



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

**INDICADORES BIOQUÍMICOS APLICADOS PARA VERIFICAÇÃO DA
QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Dalbergia miscolobium*
Benth.**

Linha de Pesquisa: Formação e Condução de Povoamentos Florestais
Aluna: Juliana Martins de Mesquita Matos
Orientadora: Dra Rosana de Carvalho Cristo Martins
Co-orientadora: Dra Valéria Regina Bellotto

13 de Março de 2014.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL

**INDICADORES BIOQUÍMICOS APLICADOS PARA
VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE
SEMENTES DE *Dalbergia miscolobium* Benth.**

JULIANA MARTINS DE MESQUITA MATOS

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL DA FACULDADE DE TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTEÇÃO DO GRAU DE DOUTOR.

APROVADA POR:

Rosana de Carvalho Cristo Martins, Dra. (Departamento de Engenharia Florestal, UnB) - (Orientadora)

**Ildeu Soares Martins, Dr (Departamento de Engenharia Florestal, UnB)
(Examinador Interno)**

**Paulo Ernani Nogueira da Silva, Dr (Departamento de Engenharia Florestal, UnB)
(Examinador Interno)**

**Maria Magaly Velloso Wetzel, Dra (Rede de Sementes do Cerrado)
(Examinadora Externa)**

**Nara Oliveira Silva Souza, Dra (Faculdade de Agronomia e Veterinária, UnB)
(Examinadora Externa)**

**Reginaldo Sérgio Pereira, Dr. (Departamento de Engenharia Florestal, UnB) -
(Examinador Interno - Suplente)**

Brasília, 13 de março de 2014.

FICHA CATALOGRÁFICA

MATOS, JULIANA MARTINS DE MESQUITA

INDICADORES BIOQUÍMICOS APLICADOS PARA VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Dalbergia miscolobium* Benth. [Distrito Federal] 2014.

xxxvi, 86 p., 210 x 297 mm (EFL/FT/UnB, Doutora, Tese de Doutorado –

Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Florestal

1. Sementes florestais 2. Qualidade fisiológica 3. Exsudatos

I. EFL/FT/UnB

II. Título (série)

MATOS, J.M.M. (2014). INDICADORES BIOQUÍMICOS APLICADOS PARA VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Dalbergia miscolobium* Benth..Tese de Doutorado em Engenharia Florestal, Publicação PPG EFL.TD-36/2014, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 86 p.

CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Juliana Martins de Mesquita Matos.

TÍTULO: INDICADORES BIOQUÍMICOS APLICADOS PARA VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Dalbergia miscolobium* Benth.

GRAU: DOUTOR

ANO: 2014

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta tese de doutorado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. A autora reserva outros direitos de publicação. Nenhuma parte dessa tese de doutorado pode ser reproduzida sem autorização por escrito da autora.

Juliana Martins de Mesquita Matos
SQN 415 BI F aptº 202
70.755-060 Brasília – DF – Brasil.

"Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer."

Mahatma Gandhi

Dedicatória

Dedico este trabalho à Thaís Maria e Pietra Maria, minhas melhores sementes.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por sua presença tão viva intensa e constante em minha vida. Sinto sua presença em todos os momentos da minha vida!! Obrigada grande PAI! Obrigada por colocar tantos Anjos no meu caminho...

Agradeço a Nossa Senhora por atender minhas preces e me proteger em todos os instantes da minha vida! Agradeço ao meu queridíssimo Santo Antônio por me dar força e manter a minha fé na vida! Obrigada Santa Edwiges por aceitar as minhas preces e responder com graças na minha vida!

Agradeço aos meus Pais: Maria Martins e Raimundo Mesquita, pela dádiva da vida, e o imenso amor que recebo desde sempre. A vocês dedico as minhas vitórias e alegrias!!

Agradeço ao meu amado Esposo Alessandro Matos pelo incentivo, pelo amor, e por embalar comigo os sonhos de uma vida!! Por tudo que você é para mim e para as meninas: muito obrigada!!

Agradeço às minhas Filhas Thaís Maria e Pietra Maria por me impulsionar a viver e lutar todos os dias! Por todas as vezes que abriram mão de horas tão preciosas do nosso convívio para que eu realizasse este sonho... Vocês são as minhas melhores sementes.... Mamãe ama muito vocês!!

Agradeço ao meu irmão Diego pelo amor e diversos incentivos... pelas horas lindas do nosso convívio da nossa infância feliz ... Por ser essa presença viva e tão importante na minha vida hoje e sempre!!!

Agradeço a minha orientadora Dra Rosana Martins pelo carinho, confiança, apoio e incentivo, tão fundamentais para mim. Obrigada por acreditar em mim desde a graduação!! Acima de tudo pela Amiga que encontro em você!! É um privilégio único ter você na minha vida!!

Agradeço a minha Co-orientadora Dra Valéria Bellotto pela confiança depositada nas minhas ideias, apoio, afeto e incentivo. A senhora abriu um mundo novo diante dos meus olhos e fez toda a diferença instigando o meu crescimento Profissional! Obrigada por me acolher!! Espero poder tê-la sempre ao meu lado!!

Agradeço a CAPES e ao Programa REUNI pela bolsa de estudos concedida a mim ao longo do curso de Doutorado em Ciências Florestais.

Agradeço ao Professor Ildeu Martins pelos auxílios nesta e em todas as pesquisas que fizemos juntos e nas que ainda espero fazer em parceria com o senhor.

Agradeço a Professora Jeanine Felfili (In Memoriam) por despertar em mim habilidades que eu mesma desconhecia que tinha, por me acolher após um longo e difícil período onde estive ausente da minha vida acadêmica para realizar o sonho de ser Mãe...Por me ensinar a querer, sempre, ir mais além, e

a enxergar as oportunidades trabalhando com alegria e determinação!! Sei que seus incentivos foram decisivos e seus ensinamentos um divisor de águas na minha vida acadêmica!! Obrigada pelo carinho e tudo que a senhora fez por mim!! Foi um imenso privilégio ser sua aluna!!

Agradeço aos Professores Alexandre Florian e Ailton T. do Vale, por todo o incentivo e apoio dados ao longo da minha vida acadêmica! Os ensinamentos de vocês vão sempre me acompanhar!! Eu jamais poderia esquecer as raízes que tenho na Tecnologia da Madeira e os Professores que me prepararam para ser a pesquisadora que sou... Obrigada por tudo!

Obrigada meus queridos Amigos Chiquinho, Fátima e Pedro! Pela amizade, carinho e paciência de vocês!! Por me acompanharem mesmo depois do horário, por me atender, esclarecer e entender! Vocês são muito especiais!!

Obrigada Raquel Godoi, Letícia Antonioli, Daniela Vasconcelos, Ângela Bussinguer, Kennya Ramos, Alcione Martins e Patrícia Gomes por me darem colo, carinho e incentivos tão fundamentais... Vocês são Amigas queridas e leais que quero ter por toda a vida!! Juntas semeamos sonhos e colhemos muitas horas de alegria...

Agradeço aos Amigos: Nádia Viana, Ângelo Santarlacci, Thiago Vinicius, Hernani Oliveira, Luiz Ricardo, Anderson Oliveira, Kever Bruno, André Moreira, Fabrícia, Fábio e Michele (*in memoriam*)... Obrigada por todas as horas de trabalho tão divertidas e gratificantes! Que o tempo e a distancia nunca apague a nossa amizade!!!

Agradeço aos Colegas do LAQUA/IQ: João, Vitor, Gabi, Rafael e Ana pelas horas de aprendizado e convivência divertidas e tão importantes para mim...

Agradeço aos meus queridos orientados, que foram meus parceiros de pesquisa, de laboratório e de horas muito felizes!! Foi um privilégio conviver e aprender com todos vocês...

Agradeço meus Examinadores Dra Magaly, Dra Nara, Dr Reginaldo e Dr Ildeu pelas contribuições tão relevantes para esta tese e esta Profissional.

Obrigada a todos os Amigos que lotaram o Auditório da Engenharia Florestal e fizeram da minha Defesa um momento cercado de amor!! A cada um de vocês deixo um beijo e um abraço repleto de gratidão!!

Por fim, agradeço a todos que fizeram e ainda fazem parte da minha história seja direta ou indiretamente. Rendo essa singela homenagem a todos que me ajudaram nesta conquista tão especial... Sintam-se abraçados por mim...

A todos vocês o meu sincero: Muito Obrigada!

Ju.

