo uma delas submetida ao teste de tetrazólio, outra amostra para emergência e a outra avaliada quanto à germinação e ao vigor das plântulas, estabelecendo-se assim classes de viabilidade e vigor para o teste de tetrazólio. Os tratamentos foram dispostos em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 2, sendo dois tipos de corte, longitudinal e extração total do embrião, imersos em duas concentrações da solução de tetrazólio, totalizando quatro tratamentos, com quatro repetições de 25 sementes por parcela.

**Quadro 1:** Descrição das características e colorações para cada categoria e classe na avaliação da viabilidade de sementes de *Joannesia princeps* pelo teste de tetrazólio.

CATEGORIAS	CLASSES	CARACTERIZAÇÃO
Viáveis	Classe I	Embrião e cotilédones com coloração rosa uniforme e todos os tecidos com aspecto normal e firme
	Classe II	Embrião com coloração rosa uniforme e cotilédones manchados ou descoloridos. Todos os tecidos com aspecto normal e firme
Inviáveis	Classe III	Embrião e cotilédones com coloração creme, leitosa e tecidos flácidos
	Classe IV	Cotilédones com mais de 50% da sua área manchada
	Classe V	Embrião e mais de 50% da região cotiledonar apresentando coloração vermelha intensa, típica de tecidos em deterioração

### Emergência em viveiro

Concomitantemente aos testes de germinação e tetrazólio, realizou-se o teste de emergência em viveiro, seguindo os mesmos procedimentos descritos para o teste de germinação, com a desinfestação e trincamento das sementes. A semeadura foi realizada em canteiro a pleno sol, onde as sementes foram acomodadas em um leito de areia lavada e cobertas com uma camada de aproximadamente 2 cm de areia, o canteiro recebeu irrigação quatro vezes ao dia. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes por

parcela e as avaliações foram realizadas a cada dois dias até o 30º dia após a montagem do teste, considerando-se a protrusão de raiz primária e a emergência de plântulas normais.

## RESULTADOS

Analisando os resultados do teste de germinação, verificou-se diferença significativa entre os tratamentos utilizados, com destaque para o substrato areia (Tabela 1). A areia, com ou sem a utilização do regulador de crescimento, promoveu maior percentual de germinação e melhor índice de velocidade de germinação.

**Tabela 1:** Porcentagem (G), índice de velocidade (IVG) e tempo médio (TMG) de germinação de sementes de *Joannesia princeps* em diferentes substratos.

Tratamento	Médias		
	G (%)	IVG	TMG (dias)
Vermiculita	18,0 b	0,2387 b	20,4 b
Areia	44,0 a	0,6267 a	18,4 b
Areia + GA <sub>3</sub>	39,0 a	0,6546 a	15,1 a
Rolo de papel	0,0 c	0,0000 b	0,0 c
CV (%)	32,90	30,73	9,88

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

As sementes dispostas no substrato rolo de papel não apresentaram germinação e foi detectada alta incidência de fungos. Para o tempo médio de germinação, os tratamentos areia e vermiculita apresentaram diferença significativa. O tratamento utilizando a giberelina no substrato apresentou germinação mais rápida que os demais. Já no viveiro, observou-se uma média de 73% de emergência.

Com relação ao teste de tetrazólio, as sementes expostas ao sal apresentaram reação, com desenvolvimento da coloração, em todas as concentrações da solução. O Quadro 2 representa a classificação dos níveis de viabilidade estabelecidos no teste de tetrazólio para sementes de *J. princeps*, considerando as características como critério para a classificação das sementes, conforme apresentado no Quadro 1 na metodologia.

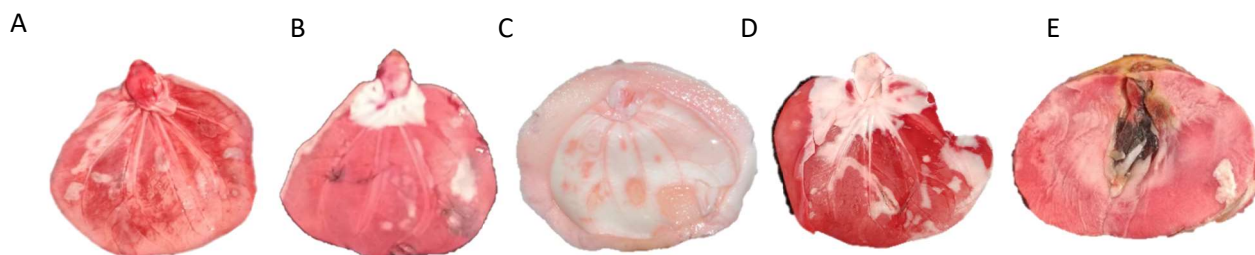
**Quadro 2:** Porcentagem média de sementes viáveis (classes I e II) e inviáveis (classes III; IV; V) de *Joannesia princeps* para cada tratamento testado.