RESUMO

A rapidez na avaliação da qualidade fisiológica das sementes agiliza as tomadas de decisões nas etapas finais da produção, armazenamento e comercialização das mesmas. O presente trabalho teve por objetivo analisar as metodologias para aplicação dos testes de tetrazólio, lixiviação de potássio, pH do exsudato, condutividade elétrica para a determinação da qualidade fisiológica de sementes recém colhidas de *Dalbergia miscolobium* Benth. As sementes foram desinfetadas e submetidas aos seguintes testes: **I) Teste de germinação** pelo método do rolo de papel filtro a 25°C, aplicando os seguintes tratamentos: 1) sementes sem corte no tegumento e expostas a luz; 2) sementes com corte na parte lateral do tegumento e expostas a luz; 3) sementes sem corte e sem luz; e 4) sementes com corte na parte lateral do tegumento e sem luz. **II) Teste de tetrazólio** a 1% de concentração – aplicando os seguintes tratamentos de preparo da semente: i) hidratação entre folhas de papel filtro a 25°C por 24 horas; ii) hidratação entre folhas de papel filtro a 25°C por 24 horas seguido de corte na porção lateral do tegumento; e iii) hidratação entre folhas de papel filtro a 25°C por 24 horas seguida de remoção completa do tegumento. **III) Teste de condutividade elétrica, pH do exsudato e Lixiviação de potássio-** As sementes foram agrupadas em conjuntos de 20 unidades, pesadas e colocadas para embeber em 100 mL de água Mili-Q empregando-se diferentes tempos de embebição (30, 60, 90, 120 e 240 minutos) em câmara de temperatura constante calibrada para 25°C. Cada tratamento (tempo) foi composto por 10 repetições de 20 sementes. Após cada um dos períodos foram extraídos 15 mL da solução de embebição das sementes para determinar o potássio lixiviado por meio da Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA). No restante da solução de embebição foram realizadas as medidas de: condutividade elétrica com o auxílio de um condutivímetro de bancada; do pH com auxílio do pHmetro de bancada e soluções indicadoras de pH. Essas metodologias de análises de potássio, pH e condutividade elétrica também foram realizadas com sementes envelhecidas artificialmente por períodos de 24, 48, 72 e 96 horas para verificar o efeito da deterioração sobre a liberação de exsudatos e a germinabilidade das sementes. Após essas avaliações as sementes envelhecidas foram postas para germinar. Os resultados demonstraram que as sementes coletadas possuem boa qualidade, com média de 87% de germinação, bem como a hidratação em papel filtro a 25°C por 24 horas seguida da remoção do tegumento foi o tratamento que permitiu o melhor desempenho do teste de tetrazólio nas análises das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. Verificou-se, ainda, que há um aumento da condutividade elétrica e da lixiviação do potássio em função do tempo de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium*. Para as sementes envelhecidas artificialmente verificou-se que houve um aumento nos valores de potássio lixiviado e da condutividade elétrica associados a um decréscimo dos valores de germinação das sementes.

Palavras Chave: teste de tetrazólio, teste de pH do exsudato da semente, teste de lixiviação de potássio e teste de condutividade elétrica.

ABSTRACT

The decision making during the final stages of production, storage and marketing of seeds depends directly on the legerity of the analysis in quality streamlines. This study aimed to analyze the methodologies for application of tetrazolium tests, leaching of potassium, pH and electrical conductivity of exudate to determine the physiological quality of seeds newly harvested *Dalbergia miscolobium* Benth. The seeds were disinfected and subjected to the following tests: i) Germination test by the filter paper at 25° C roll method by applying the following treatments: 1) seeds without cutting the seed coat and exposed to light , 2) seeds by cutting the side integument and exposed to light ; 3) seeds without cutting and without light , and 4) seeds with cut in the side of the integument and without light. II) Test tetrazolium at 1% concentration - applying the following treatments to prepare the seed : i) hydration between sheets of filter paper at 25°C for 24 hours role ii) hydration between sheets of filter paper at 25°C for 24 hours followed by cutting the side portion of the integument , and iii) hydrating between sheets of filter paper at 25°C for 24 hours followed by complete removal of the seed coat paper. III) Test electrical conductivity and pH of the exudate leaching potassium - Seeds were grouped by sets of 20 pieces , weighed and placed to soak in 100 mL Milli - Q water using different soaking times (30, 60, 90, 120 and 240 minutes) in a constant temperature chamber that was calibrated to 25°C. Each treatment (time) is comprised of 10 repetitions of 20 seeds. After each period, 15 mL of the seed soaking were extracted to determine the potassium leached through the technique of atomic absorption spectrometry (AAS). The remainder of the soaking solution was measured in the electrical conductivity with the aid of a bench conductivity meter, PH with the aid of a pH meter and bench and pH indicator solutions. These potassium, pH and electrical conductivity analyzis' methods were also performed with artificially aged seeds for periods of 24 , 48 , 72 and 96 hours with the aim to verify the effect of deterioration on the release of exudates and germination of seeds. After those reviews, the aged seeds were set to germinate. The results showed that seeds collected have good quality , with an average of 87 % germination, as well as hydration on filter paper at 25°C for 24 hours followed by removal of the seed coat, this was the treatment that allowed the best performance of the tetrazolium test in the analyzes seeds of *Dalbergia miscolobium* Benth. It was also showed by the results that there is an increase in electrical conductivity and potassium leaching according to time of seed imbibition *Dalbergia miscolobium*. For the artificially aged seeds were found that there was an increase in the amounts of leached potassium and electrical conductivity associated with a decrease in the values of seed germination.

Key words : tetrazolium test, pH of seed exudate test, potassium leaching test and electrical conductivity test.

INDICE

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3. HIPOTESE	18
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
4.1 TÉCNICAS APLICADAS PARA VERIFICAR A VIABILIDADE DE SEMENTES.....	18
4.1.1 TESTE DE GERMINAÇÃO	18
4.1.2 TESTE DE TETRAZÓLIO.....	19
4.1.3 PROCESSO DE DETERIORAÇÃO DAS SEMENTES	21
4.1.4 TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	22
4.1.5 TESTE DE LIXIVIAÇÃO DE POTÁSSIO	24
4.1.6 TESTE DO pH DO EXSUDATO DA SEMENTE	26
4.1.8 ESPÉCIE ESTUDADA	29
5. MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1 COLETA E PREPARAÇÃO DAS SEMENTES	30
5.2 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS DE ANÁLISE	32
5.2.1 TESTE DE GERMINAÇÃO	32
5.2.2 TESTE DE TETRAZÓLIO.....	32
5.2.3 TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	33
5.2.4 TESTE DE LIXIVIAÇÃO DE POTÁSSIO	34
5.2.4.1 ESTUDO DOS MÉTODOS PARA DETECÇÃO DO POTÁSSIO NAS SEMENTES DE <i>DALBERGIA MISCOLOBIUM</i> BENTH.	34
5.2.5 TESTE DO pH DO EXSUDATO DA SEMENTE PELO MÉTODOS QUANTITATIVO E COLORIMÉTRICO.....	37
5.3 VERIFICAÇÃO DA GERMINABILIDADE DAS SEMENTES ANALISADAS PELAS TÉCNICAS DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA, LIXIVIAÇÃO DE POTÁSSIO E pH DO EXSUDATO.....	38
5.4 VERIFICAÇÃO DOS EXSUDATOS LIXIVIADOS POR SEMENTES ENVELHECIDAS ARTIFICIALMENTE	38

5.4.1 PROCEDIMENTO DE ENVELHECIMENTO	38
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
6.1 TESTE DE GERMINAÇÃO	42
6.2 TESTE DE TETRAZÓLIO.....	45
6.3 TESTE DE CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	48
6.4 COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PARA VERIFICAÇÃO DO POTÁSSIO NAS SEMENTES DE <i>Dalbergia miscolobium</i> BENTH.....	53
6.5 TESTE DE LIXIVIAÇÃO DE POTÁSSIO	55
6.6 TESTE DO pH DO EXSUDATO PELOS MÉTODOS QUANTITATIVO E COLORIMÉTRICO.....	60
6.7 VERIFICAÇÃO DOS EXSUDATOS LIXIVIADOS POR SEMENTES ENVELHECIDAS ARTIFICIALMENTE	66
7. CONCLUSÕES	75
8.PERSPECTIVAS PARA PESQUISA DESENVOLVIDA	76
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79

INDICE DE TABELAS

Tabela 1: Coordenadas geográficas das áreas de coleta das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.....	31
Tabela 2: Resultados obtidos para os diferentes tratamentos aplicados para o teste de germinação.....	42
Tabela 3: Análise de variância aplicada aos dados obtidos nos quatro tratamentos de exposição das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth ao teste de germinação.....	42
Tabela 4: Teste de Tukey para os quatro tratamentos do teste de germinação das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	43
Tabela 5: Resultados obtidos para os diferentes tratamentos de preparo para exposição das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth ao teste de tetrazólio.....	46
Tabela 6: Análise de variância aplicada aos dados obtidos nos três tratamentos de preparação das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	47
Tabela 7: Teste de Tukey para os três tratamentos de preparação das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	47
Tabela 8: Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S/g/cm}$) e germinação em função do tempo de embebição.	49
Tabela 9: Análise de variância para os dados de condutividade elétrica em função do tempo.	50
Tabela 10: Composição química das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth pela Técnica de Fluorescência de Raios X(XRF).	53
Tabela 11: Valores médios de potássio lixiviado e germinação em função do tempo de embebição.	56

Tabela 12:Análise de variância para os dados de lixiviação de potássio em função do tempo pela Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA).	57
Tabela 13:Valores de pH e respectiva germinação em função dos tempos de embebição.....	60
Tabela 14: Análise de variância para os dados de pH do exsudato para os diferentes tratamentos.....	61
Tabela 15: Valores de pH seguidos da cor resultante da aplicação das soluções de fenolftaleína e carbonato de sódio em função dos tempos de embebição das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	62
Tabela 16: Faixas de cores da solução indicadora de fenolfataleina em diferentes faixas de pH.	62
Tabela 17: Valores de médios de condutividade elétrica e germinação das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth. em função do tempo de envelhecimento artificial.	66
Tabela 18: Valores de potássio lixiviado e germinação em função do tempo de envelhecimento artificial.	68
Tabela 19: Valores de pH e germinação em função do tempo de envelhecimento artificial.	69
Tabela 20: Dados da análise estatística aplicada aos valores encontrados de condutividade elétrica, potássio lixiviado, pH do exsudato e germinação em função do tempo de envelhecimento artificial para sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	71
Tabela 21: Modelo matemático e respectiva equação gerada para explicar o efeito do tempo de envelhecimento sobre cada variável analisada	71
Tabela 22: Comparação das Técnicas segundo os melhores procedimentos, os resultados e nível de dificuldade de execução.....	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Aspectos dos frutos e sementes de <i>Dalbergia Miscolobium</i> Benth.	29
Figura 2: Recipientes de plástico lacrados com amostras de cinzas de sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	34
Figura 3: Espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva da Marca Shimadzu, modelo EDX-720, aberto para receber as amostras.	35
Figura 4: Espectrofotômetro de Absorção Atômica utilizado para as análises de potássio nos exsudatos das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	36
Figura 5: Diagrama resumo das metodologias empregadas para as análises das sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.....	41
Figura 6: Aspecto das sementes germinadas de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth.	44
Figura 7: Sementes de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth classificadas pelo teste de tetrazólio.....	45
Figura 8: Procedimento metodológico sugerido para o teste de condutividade elétrica pelo método massal.....	52
Figura 9: Procedimento metodológico sugerido para o teste de lixiviação de potássio	59
Figura 10: Procedimento metodológico sugerido para o teste do pH do exsudato.....	65

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de se determinar a qualidade das sementes surgiu, na Europa, como consequência de problemas constatados na sua comercialização. Em 1869, surge na Alemanha o primeiro laboratório de análise de sementes (BRASIL, 2009). No Brasil em 1967, com base nas regras da ISTA (Internacional Seed Testing Association) e da AOSA (ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS), o Ministério da Agricultura editou as primeiras Regras para Análise de Sementes brasileiras (RAS), que sofreu atualizações em 1992 e 2009. Porém essas regras foram elaboradas visando avaliar as sementes de espécies agrícolas que são comercializadas em grandes volumes e possuem um papel importante na economia do país. No que se diz respeito a sementes florestais, as regras de análise são consideradas limitadas já que não contemplam adaptações metodológicas que atendam a diversidade morfológica das sementes de espécies florestais.

Em razão das fortes pressões internacionais para conservação da biodiversidade brasileira associadas aos avanços das leis que visam proteger o meio ambiente no Brasil e suas ações de fiscalização, observa-se o desenvolvimento do mercado de mudas de espécies florestais que são demandadas para recuperação de áreas degradadas, recomposição de áreas de Reserva Legal nas propriedades rurais e a formação plantios consorciados de espécies agrícolas e florestais.

Atualmente, são facilmente encontradas, empresas que comercializam sementes florestais para atender o setor viveirista. É possível comprar sementes de diversas espécies florestais, onde o preço médio é de 150 reais por kilograma de sementes (IPEF, 2013). Trata-se de um mercado em expansão, e por isso a venda de sementes florestais vem recebendo maior atenção também do Ministério da Agricultura que editou as instruções normativas nº 44 de 23/10/2010 e nº 26 de 26/10/2012 que apresentam os procedimentos técnicos para certificação da qualidade de sementes de 50

espécies florestais. Os procedimentos técnicos descritos nestas instruções adotam o teste de germinação e indica métodos de superação de dormência, tipo de substrato e temperaturas mais adequadas para aplicação do teste em cada espécie.

O parâmetro mais utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes é o teste de germinação, por se tratar de um teste confiável e reproduzível, mas como este é realizado em condições favoráveis, apresenta várias limitações; além de não possibilitar a identificação precisa dos fatores que afetam a qualidade, não detecta algumas sutilezas na deterioração das sementes, não prediz o resultado do desempenho das sementes em condições gerais de campo e o potencial de armazenamento (DELOUCHE, 2002).

Apesar do teste de germinação ser o procedimento técnico mais aplicado, outras técnicas podem ter suas metodologias ajustadas e servir como ferramentas rápidas e eficientes para certificar a qualidade de lotes de sementes comercializadas. Além de representar a possibilidade de otimizar tempo e recursos dos laboratórios certificadores.

Os testes para avaliação rápida da viabilidade de sementes, geralmente, se baseiam na coloração dos tecidos vivos das sementes ou na permeabilidade das membranas celulares (MENEZES et al., 1994).

Os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da sequência de deterioração proposta por Delouche e Baskin (1973), a degradação das membranas celulares e a redução das atividades respiratórias e biossintéticas estudadas por Dias e Marcos Filho (1996). Dentre estes testes estão o teste de tetrazólio (DELOUCHE et al., 1976), o Teste do pH do exsudato (PIÑA-RODRIGUES et al 2004;) , condutividade elétrica (MARCOS FILHO, 1994) e lixiviação de potássio (SIMON e RAJA-HARUN, 1972). Para todas essas Técnicas mencionadas as metodologias foram desenvolvidas para sementes agrícolas, e para serem aplicadas em sementes florestais necessitam ter adaptações metodológicas validadas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar se os testes de condutividade elétrica, lixiviação de potássio e pH do exsudato da semente, produzem resultados eficientes e comparáveis aos testes de germinação e tetrazólio para verificar a viabilidade das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar os procedimentos de preparo mais adequado para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth para expô-las ao teste de tetrazólio;
- Verificar as variações que ocorrem durante diferentes tempos de embebição para detecção de íons lixiviados pelas sementes nos testes de lixiviação de potássio, condutividade elétrica e pH do exsudato;
- Comparar as Técnicas de Técnica Fluorescência de Raios X (XRF) e Espectrometria de Absorção Atômica (EAA) para verificar a concentração de potássio nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth;
- Aplicar a Técnica de envelhecimento acelerado para verificar seu efeito na exsudação de íons pelas sementes de *Dalbergia miscoloboium* Benth por meio dos testes de condutividade elétrica, lixiviação de potássio e pH do exsudato;
- Analisar o Teste do pH do exsudato pelos métodos quantitativo e colorimétrico aplicados nos exsudatos das sementes de *Dalbergia miscoloboium* Benth; e
- Propor adequações para as metodologias de realização dos testes de tetrazólio, condutividade elétrica, pH do exsudato e Lixiviação de potássio para as sementes de *Dalbergia miscoloboium* Benth.

3. HIPOTESE

Os resultados dos testes de lixiviação de potássio, condutividade elétrica e pH do exsudato expressam resultados tão confiáveis como os reproduzidos pelos testes de germinação e tetrazólio para verificar a viabilidade de sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 TÉCNICAS APLICADAS PARA VERIFICAR A VIABILIDADE DE SEMENTES

4.1.1 Teste de germinação

A germinação é um fenômeno biológico que pode ser considerado botanicamente como a retomada do crescimento do embrião, com o consequente rompimento do tegumento pela radícula (LABOURIAU, 1983). Este evento fisiológico depende da qualidade da semente e das condições de germinação tais como o fornecimento de oxigênio, suprimento de água e adequação de temperatura e substrato (SALOMÃO e SOUSA-SILVA 2003).

O teste padrão de germinação é o procedimento oficial para avaliar a capacidade das sementes em produzir plântulas normais em condições favoráveis de campo, mas nem sempre revela diferenças de qualidade e de desempenho entre lotes de sementes, que podem se manifestar no armazenamento ou mesmo no campo (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000).

Ao longo do teste de germinação são fornecidas condições ótimas e controladas às sementes para favorecer a retomada da atividade metabólica que dará origem às mudas. O objetivo principal dos testes de germinação é obter informações sobre a qualidade das sementes, que são usadas na indicação de lotes para armazenamento e semeadura (PIÑA-RODRIGUES, 2004).