Categorias de viabilidade					
Classes	Viáveis (%)		Inviáveis (%)		
	I	II	III	IV	V
<b>Tratamentos</b>					
corte longitudinal+ solução 0,5%	50	20	5	20	5
corte longitudinal + solução 1,0%	38	35	6	18	3
embrião extraído + solução 0,5%	50	34	0	15	1
embrião extraído + solução 1,0%	65	18	0	16	1

Conforme os resultados expressos no Quadro 2, observou-se que a metodologia empregada para o teste de tetrazólio proporcionou estimativas de viabilidade das sementes de *J. princeps*. As sementes apresentaram, em média, 77% dos eixos embrionários corados com o tetrazólio, evidenciando-se que, em média, 23% dos embriões estavam inviáveis para a germinação.

Embora todos os tratamentos tenham apresentado reação positiva, a retirada do embrião seguido

de exposição ao cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio em concentração a 1%, permitiu uma melhor visualização e, conseqüentemente, melhor interpretação dos resultados (Figura 1).



**Figura 1:** Coloração apresentada na concentração de 1% da solução do sal de Tetrazólio em embriões e sementes de *Joannesia princeps*. A- embrião representando a classe I (viáveis); B- embrião representando classe II (viáveis); C- semente representando a classe III (inviáveis); D- semente representando a classe IV (inviáveis) e E- semente representando a classe V (inviáveis).

## DISCUSSÃO

A areia como substrato, com ou sem a utilização do regulador de crescimento, promoveu melhores percentuais de germinação e melhor índice de velocidade de germinação, mostrando-se, portanto, mais adequada para a realização do teste de germinação da *J. princeps*. Fato que se deve, provavelmente, à manutenção de umidade no substrato, proporcionando condições mais favoráveis à germinação das sementes.

O maior percentual de germinação nos tratamentos com areia pode ser atribuído a maior capacidade de retenção de água dos substratos, que disponibilizam uma maior umidade, observada visualmente, de forma a uniformizar todo o processo germinativo resultante (ALVES et al., 2011). A superioridade do substrato areia pode também estar ligada à área de contato com as sementes. Dentro de certos limites, a velocidade de germinação será tanto maior, quanto maior for a velocidade de absorção de água pelas sementes, determinada, dentre outros fatores, pela área superficial de contato entre a semente e o substrato umedecido (POPINIGIS, 1977; MARCOS FILHO, 1986; CARVALHO et al., 2000).

Não houve germinação no substrato rolo de papel e foi observada maior ocorrência de fungos. Portanto, outra possível explicação para o baixo desempenho germinativo das sementes, pode estar associado à liberação de lixiviados que favorecem a ocorrência de contaminações secundárias, ao passo que, nos substratos vermiculita e areia, os lixiviados se restringem às proximidades das respectivas sementes, reduzindo a contaminação em massa. Vale ressaltar que a germinação de sementes florestais se processa num período relativamente longo, aumentando a incidência de fungos e impossibilitando a protrusão da raiz e o desenvolvimento de plântulas. O substrato entre areia parece destacar-se em relação ao entre papel, uma vez que o substrato areia é considerado adequado para sementes de várias espécies florestais (ALVES et al., 2008; GUEDES et al., 2010; LADEIA et al., 2012).

Com relação ao tempo médio de germinação, também houve diferença significativa entre areia e vermiculita. O tratamento utilizando a giberelina no substrato apresentou germinação mais rápida que os demais, conforme pode ser observado pela análise do TMG, já que os hormônios vegetais endógenos ou sob

aplicação exógena como reguladores de crescimento, podem atuar de forma a acelerar e uniformizar a germinação.

A giberelina (GA<sub>3</sub>) é o principal hormônio envolvido com a germinação, atuando de forma a estimular a síntese de enzimas como alfa-amilase, permitindo a quebra do amido e consequente liberação de energia e, posteriormente, a retomada do crescimento do embrião, gerando em seguida a protrusão da radícula (FERREIRA et al., 2005). Porém, ao analisar a porcentagem final de germinação, não foram encontradas diferenças significativas com o uso da giberelina em relação ao uso da areia pura, não justificando sua utilização, por questões econômicas e operacionais.

Durante a escolha do material para substrato, deve ser levado em consideração o tamanho da semente, a sua exigência com relação à umidade, a sensibilidade ou não à luz e ainda, a facilidade que este oferece para o desenvolvimento e avaliação das plântulas (FIGLIOLIA et al., 1993). O substrato areia é indicado para todo tipo de sementes, inclusive para as espécies mais sensíveis ao ressecamento e que exigem um período mais prolongado para completarem a germinação (ABREU et al., 2005).

Essas descrições reforçam a importância de se adequar o substrato à espécie, além de chamar atenção para uma problemática constante a respeito da atualização das RAS, propondo metodologias mais adequadas para as espécies florestais. Os diferentes substratos comumente recomendados variam entre si em sua composição, toxicidade para as sementes, associação com patógenos, aeração e capacidade de retenção de umidade (SCALON et al., 1993), e para sua escolha deve-se levar em consideração a facilidade que este oferece para o perfeito desenvolvimento das plântulas, realização das contagens e avaliações.

Embora não seja o substrato recomendado no Manual de Procedimentos para Análise de Sementes Florestais (BRASIL, 2013) para a espécie *J. princeps*, a areia é empregada rotineiramente em testes de germinação com sementes de espécies florestais, devido às vantagens que proporciona à semente. Os resultados obtidos no presente trabalho, em adição às observações efetuadas no decorrer dos testes, evidenciaram a superioridade do substrato areia, dentre as alternativas avaliadas, sendo o mais conveniente para uso no teste de germinação de sementes de *J. princeps*.

A porcentagem de germinação das sementes foi média, nos melhores tratamentos, não indicando alto poder germinativo das sementes, o que é fator preponderante na comparação, pois os testes de vigor podem detectar diferenças não observadas no teste de germinação (MARCOS FILHO, 1999). O potencial fisiológico das sementes é rotineiramente avaliado pelo teste de germinação, conduzido sob condições altamente favoráveis de temperatura, umidade e substrato, viabilizando assim, o máximo potencial para germinação, não refletindo o comportamento das espécies no campo e não detectando, portanto, estágios avançados de deterioração (LARRÉ et al., 2009).

Com relação à emergência em viveiro, obteve-se uma média de 73%, demonstrando que os testes realizados em laboratório nem sempre expressam com precisão a qualidade fisiológica das sementes, enquanto a emergência em campo ou viveiro, sob influência de condições ambientais não controladas, expõe as sementes a condições menos favoráveis, permitindo identificar diferenças menos perceptíveis e o comportamento mais real ao esperado em campo.

Dentre os critérios para avaliar a confiabilidade de um determinado teste para avaliação da qualidade de diferentes lotes, a correlação dos resultados desse teste com os resultados de emergência em campo é um dos parâmetros mais adotados (MARCOS FILHO, 1994). Embora os resultados obtidos geralmente reflitam a subjetividade inerente deste tipo de avaliação, há relevantes estudos que o correlacionam com os testes de germinação e emergência em viveiro.

Os resultados obtidos em relação ao teste de tetrazólio, com referência aos dois fatores testados (F1 – corte; F2 – concentração) em sementes de *J. princeps*, foram importantes para o entendimento de particularidades sobre esta espécie. As sementes expostas ao tetrazólio apresentaram reação, com desenvolvimento da coloração, em todas as concentrações da solução. A preparação envolvendo o trincamento do tegumento, seguida de embebição em água por 24 horas e retirada manual do tegumento, apresentou coloração uniforme, tanto nas sementes cortadas longitudinalmente, quanto no embrião extraído. Tegumentos espessos e duros devem ser removidos antes da coloração, como é o caso das sementes de *J. princeps* (GRABE, 1976). A remoção do tegumento, antes da imersão em solução de tetrazólio, embora seja uma operação delicada e trabalhosa, possibilita reduzir o tempo necessário para que as sementes adquiram a coloração adequada (BITTENCOURT et al., 1999).