As condições ótimas de germinação das sementes são padronizadas para cada espécie com a finalidade de repetição do teste em diferentes locais, sendo testados vários fatores para que a germinação seja a mais rápida, regular e completa da maioria das sementes de um determinado lote. As informações obtidas permitem ajustes de semeadura e/ou comparação de diferentes lotes de sementes (BRASIL, 2009).

Os estudos de germinação de sementes são geralmente realizados objetivando a ampliação dos conhecimentos fisiológicos, verificação das respostas de germinação a fatores ambientais, causas de dormência e métodos de superação, obtenção de conhecimentos morfológicos, acompanhamento do desenvolvimento do embrião e da plântula, verificação do estágio de maturação das sementes e do efeito do processamento e armazenamento sobre a qualidade de sementes (BASKIN e BASKIN, 1998).

Porém o teste de germinação apresenta algumas limitações tais como a demora de obtenção de resultados do teste de germinação, que podem variar de 7 a 360 dias dependendo da espécie, a apresentação de resultados mascarados pelos processos de dormência, ataque de micro-organismos e quiescência (MATOS, 2009). Em razão dessas características é comum adoção de outras técnicas como por exemplo o teste de tetrazólio.

4.1.2 Teste de Tetrazólio

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases (FRANÇA NETO et al., 1998) as quais catalizam as reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs.

Quando o cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio é reduzido, formando o trifetilformazan, isto indica que há atividade respiratória nas mitocôndrias, significando que há viabilidade celular e do tecido. Portanto, a coloração resultante da reação é uma indicação positiva da viabilidade através da detecção da respiração a nível celular. Tecidos não viáveis não reagem e conseqüentemente não são coloridos (FRANÇA NETO et al., 1998).

Segundo estes autores no tecido vigoroso, haverá a formação de um vermelho carmin claro; se o tecido está em deterioração, um vermelho mais intenso será formado, em virtude da maior intensidade de difusão da solução de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio pelas membranas celulares comprometidas de tais tecidos; se o mesmo é não viável, a redução do sal não ocorrerá, e o tecido morto contrastará como branco (não colorido) com o tecido colorido viável.

França Neto et al. (1998) listaram as vantagens e as desvantagens do teste de tetrazólio. Dentre as vantagens citadas pelos autores estão:

- O teste não é afetado por diversas condições que podem afetar o teste padrão de germinação;
- Foca atenção às condições físicas e fisiológicas do embrião de cada semente individualizada;
- Permite rápida avaliação da viabilidade e do vigor;
- Permite a identificação de diferentes níveis de viabilidade; e
- Fornece o diagnóstico da causa da queda da viabilidade das sementes.

Sobre as desvantagens França Neto et al. (1998) descrevem o teste de tetrazólio como uma técnica que:

- Requer treinamento especial sobre a estrutura embrionária da semente e sobre técnicas de interpretação;
- É relativamente tedioso, uma vez que as sementes são avaliadas uma a uma, requerendo, desta forma, experiência e paciência;
- Embora seja um teste relativamente rápido, ele consome um maior número de homem-hora que o teste de germinação padrão;
- Não mostra a eficácia de tratamentos químicos, nem as injúrias que estes possam causar; e
- Requer do analista capacidade de decisão pelas características do teste.

Outras desvantagens do teste são descritas por Matos (2009), tais como: o fato de ser um teste destrutivo, o alto custo do reagente e a necessidade de uma analista bem treinado e experiente para realizar a leitura dos resultados. Além destas desvantagens, ressalta-se que nas especificações técnicas do reagente é feito um alerta de que o reagente pode causar câncer.

Segundo Souza (1994) um dos requisitos para obtenção de resultados confiáveis deste teste é a formulação de soluções aquosas de cloreto de tetrazólio que não sejam ácidas; tal fato se deve a qualidade da água usada na formulação da solução. Em consequência da acidez da solução, a coloração dos embriões se apresentará de forma inadequada, causando interpretações errôneas do estado de viabilidade das sementes.

4.1.3 Processo de deterioração das sementes

A deterioração pode ser definida como toda e qualquer transformação degenerativa da semente, podendo ser de origem bioquímica, física, fisiológica ou genética. A última etapa desse processo é a perda do poder germinativo (POPINIGIS, 1977).

O processo de deterioração tem como alteração bioquímica inicial a desestruturação do sistema de membranas ao nível celular (KOOSTRA e HARRINGTON, 1973). A desestruturação de membrana leva a um desequilíbrio na sua capacidade de regular o fluxo de solutos, em ambos os sentidos, tanto na célula como na organela (RIBEIRO, 2000).

A perda da integridade ou descontinuidade das membranas, com a conseqüente lixiviação de íons e metabólitos voláteis, em quantidades diferentes, ocorre em função do grau de deterioração das sementes (CHEN e BURRIS, 1991). Sementes com baixa viabilidade e vigor apresentam maior lixiviação de solutos que sementes vigorosas e com alta germinação (HAMPTON, 1995).

A deterioração das sementes é um processo degenerativo contínuo, que tem início após a maturidade fisiológica e se prolonga até que haja a perda da viabilidade e morte da semente (MARCOS FILHO, 2005). Estudos de Abdul-Baki e Anderson (1972) sobre o tema revelam que deterioração das sementes pode ser entendida como toda e qualquer transformação degenerativa irreversível na sua qualidade, após terem atingido nível máximo da qualidade fisiológica. De acordo com as condições ambientais envolvidas e do manejo adotado, a deterioração pode ser potencializado (MARCOS FILHO, 2005).

As principais alterações envolvidas na deterioração de semente são o esgotamento das reservas, a alteração da composição química, a oxidação de lipídios, a quebra parcial das proteínas, a alteração das membranas celulares, a redução da integridade e aumento da permeabilidade e desorganização celular, alterações enzimáticas e de nucleotídeos (VILLELA e PERES, 2004).

Para Ferreira e Borghetti (2004), a deterioração das sementes é progressiva e tem como principais causas fatores genéticos, bióticos (como ataque de patógenos) e abióticos (danos mecânicos).

A deterioração das sementes inclui alterações de caráter físico, fisiológico e bioquímico. A primeira modificação degenerativa ocorre nas membranas celulares, com conseqüente perda da permeabilidade seletiva (POPINIGIS, 1977), seguida por uma cadeia de várias outras transformações degenerativas. Carvalho e Nakagawa (2000) afirmam que a umidade relativa influencia diretamente a respiração das sementes, sendo, portanto, o fator mais relevante para o armazenamento.

Estudos de Vieira et al. (2001) mostram que a velocidade de deterioração das sementes pode ser controlada por meio do correto armazenamento e do controle das condições de umidade relativa do ar e a temperatura do ambiente.

Os testes de vigor baseados na integridade dos sistemas de membranas da semente vêm merecendo especial atenção, por identificar o processo de deterioração na sua fase inicial e permitir que medidas corretivas sejam tomadas para reduzir ou minimizar o seu efeito na qualidade fisiológica da semente (MATOS, 2009).

4.1.4 Teste de Condutividade Elétrica

A necessidade de métodos que agilizem a tomada de decisão e, ao mesmo tempo, sejam confiáveis e de fácil execução, tem exigido dos setores produtivos e de pesquisa em sementes alternativas seguras para a avaliação do seu potencial de desempenho, particularmente no que diz respeito ao vigor e quando sob condições de campo (COLETE et al, 2007).

O teste de condutividade elétrica na solução de embebição das sementes tem sido recomendado para quantificar substâncias lixiviadas para o meio de embebição, uma vez que sementes com baixo vigor apresentam desorganização na estrutura das membranas celulares, acarretando aumento na lixiviação de solutos, tais como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e substâncias fenólicas, e íons inorgânicos: K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} e Na^+ (AOSA, 2002).

Trabalhos realizados com sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), por Vanzolini e Nakagawa (1999) e soja (*Glycine max* (L.) Merr.) por Vieira et al., (2002) apontaram que a determinação da condutividade elétrica da solução de embebição tem sido proposta como um teste bastante sensível para avaliar o vigor, uma vez que no processo de deterioração um dos eventos iniciais é a perda da integridade das membranas (BARBOSA et al., 2012). Já Colete et al. (2007), ao estudar o teste de condutividade elétrica da solução de embebição de sementes soja, concluíram que o teste foi capaz de estimar a emergência de plântulas de soja em campo.

No que se referem a sementes florestais, alguns estudos vem sendo direcionados em função do tempo de embebição. Rodrigues (2010) estudou o teste de condutividade elétrica aplicando diferentes os tempos de embebição de 30, 60 e 90 minutos nas sementes de *Acacia Farnesiana* (L.) Willd; *Enterolobium gummiferum* (Mart.) Macb. e *Kielmeyera coriacea* Mart. & Zucc, que foram armazenadas por quatro anos. O autor verificou que com a variação morfológica das sementes das diferentes espécies estudadas há uma variação no tempo de embebição para detecção dos lixiviados.

Martins (2011) também estudou os tempo de embebição de 30, 60, 90 e 120 minutos para analisar sementes de *Caesalpinia ferrea* Martius, *Pterogyne nitens* Tul. e *Copaifera langsdorffii* Desf. pelo teste de condutividade elétrica, empregando o método individual. Os resultados demonstraram que o tempo de embebição é diferenciado em função da dureza dos tegumentos. Essa mesma autora comparou os resultados do teste de condutividade elétrica com os resultados do teste de tetrazólio e verificou que o teste de condutividade elétrica foi tão eficiente quanto o teste de tetrazólio para analisar a viabilidade das espécies estudadas.

Ramos et al. (2012) estudaram os tempos de embebição de 30, 90, 120, 180 e 240 minutos para aplicação do teste de condutividade elétrica em sementes recém-coletadas *Kielmeyera coriacea* Mart., realizando a leitura das sementes individualmente. Estes autores concluíram que para os intervalos de tempo aplicados não houve diferença significativa; ao comparar os resultados de condutividade elétrica com os resultados dos testes de germinação e tetrazólio, os autores concluíram que técnica utilizada foi eficiente para verificar a viabilidade das sementes de *Kielmeyera coriacea* Mart.

4.1.5 Teste de Lixiviação de Potássio

O teste de lixiviação de potássio vem se destacando para avaliação do potencial fisiológico de sementes, produzindo resultados satisfatórios em diversas espécies (MARCOS FILHO, 2005).

O teste de lixiviação de potássio tem princípio semelhante ao de condutividade elétrica, pois se baseia na integridade das membranas celulares das sementes, com a diferença de que no de condutividade elétrica, determina-se a quantidade total de íons liberados durante a embebição e, no de lixiviação de potássio, quantifica-se somente o potássio lixiviado na solução, visto que este é o principal íon inorgânico lixiviado pelas sementes durante a embebição (KIKUTI et al., 2008).

A quantidade de potássio liberada por sementes embebidas tem sido utilizada como indicador da integridade do sistema de membranas celulares (WOODSTOCK et al., 1985). A literatura descreve análises de outros íons como cálcio e magnésio lixiviados pelo mesmo processo, entretanto os autores destacam o potássio como o indicador mais eficiente para a determinação de vigor e viabilidade de sementes.

Woodstock et al. (1985) relataram que a liberação de potássio e cálcio proporcionou melhor indicação do potencial fisiológico de sementes de algodão quando comparados com avaliação da quantidade total de íons liberados pelas sementes, analisados pelo teste da condutividade elétrica.

O curto período de avaliação é outro aspecto positivo do teste de lixiviação de potássio uma vez que após 30 minutos de embebição para sementes de feijão (BARROS et al., 1999) foi possível determinar diferenças entre os lotes avaliados.

Ashraf et al. (2001) destacaram que alguns íons inorgânicos são lixiviados nas primeiras horas de embebição, especialmente o potássio. Espécies que possuem sementes pequenas, como aipo, alface e cenoura, apresentam cerca de 90% de lixiviação de potássio nos primeiros 15 minutos de imersão em água (SIMON e MATHAVAN, 1986), isto ocasiona a obtenção de resultados mais rápidos, sem perder a precisão, tornando o teste de lixiviação de potássio uma alternativa promissora para os programas de controle de qualidade de sementes (COSTA et al., 2007).

Marcos Filho et al. (1982) observaram que a lixiviação de potássio é inversamente proporcional ao poder germinativo e vigor de sementes de soja, ou seja a medida que lixiviação de potássio aumenta há uma diminuição da viabilidade das sementes analisadas por estes autores.

Favarato et al. (2011) analisaram sementes de trigo pelo teste de lixiviação de potássio onde 50 sementes de cada lote foram postas em embebição à temperatura de 25 °C por 120 min em 75 mL de água deionizada. A determinação do potássio lixiviado foi realizada empregando-se o método de fotometria de chama, cujos valores foram expressos em gramas de K+/ kg de semente. Estes autores concluíram que o teste de lixiviação de potássio é eficiente na avaliação da qualidade de sementes de trigo, podendo ser utilizado como teste rápido para avaliação do vigor.

Dias et al. (1998) aplicaram o teste de lixiviação de potássio em sementes de feijão de vagem e quiabo e concluíram que a técnica necessita estudos adicionais para adequar sua metodologia e viabilizar a sua utilização mais ampla.

4.1.6 Teste do pH do Exsudato da semente

O teste do pH do exsudato da semente é um método bioquímico que se baseia nas reações químicas que ocorrem no processo de deterioração e que podem determinar a redução da viabilidade das sementes (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004). O teste se baseia em que sementes em avançado grau de deterioração liberam mais íons H⁺, tornando o meio em que se encontram mais ácido.

Os açúcares, os ácidos orgânicos e os íons contribuem na acidificação do meio e provocam a diminuição do pH do exsudato de sementes; as mais deterioradas apresentam maior lixiviação e, conseqüentemente, exsudatos com maior poder tampão. Em contrapartida, as sementes menos deterioradas lixiviam menos, propiciando um menor poder tampão na água de embebição (PESKE e AMARAL, 1994).

Dentre as soluções usadas como indicadoras de pH está a solução de fenolftaleína. O teste de pH do exsudato com fenolftaleína foi utilizado para determinar a viabilidade de sementes de soja, por Amaral e Peske (1984), e de feijão por Fernandes et al. (1987).

O teste do pH do exsudato baseado na alteração do pH provocada pela exsudação de lixiviados tem mostrado correlações significativas com o teste padrão de germinação para sementes de diferentes espécies cultivadas, a exemplo da soja (SANTANA et al., 1998). A leitura dos resultados do teste é feita verificando-se a coloração da solução de embebição das sementes logo após o contato desta com as soluções indicadoras. Assim, exsudatos ácidos indicam sementes inviáveis. No entanto, a análise feita é qualitativa, pois a coloração realizada pelas soluções indicadoras aponta se o meio está ácido ou básico, não havendo uma quantificação do pH da solução analisada.

O Teste do pH do exsudato aplicado a sementes florestais apresentou-se como uma técnica não destrutiva. Matos (2009) aponta que sementes de angico germinam após serem submetidas à técnica. Além disso, a autora descreveu o Teste do pH do exsudato pelo método individual como uma técnica capaz de verificar a viabilidade de sementes que apresentam dormência do tipo tegumentar e embrionária. Outra vantagem do teste é a

rapidez de obtenção dos resultados, que são apresentados imediatamente, após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição da semente.

Matos (2009) não encontrou evidências de que o tegumento das sementes comprometesse o processo de embebição, pois não houve diferença estatística nos resultados encontrados para as diferentes formas de exposição das sementes analisadas pelo teste.

Sousa (2009) aplicou o Teste do pH do exsudato para avaliar sementes de *Dimorphandra mollis* Benth., *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., e *Virola sebifera* Aubl. armazenadas em sacos de papel pardo em condições de temperatura ambiental ao longo de um ano, e obteve resultados semelhantes aos de Matos (2009).

Araújo (2009) ao aplicar a técnica com diferentes tempos de embebição em sementes de *Acacia polyphylla* DC, verificou que o tempo de trinta minutos é suficiente para verificar a lixiviação de solutos, indo de encontro com os dados da metodologia proposta por Cabrera e Peske (2002).

Martins (2009) avaliou a concentração da solução indicadora de carbonato de sódio utilizada no Teste do pH do exsudato. O autor aplicou diferentes concentrações para avaliar sementes armazenadas e concluiu que a solução com concentração de 8,5g/L é a mais adequada por não haver diferença na leitura dos resultados, quando se utiliza concentrações maiores.

Um dos pontos importantes na determinação do exsudato de sementes é o tempo de embebição, e alguns trabalhos têm se concentrado neste sentido, como o de Simon e Raja-Harun (1972) apud Fernandes et al. (1987), os quais relataram que a maioria do exsudato de semente de ervilha (*Pisum sativum*. L) lixiviou durante as primeiras duas horas de embebição. Eles sugeriram que, em sementes secas, as membranas estão em uma condição que permite a passagem livre de solventes e solutos e não funcionam como barreira, quando são embebidas em água.

Sobre este mesmo tema, Matthews e Rogerson (1976) mostraram que a maior lixiviação de solutos ocorreu durante as primeiras horas de embebição da semente, mas sugeriram que as diferenças ocorridas entre lotes de sementes foram devido à retenção de solutos dentro do citoplasma do que as diferenças na taxa de restabelecimento da membrana.

4.1.7 Envelhecimento Acelerado

O teste de Envelhecimento acelerado foi desenvolvido por Delouche (1965) com o intuito de complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação.