Alguns testes podem apresentar condições adequadas para análises com baixas concentrações da solução do sal de tetrazólio e períodos longos de imersão, como nos estudos com sementes de *Tabebuia roseoalba*, situação em que foi testada a concentração de 0,05% e tempo de imersão de 24 horas (ABBADÉ et al., 2014). Em outros testes que utilizaram concentrações maiores da solução do sal de tetrazólio, foram encontradas condições adequadas para se avaliar a viabilidade de sementes, como na avaliação da espécie *Dimorphandra wilsonii*, utilizando concentração de 1% por 48 horas, permitindo a avaliação da viabilidade das sementes (FREITAS et al., 2009).

Diversas concentrações de tetrazólio já foram testadas na condução de testes em espécies florestais, com variações distintas da avaliada para a *J. princeps*. Em estudos com *Araucaria angustifolia*, constatou-se que, tanto a concentração de 0,1%, quanto a de 0,5% e tempo de imersão de 1 hora, foram métodos eficazes na avaliação da qualidade das sementes (OLIVEIRA et al., 2014). Já a combinação ideal para sementes de *Enterolobium contortisiliquum*, foi estabelecida aplicando concentrações de 0,05% e 0,075% no período de três horas de imersão (NOGUEIRA et al., 2014).

Os resultados dos testes de tetrazólio serão satisfatórios se a solução de tetrazólio for adequadamente absorvida pelas sementes e, estas, quando viáveis, absorverem a solução lentamente, desenvolvendo coloração suave, diferentemente das sementes deterioradas, as quais tendem a adquirir coloração rosa forte (COSTA et al., 2010). A avaliação da coloração apresentada pelas sementes deve ser realizada com atenção, pois cada espécie possui suas particularidades na estrutura da semente o que pode dificultar as análises (MENDES et al., 2009).

Deve-se considerar que as classes de viabilidade obtidas para o teste de tetrazólio (I; II; III; IV e V), com base nos resultados observados na emergência em viveiro, foram eficientes para a determinação da viabilidade desta espécie. Portanto, em caso de necessidade para se determinar mais rapidamente e



precisamente a viabilidade de sementes em análises laboratoriais, sugere-se o seu uso, uma vez que é possível obter resultados mais rápidos, quando comparados ao teste de emergência e mais preciso quando considerados os testes de germinação, que ainda hoje é o recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Para as espécies florestais brasileiras, o teste de tetrazólio é utilizado de forma restrita, embora apresente potencial para ser empregado rotineiramente, uma vez que parte dessas espécies necessita de um período longo para as sementes germinarem (PINTO et al., 2008). Algumas pesquisas foram realizadas com o objetivo de padronizar esse teste para avaliação da viabilidade de sementes de espécies florestais brasileiras, como as desenvolvidas para as sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert (OLIVEIRA et al., 2005), *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake (FERREIRA et al., 2007) e *Poecilanthe parviflora* Benth (PINTO et al., 2008).

O teste de tetrazólio mostrou-se um teste rápido e confiável, com resultados conclusivos após 4 horas de exposição à solução, fornecendo informações mais rapidamente do que o teste de germinação, que para a espécie e nas circunstâncias testadas precisa ser conduzido por 30 dias após a instalação. O teste é adequado e pode ser recomendado para avaliação de várias espécies florestais, porém, por não existir metodologia descrita pelas RAS, acaba sendo pouco utilizado na análise de sementes florestais, o que torna estudos como este de grande relevância, para exploração e difusão de uma técnica prática e eficiente.

Os resultados dos testes de tetrazólio e germinação geralmente coincidem, porém podem apresentar discrepâncias consideráveis, como observado no presente estudo. A solução de tetrazólio a 1,0%, combinada com o tempo de quatro horas, permitiu a constatação de viabilidade acima de 70%, valor superior ao máximo valor obtido para o teste de germinação (44%), porém muito semelhante aos 73% obtidos com a emergência em viveiro. Dessa forma, levando em consideração a emergência em campo, o método apresenta-se como eficaz na avaliação da viabilidade de sementes da espécie em estudo.

Os menores valores de germinação obtidos no teste em laboratório podem ser explicados por diversos fatores como, infestação por fungos e bactérias, não adequação das metodologias descritas pelas RAS, deficiência de protocolos de desinfestação, entre outros. Na emergência em viveiro não foi constatada contaminação por fungos e as plântulas tiveram adequado desenvolvimento inicial, vigorosas e saudáveis. Nesse sentido, é razoável que se recomende o uso do teste de tetrazólio nas análises laboratoriais, para que se possa obter resultados mais rápidos.