O teste de envelhecimento acelerado foi desenvolvido por Delouche (1965) e baseia-se no princípio de que sementes submetidas a temperatura e umidade relativa elevadas têm a deterioração aumentada, resultando na queda de sua qualidade

Segundo Piña-Rodrigues (1984) a Técnica de envelhecimento acelerado é uma metodologia auxiliar cujo emprego se mostra bastante promissor em sementes florestais, não só na área de tecnologia e análise de sementes como também em outras. Para Chaisurisri et al. (1993), a técnica de envelhecimento artificial pode ser também utilizada como meio para avaliar a eficácia da conservação ex situ de sementes de espécies florestais.

Apesar das vantagens e simplicidade do teste de envelhecimento artificial, seu uso tem se restringido a sementes grandes. Para sementes relativamente pequenas, como as olerícolas, este teste parece não fornecer resultados consistentes com desempenho no campo. Sementes destas espécies, devido a seu pequeno tamanho, absorveriam água rapidamente durante períodos de envelhecimento artificial, deteriorando-se muito intensa e rapidamente, o que dificultaria a obtenção de resultados confiáveis (BREGAGNOLI et al., 2013).

Jianhua e McDonald (1996) propuseram uma adequação para a realização do teste de envelhecimento artificial em sementes de pequenas dimensões. Nesse método, ao invés de água pura no fundo do “gerbox”, os pesquisadores propõem que se coloque uma lâmina de uma solução aquosa de algum tipo de sal. As moléculas do sal, unindo-se por adsorção às de água, tornar-lhes-ia mais difícil à movimentação, o que significaria uma menor taxa de evaporação no interior dessas caixinhas plásticas, onde o envelhecimento é realizado; diminuindo-se a umidade relativa do ar e o valor de equilíbrio

higroscópico das sementes, em consequência sua taxa de deterioração (BREGAGNOLI et al., 2013).

Atualmente, o teste é utilizado para avaliar o vigor de sementes de diversas espécies sendo aplicado em programas de qualidade conduzidos por empresas produtoras de sementes, pois em poucos dias, pode-se obter informações relativamente seguras sobre o potencial de armazenamento dos lotes processados (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

4.1.8 ESPÉCIE ESTUDADA

A *Dalbergia miscolobium* é membro da botânica família Fabaceae, sendo popularmente conhecida como Jacarandá do Cerrado. Esta espécie tem ocorrência registrada no cerrado sentido restrito e cerradão distrófico. Podendo ser encontrada no DF e nos estados do CE, GO, MA, MG, MT, MS, PA, SP e TO (LORENZI, 2002).

Trata-se de uma árvore decídua, com frutificação entre os meses de maio e julho. Suas sementes são dispersas pelo vento (Figura 1) e apresentam uma taxa de germinação que varia de 84 a 98%, levando de 7 a 14 dias para germinar (LORENZI, 2002).



Figura 1: Aspectos dos frutos e sementes de *Dalbergia Miscolobium* Benth.

Fonte: Lorenzi (2002)

A morfologia das sementes de *Dalbergia Miscolobium* Benth. é descrita por Montoro (2008) como reniforme e achatada, de coloração variando de marrom a castanho acinzentado. Possui textura rugosa e tegumento fino. Apresenta dimensões que variam de 1,1 a 1,4 cm de comprimento, 0,5 a 0,7 cm de largura e 0,1 de espessura. Segundo o autor a taxa de germinação é 85% em 40 dias utilizando-se escarificação mecânica com lixa de parede de gramatura 40.

Sasaki e Felipe (2010) analisaram o desempenho do crescimento das plântulas de *Dalbergia Miscolobium* sob o efeito dois tratamentos: tipo de solo (solo de mata e de cerrado) e quantidade água. Os autores concluíram que a espécie obteve melhor desempenho de crescimento nos solos de Cerrado e com pouca disponibilidade de água. Esse dado caracteriza a espécie como uma opção a ser empregada em programas de recuperação de áreas degradadas.

Essa espécie apresenta potencial para o paisagismo e para a recuperação de áreas degradadas. Trata-se de uma espécie ameaçada de extinção e por essa razão é protegida por lei que impede o corte nas áreas do Distrito Federal (Lei Distrital -Decreto nº 14.783/1993).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Coleta e Preparação das Sementes

As sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth foram coletadas conforme a indicação de Figliolia e Aguiar (1993). As sementes foram coletas em oito matrizes na área do Centro Olímpico do Campus Universitário Darcy Ribeiro – UnB, Setor de Clubes Norte e nas imediações da Fazenda Água limpa – Brasília, DF, Brasil.

As áreas das matrizes de coleta foram identificadas com auxílio de aparelho GPS da marca GARMIN modelo Vista (Tabela 1).

Tabela 1: Coordenadas geográficas das áreas de coleta das árvores matrizes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

ÁREAS	COORDENADAS
1	S15°57'58,9" W47°55'17,7"
2	S15°58'00,4" W47°55'21,0"
3	S15°54'27,1" W47°56'44,8"
4	S15°57'56,3" W47°55'00,2"
5	S15°57'57,4" W47°55'04,6"
6	S15°57'58,2" W47°55'10,3"
7	S15°58'00,0" W47°55'20,0"
8	S15°58'00,4" W47°55'21,0"

A seleção das árvores matrizes foi feita com base na fitossanidade dos indivíduos, onde indivíduos que apresentassem folhas com algum tipo de macha característica da presença de fungos eram descartados. Foram coletados cerca de 8.000 frutos que tiveram sua maturidade estimada pela coloração marrom das vagens e pela visualização de umidade nas vagens.

As sementes foram extraídas dos frutos manualmente e misturadas para homogeneizar o lote para que os dados produzidos pudessem representar as respostas produzidas pela espécie estudada. Em seguida, foram desinfetadas com banho de imersão em solução de hipoclorito a 1% de concentração, e posteriores lavagens em água corrente por 5 minutos. Esse procedimento é uma adaptação para procedimento proposto por ISTA (1976) que recomenda a assepsia das sementes com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1% por 10 minutos uma vez que considerou que este tempo de exposição associada a morfologia delicada das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth poderia comprometer a integridade das amostras.

Após esse processo, as sementes foram secas em papel toalha e colocadas em bandejas abertas por 24 horas, em laboratório, para só então serem realizados os procedimentos experimentais. As análises foram realizadas nas instalações do Laboratório de Sementes e Viveiros do Departamento de Engenharia Florestal da UnB.

5.2 Aplicação dos métodos de análise

5.2.1 Teste de germinação

As sementes foram separadas em quatro subamostras para a análise do efeito de fotoblastismo e a presença de dormência. Foram aplicados os seguintes tratamentos: 1) sementes sem corte no tegumento e expostas a luz; 2) sementes com corte na parte lateral do tegumento e expostas a luz; 3) sementes sem corte e sem luz; e 4) sementes com corte na parte lateral do tegumento e sem luz. Os cortes foram feitos com auxílio de estilete na lateral das sementes.

Os tratamentos foram distribuídos em rolos de papel filtro que foram colocados em sacos plásticos. As amostras que testavam o efeito da ausência de luz foram recobertas com papel alumínio e os que testavam o efeito da luz foram colocados apenas em saco plástico transparente. O material foi acondicionado em câmara de germinação de temperatura constante calibrada para 25°C com fotoperíodo ajustado para 12 horas e Luz branca.

Foram realizadas 10 repetições de 10 sementes por tratamento. O critério adotado para verificação da germinação foi o critério botânico, onde se considera germinada a semente que tenha emitido radícula com pelo menos 2,0 mm de comprimento (CASTELLANI et al., 2009).

Foi avaliado o percentual de sementes germinadas e os resultados obtidos foram submetidos a análise variância a 5% de significância, seguido do teste de médias de Tukey; sendo o SAEG (2007), na versão 9.1, o programa estatístico utilizado para as análises.

5.2.2 Teste de Tetrazólio

Em três subamostras foram aplicados os seguintes tratamentos: i) hidratação entre folhas de papel filtro a 25°C por 24 horas; ii) hidratação entre folhas de papel filtro a 25°C por 24 horas seguido de corte na porção lateral do tegumento; e iii) hidratação entre folhas de papel filtro a 25°C por 24 horas, seguida de remoção completa do tegumento. Após o procedimento de

preparação, as sementes foram separadas em recipientes por repetição e recobertas por solução de tetrazólio a 1% de concentração por um período de 24 horas, em câmara de temperatura constante calibrada para 25°C.

Após este período de exposição, as sementes foram lavadas e separadas em duas classes: 1) Viáveis - sementes cujo o eixo embrionário e o tecido de reserva foram coloridos uniformemente; e 2) Inviáveis - sementes que não coloriram por completo e as sementes cujo o eixo embrionário não coloriu. Para cada tratamento adotou-se 10 repetições onde cada repetição foi composta por 10 sementes para cada um dos tratamentos realizados. Os dados encontrados foram submetidos à análise de variância e ao teste de médias de Tukey, a 5%. As análises foram feita no programa estatístico SAEG versão 9.1 (UFV, 2007).