## CONCLUSÕES

Os protocolos de germinação e tetrazólio permitem avaliar o comportamento fisiológico de sementes *J. princeps*, apesar dos resultados inferiores obtidos no teste de germinação em laboratório em relação ao teste de emergência de plântulas em viveiro.

A utilização da concentração de 1,0% de sal de tetrazólio durante 4 horas a 30°C permitiu coloração uniforme e foi eficiente para avaliação da viabilidade das sementes de *J. princeps*.

Recomenda-se a areia como substrato ideal para a condução do teste de germinação de sementes

de *J. princeps* em laboratório.

## 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**, Viçosa, v.38, p.233-240, 2014. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-67622014000200003>
- ABREU, D. C. A.; NOGUEIRA, A. C.; MEDEIROS, A. C. S.. Efeito do substrato e da temperatura na germinação de sementes de cataia (*Drimys brasiliensis* MIERS. winteraceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.149-157, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222005000100019>
- ALVES, E. U.; ANDRADE, L. A.; BRUNO, R. L. A.; VIEIRA, R. M.; CARDOSO, E. A.. Emergência e crescimento inicial de plântulas de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert sob diferentes substratos. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.42, n.2, p.1-9, 2011.
- ALVES, E. U.; ANDRADE, L. A.; BARROS, H. H. A.; GONÇALVES, E. P.; ALVES, A. U.; GONÇALVES, G. S.; OLIVEIRA, L. S. B.; CARDOSO, E. A.. Substratos para testes de emergência de plântulas e vigor de sementes de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.29, n.1, p.69-82, 2008.
- AZEVEDO, S. K.; SILVA, I. M.. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, Brasília, v.20, p.185-194, 2006. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0102-33062006000100017>
- BITTENCOURT, S. R. M.; VIEIRA, R. D.. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de amendoim. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.218.
- BHÉRING, M. C.; SILVA, R. F.; ALVARENGA, E. M.; DIAS, D. N. F. S.; PENNA, M. F.. Avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de feijão de vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo teste de tetrazólio. **Boletim Técnico UFV**, Viçosa, p.27, 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais**. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária, Coordenação Geral de Apoio Laboratorial, 2013.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J.. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4 ed. Jaboticabal: Funep, 2000.
- CHAVES, M. M. F.; DAVIDE, A. C.. Caracterização morfológica de frutos, sementes e plântulas de *Joannesia princeps* Vell. - Euphorbiaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.18, n.2, p.208-213, 1996. DOI: <http://dx.doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v18n2p208-213>
- COPELAND, L.O.; MCDONALD, M. B.. **Principles of Seed Science and Technology**. New York: Chapman & Hall, 1995.
- CORDEIRO, I.; SECCO, R.. **Joannesia in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.
- COSTA, C. J.; SANTOS, C. P. D.. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, n.32, p.66-72, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222010000200008>
- DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M.. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, p.103, 1976.
- FERREIRA, G.; OLIVEIRA, A.; RODRIGUES, J. D.; DIAS, G. B.; DETONI, A. M.; TESSER, S. M.; ANTUNES, A. M.. Efeito de arilo na germinação de sementes de *Passiflora alata* Curtis em diferentes substratos e submetidas a tratamentos com giberelina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.27, n.2, p.277-280, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-29452005000200022>
- FERREIRA, R. A.; OLIVEIRA, L. M.; TONETT, O. A. O.; DAVIDE, A. C.. Comparação da viabilidade de sementes de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake Leguminosae Caesalpinioideae, pelos testes de germinação e tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.83-89, 2007. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222007000300011>
- FIGLIOLIA, M. B.; OLIVEIRA, E. C.; RODRIGUES, F. C. M. P.. Análise de sementes. In: AGUIAR, I. B.; RODRIGUES, F. C. M. P.; FIGLIOLIA, M. B.. **Sementes florestais tropicais**. Brasília: ABRATES, 1993. p.350.
- FOGAÇA, C. A.; MALAVASI, M. D. M.; ZUCARELI, C.; MALAVASI, U. C.. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de *Gleditschia amorphoides* Taub. Caesalpinioideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.101-107, 2006. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222006000300015>
- FRANÇA NETO, J. B.. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.218.
- FREITAS, V. L. O.; ALVES, T. H. S.; LOPES, R. D. M. F.; LEMOS FILHO, J. P.. Biometria de frutos e sementes e germinação de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. e *Dimorphandra wilsonii* Rizz. (Fabaceae-Caesalpinioideae). **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v.37, n.81, p.27-35, 2009.
- 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. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1516-05722010000100017>
- GRABE, D. F.. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976.
- KÜLKAMP, J.. **Joannesia in Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020.