5.2.3 Teste de condutividade elétrica

As sementes foram agrupadas em conjuntos de 20 unidades, pesadas e colocadas para embeber em copos plásticos contendo 100 mL de água Mili-Q. Esse número foi selecionado baseado no trabalho de Vanzolini e Nakagawa (2003). As amostras foram postas para embeber por períodos de 30, 60, 90, 120 e 240 minutos em câmara de temperatura constante calibrada para 25°C. Cada tratamento (tempo) foi composto por 10 repetições de 20 sementes.

Após cada um dos períodos foi realizada a leitura da condutividade elétrica com o auxílio de um condutivímetro de bancada microprocessado da marca QUIMIS®, modelo Q405M. Os resultados de condutividade, expressos em $\mu\text{S/g/cm}$, foram corrigidos pela divisão da condutividade pelo peso das amostras.

5.2.4 Teste de lixiviação de potássio

5.2.4.1 Estudo dos métodos para detecção do potássio nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Uma amostra de 200g de sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. foi triturada e posta para secar em estufa de circulação de ar forçada calibrada para 50°C por um período de 24 horas. Após este processo, 10 subamostras de 0,5 g foram colocadas em cadinho de porcelana e levadas para um forno tipo mufla, calibrado para 500°C, durante 3 horas. As cinzas produzidas foram postas para esfriar em dessecador. De cada subamostra foi extraída uma porção média de 0,2g que foram colocadas em recipientes plásticos lacrados (Figura 2).



Figura 2: Recipientes de plástico lacrados (porta amostras) com amostras de cinzas de sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Estes recipientes foram colocados no Espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva da Marca Shimadzu, modelo EDX-720 para a verificação dos elementos químicos contidos nas cinzas das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth pelo método de Fluorescência de Raios X (XRF) que determina quantitativamente os elementos presentes em uma determinada amostra (Figura 3).



Figura 3: Espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva da Marca Shimadzu, modelo EDX-720, aberto para receber as amostras.

Durante a análise de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva, o equipamento aplica Raios X na superfície da amostra, e determina pela frequência de onda dos elementos a composição química da amostra analisada. Os elementos individuais presentes na amostra emitem seus raios-X característicos (fluorescentes) que determina quais elementos estão presentes no material. As principais vantagens desta técnica são a rapidez e a não destrutibilidade da amostra, permitindo que materiais em pequenas quantidades possam ser analisados por outras técnicas. O objetivo fundamental desta análise foi avaliar o percentual de potássio na composição das sementes de *Dalbergia miscolobium* e comparar com os resultados obtidos pela análise de Espectrometria de Absorção Atômica (EAA).

5.2.4.2 Coleta de exsudatos e determinação dos teores de potássio pela Técnica Espectrometria de Absorção Atômica (EAA)

As sementes foram agrupadas em conjuntos de 20 unidades, pesadas e colocadas para embeber em copos plásticos contendo 100 mL de água Mili-Q. Esse número de sementes foi escolhido em função dos resultados do trabalho

de Vanzolini e Nakagawa (2003). Foram realizados cinco tratamentos, correspondentes aos períodos de embebição: 30, 60, 90, 120 e 240 minutos, em câmara de temperatura constante calibrada para 25°C. Cada tratamento foi composto por 10 repetições de 20 sementes.

Após cada um dos períodos foram retirada alíquotas de 15ml, com auxílio de pipeta volumétrica. Essas alíquotas foram armazenadas em tubos de ensaio com tampa, que foram levadas para o Laboratório de Química Analítica (LAQUAA) do Instituto de Química da UnB onde foram acidificadas com ácido nítrico concentrado e armazenadas em geladeira até o momento da leitura, no espectrofotômetro de absorção atômica, dos teores de potássio por amostra.

As concentrações de potássio no exsudatos foram determinadas por Espectrometria de Absorção Atômica (EAA), empregando-se equipamento da marca Varian AA240FS, e utilizando-se chama de ar/acetileno (Figura 4). Utilizou-se uma calibração externa por meio de uma curva de calibração. Os resultados foram expressos em mg/ L/ g de sementes.



Figura 4: Espectrofotômetro de Absorção Atômica utilizado para as análises de potássio nos exsudatos das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

5.2.5 Teste do pH do exsudato da semente pelo métodos quantitativo e colorimétrico

Foi adotado o método massal do Teste do pH do exsudato, onde um grupo de 20 sementes foi colocada em um recipiente contendo 100 ml de água destilada e encaminhada para câmara de germinação com ausência de luz, calibrada para 25°C por períodos de 30, 60, 90, 120 e 240 minutos. Após esse período foi avaliada a presença de H⁺ lixiviado com o auxílio de pHmetro de bancada um da marca Tekna modelo T 10000.

Em seguida aplicou-se nos mesmos exsudatos do método qualitativo. Para tal utilizou-se o método proposto Cabrera e Peske (2002) onde são aplicadas duas soluções indicadoras para verificar o pH: (1) A solução indicadora de fenolftaleína que é composta de 1 g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool absoluto e a adição de 100 mL de água destilada e fervida; (2) a solução indicadora de carbonato de sódio que é composta de 8,5 g/L de água destilada e fervida.

Ao final do processo de embebição foram adicionadas 10 gotas de cada solução para cada recipiente onde as sementes avaliadas estavam em embebição. Para esse tratamento o resultado é lido como: soluções de embebição incolores são indicadas como ácidas e, portanto, as sementes são consideradas inviáveis, ao passo que as soluções de embebição que apresentarem coloração rosa determinam um meio básico e, portanto, as sementes encontram-se viáveis. Foram realizadas 10 repetições de 10 sementes/repetição para cada tempo (tratamento).

5.3 Verificação da germinabilidade das sementes analisadas pelas Técnicas de condutividade elétrica, lixiviação de potássio e pH do exsudato

Para estabelecer uma comparação entre os resultados obtidos pelas técnicas de condutividade elétrica, lixiviação de potássio e pH do exsudato dos diferentes tratamentos foi montado um teste de germinação seguindo as normas de análise de sementes (BRASIL, 2009) com as sementes que deram origem aos exsudatos analisados.

Foi utilizado o método dos rolos de papel filtros acondicionados em sacola plástica tipo ZIPLOC, que foram acondicionadas em câmara de germinação calibrada para 25°C constantes e fotoperíodo de 12 horas. A duração do teste foi de 30 dias, com monitoramento diário de umidade.

Os dados foram submetidos a análise de variância e com decomposição em polinômios ortogonais para análise do efeito do tempo. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SAEG na versão 9.1 (UFV, 2007).

5.4 Verificação dos exsudatos lixiviados por sementes envelhecidas artificialmente

5.4.1 Procedimento de envelhecimento

As sementes de *Dalbergia miscolobium* foram colocadas em caixas plásticas (11,0 × 11,0 × 3,5 cm) como compartimento individual (mini-câmaras), possuindo em seu interior uma bandeja de tela de alumínio, onde foram colocadas as sementes, formando uma camada simples sobre a superfície da tela. No interior de cada caixa foram adicionados 40 mL de água.

As caixas, tampadas, foram mantidas em câmara de germinação de temperatura constante calibrada para 41°C, por três períodos de envelhecimento: 48h, 72h e 96 h. Foram postas vinte e cinco sementes por caixa, totalizando 4 caixas para cada tempo de envelhecimento.

5.4.2 Coleta e análise dos exsudatos

Decorrido cada período de envelhecimento, as amostras de 100 sementes por tratamento foram separadas em 10 amostras. Cada amostra continha 10 sementes, que foram colocadas para embeber em copos descartáveis contendo 100mL de água de Mili-Q. As amostras foram postas em câmara de temperatura constante calibrada para 25°C onde as amostras permaneceram por 120 minutos.

Após esse processo foram extraídos 15 mL/ amostra, para cada tratamento, da solução de embebição contendo os exsudatos. Essa fração foi destinada para o teste de lixiviação de potássio. As concentrações de potássio no exsudatos foram determinadas por Espectrometria de Absorção Atômica (EAA), empregando-se equipamento da marca Varian AA240FS, e utilizando-se chama de ar/acetileno. Os resultados foram expressos em mg/ L/ g de sementes.

Os exsudatos restantes foram analisados pelo Teste do pH do exsudato e teste de condutividade elétrica.

Adotou-se o método quantitativo do Teste do pH do exsudato onde o pH foi medido com o auxílio de pHmetro de bancada um da marca Tekna modelo T 10000. A condutividade elétrica foi lida com o auxílio de um condutivímetro de bancada microprocessado da marca QUIMIS®, modelo Q405M. Os resultados de condutividade, expressos em $\mu\text{S/g/cm}$, foram corrigidos pela divisão da condutividade pelo peso das amostras.