LARRÉ, C. F.; MORAES, D. M.; LOPES, N. F.. Potencial fisiológico de dois lotes de sementes de arroz tratadas com 24-epibrassinolídeo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.27-35, 2009. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222009000400003>

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.. Germinação de sementes. In: CICERO, S. M.; MARCOS FILHO, J.; SILVA, W. R.. **Atualização em produção de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.11-39.

MARCOS FILHO, J.. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.4, n.2, p.33-35, 1994.

MARCOS FILHO, J.. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B.. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-24.

MENDES, S. S.; MESQUITA, J. B.; MARINO, R. H.. Qualidade sanitária de sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit armazenadas em câmara fria. **Acta Forestalis**, Sergipe, v.1, n.1, p.19-28, 2009. DOI: <http://doi.org/10.6008/ESS2237-9290.2011.001.0002>

NOGUEIRA, N. W.; TORRES, S. B.; FREITAS, R. M. O.. Teste de tetrazólio em sementes de timbaúba. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.35, n.6, p.2967-2976, 2014. DOI: <http://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n6p2967>

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, p.468-474, 2014. DOI: <http://doi.org/10.1590/2179-8087.064413>

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

PINTO, T. L. F.; BRANCALION, P. H. S.; NOVEMBRE, A. D. L. C.; CÍCERO, S. M.. Avaliação da viabilidade de sementes de coração-de-negro (*Poecilanthe parviflora* Benth. -Fabaceae-Faboideae) pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.208-214, 2008. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222008000100026>

POPINIGIS, F.. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1977.

SCALON, S. P. Q.; ALVARENGA, A. A.; DAVIDE, A. C.. Influência do substrato, temperatura, umidade e armazenamento sobre a germinação de sementes de pau-terra (*Platygyamus regnelli*, Benth.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.15, n.1, p.143-146, 1993.

SILVA, L. M. M.; AGUIAR, I. B.. Efeito dos substratos e temperaturas na germinação de sementes de *Cnidoscylus phyllacanthus* Pax & K. Hoffm. (faveleira). **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.9-14, 2004. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0101-31222004000100002>

SILVA, D. B.; LEMOS, B. S.. **Plantas da área verde da Super Quadra 416 Norte-Brasília, DF**. Brasília: Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2002.

Os autores detêm os direitos autorais de sua obra publicada. A CBPC – Companhia Brasileira de Produção Científica (CNPJ: 11.221.422/0001-03) detêm os direitos materiais dos trabalhos publicados (obras, artigos etc.). Os direitos referem-se à publicação do trabalho em qualquer parte do mundo, incluindo os direitos às renovações, expansões e disseminações da contribuição, bem como outros direitos subsidiários. Todos os trabalhos publicados eletronicamente poderão posteriormente ser publicados em coletâneas impressas ou digitais sob coordenação da Companhia Brasileira de Produção Científica e seus parceiros autorizados. Os (as) autores (as) preservam os direitos autorais, mas não têm permissão para a publicação da contribuição em outro meio, impresso ou digital, em português ou em tradução.

Todas as obras (artigos) publicadas serão tokenizadas, ou seja, terão um NFT equivalente armazenado e comercializado livremente na rede OpenSea ([https://opensea.io/HUB\\_CBPC](https://opensea.io/HUB_CBPC)), onde a CBPC irá operacionalizar a transferência dos direitos materiais das publicações para os próprios autores ou quaisquer interessados em adquiri-los e fazer o uso que lhe for de interesse.



Os direitos comerciais deste artigo podem ser adquiridos pelos autores ou quaisquer interessados através da aquisição, para posterior comercialização ou guarda, do NFT (Non-Fungible Token) equivalente através do seguinte link na OpenSea (Ethereum).

*The commercial rights of this article can be acquired by the authors or any interested parties through the acquisition, for later commercialization or storage, of the equivalent NFT (Non-Fungible Token) through the following link on OpenSea (Ethereum).*



<https://opensea.io/assets/ethereum/0x495f947276749ce646f68ac8c248420045cb7b5e/44951876800440915849902480545070078646674086961356520679561157879170104033281/>