5.4.3 Verificação da germinabilidade das sementes envelhecidas artificialmente

Após as análises do exsudatos, as sementes envelhecidas artificialmente foram postas para germinar, seguindo os mesmos critérios e métodos adotados para as sementes recém-colhidas. O teste de germinação foi conduzido em rolos de papel em câmara de germinação de temperatura constante calibrada para 25°C com fotoperíodo ajustado para 12 horas. O tempo de avaliação estipulado foi de 14 dias. Adotou-se o critério botânico para verificação da germinação.

5.5 Descrição esquemática dos procedimentos experimentais utilizados

Com o objetivo de facilitar a compreensão do conjunto de métodos aplicados no presente estudo elaborou-se um diagrama resumo das Técnicas empregadas para o presente trabalho (Figura 5). Para os Métodos Diretos aplicou-se o teste de germinação e o teste de tetrazólio em sementes recém colhidas.

Nos métodos indiretos foram analisadas sementes recém colhidas e envelhecidas artificialmente pelas Técnicas de Condutividade elétrica, Lixiviação de potássio e pH do exsudato seguida da verificação do teste de germinação após a coleta dos exsudatos (verificação da germinabilidade).

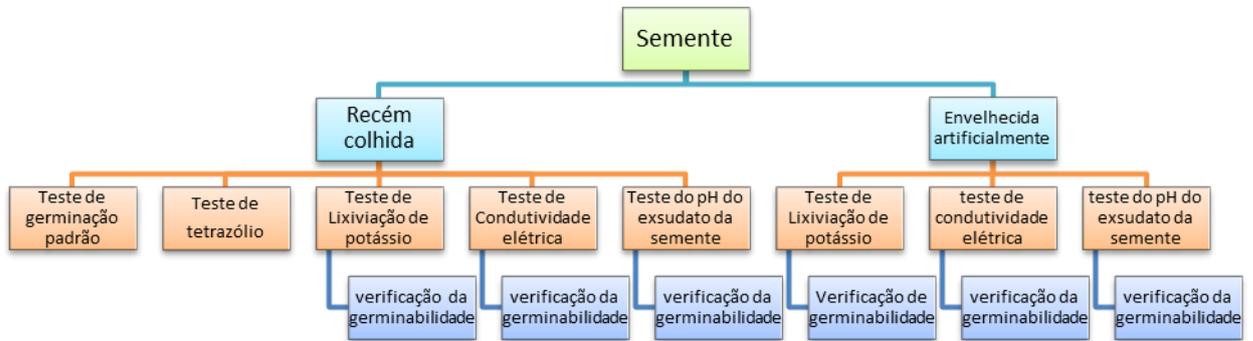


Figura 5: Diagrama resumo das metodologias empregadas para as análises pela Técnicas Direta e Indireta aplicadas nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Essa seqüência foi desenvolvida para que se relacionassem os valores dos marcadores de cada Técnica e a eventual queda do poder germinativo das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Teste de Germinação

Os resultados encontrados para os diferentes tratamentos do teste de germinação são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados obtidos para os diferentes tratamentos aplicados para o teste de germinação.

Tratamento	Germinação (%)
1. com corte e com luz	89%
2. com corte e sem luz	95%
3. sem corte e com luz	68%
4. sem corte e sem luz	97%

Os resultados encontrados para o teste de germinação foram submetidos à análise de variância e os resultados foram agrupados na Tabela 3.

Tabela 3: Análise de variância aplicada aos dados obtidos nos quatro tratamentos de exposição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth ao teste de germinação.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	F
Tratamento	3	52,87	12,41*
Resíduo	36	51,10	--
Média	8,72	--	--
Coefficiente de variação	13,66	--	--

* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

O coeficiente de variação encontrado de 13,66 é classificado por Garcia (1989) como um valor ótimo para análise de variáveis biológicas e por essa razão pode-se dizer que houve um bom controle experimental.

Através da Tabela 3 verifica-se que houve diferença significativa entre os tratamentos e por essa razão aplicou-se o teste de médias de Tukey, a 5%. Os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Médias dos tratamentos do teste de germinação das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. através do Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Tratamento	Médias	Comparações
4- sem corte e sem luz	97	A
2 –com corte e sem luz	95	A
1-com corte e com luz	89	A
3 – sem corte e com luz	68	B

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Verifica-se, com base na Tabela 4, que as sementes de *Dalbergia miscolobium* são fotoblásticas neutras, pois as sementes dos tratamentos na ausência de luz e na presença de luz com corte obtiveram valores de germinação bem próximos e são classificados como semelhantes pelo teste de Tukey. Segundo Carvalho e Nakagawa (2000), a luz é necessária para a germinação de algumas espécies pioneiras, mas não é considerada fator fundamental para as sementes não-dormentes.

O único tratamento classificado como diferente estatisticamente foi tratamento sem corte e com luz; esse resultado pode ser explicado pela presença de fungos em duas repetições, afetando a germinação para o referido tratamento. Os fungos observados apresentam coloração preta e se espalham na semente causando o apodrecimento. A remoção do tegumento mostrou que o conteúdo interno da semente encontrava-se liquefeito.

A análise estatística mostrou que não há uma dormência tegumentar das sementes. Porém, o tratamento de corte do tegumento serviu para uniformizar e acelerar a germinação, que se deu em 14 dias (Figura 6).

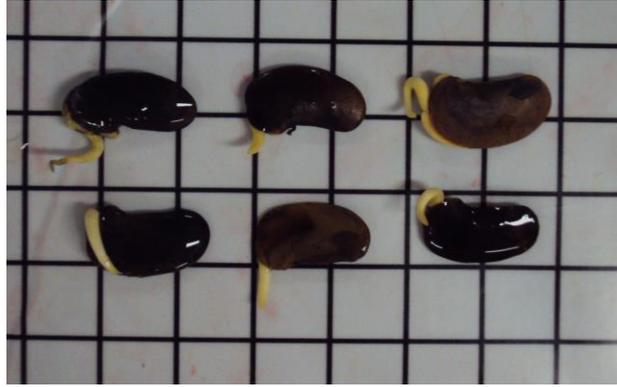


Figura 6: Aspecto das sementes germinadas de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Montoro (2008) descreveu a germinação da espécie como lenta e desuniforme. O autor obteve a taxa de germinação de 85% em 40 dias após a utilização de escarificação mecânica com lixa de parede de gramatura 40.

Matos (2009) trabalhou com sementes de *Anadenanthera falcata* (angico) e obteve resultado semelhante aos encontrados para *Dalbergia miscolobium*, onde a autora ao aplicar um corte de estilete na borda das sementes de *Anadenanthera falcata* obteve uma germinação de 94% considerada mais rápida e mais uniforme se comparado aos 82% das sementes sem nenhum tratamento de escarificação do tegumento.

O teste de germinação, de modo geral, demonstrou que as sementes coletadas possuem boa qualidade fisiológica, pois obteve-se 87% de sementes germinadas. Os resultados obtidos nos diferentes tratamentos demonstraram que o lote de sementes de *Dalbergia miscolobium* é composto por sementes vigorosas e aptas a desenvolver novos indivíduos dessa espécie.

6.2 Teste de Tetrazólio

Entre os resultados encontrados nos diferentes tratamentos do Teste de Tetrazólio observou-se a presença de sementes com injúrias, sementes mortas, sementes em deterioração e sementes completamente viáveis (Figura 7). Porém, para efeito estatístico foram criadas apenas duas categorias: 1) sementes viáveis; e 2) sementes inviáveis – que se agruparam as sementes em deterioração, sementes mortas e sementes com injúrias.



Figura 6: Sementes seguidas do número 1- sementes consideradas viáveis; Sementes seguidas do número 2 – sementes consideradas inviáveis

A Tabela 5 demonstra os resultados obtidos nos diferentes tratamentos de preparação das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth para aplicação do teste de tetrazólio.

Tabela 5: Resultados dos diferentes tratamentos de preparo para exposição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth ao teste de tetrazólio

Tratamento	Percentual de sementes viáveis (%)
1- Hidratação a 25°C	35
2 - Hidratação a 25°C e corte do tegumento	41
3 – Hidratação a 25°C e remoção completa do tegumento	78

Os dados obtidos pelos três tratamentos foram submetidos a análise de variância ao nível de significância de 1% de probabilidade. Os resultados são apresentados na Tabela 6. A média geral de viabilidade pelo teste de tetrazólio foi de 51,33%. O coeficiente de variação encontrado foi de 27,8 %, essa variação pode ser explicada por dois fatores: i) variabilidade genética advinda das árvores matrizes onde se coletou as amostras e as diferentes qualidades fisiológica das sementes oriunda do ponto de maturação das sementes analisadas; e ii) os próprios tratamentos, que favoreceram níveis diferentes de contato dos tecidos das sementes com a solução de tetrazólio.

Mesmo contando com a interferência desses fatores, o coeficiente de variação demonstrou um bom controle experimental. Ainda sobre coeficiente de variação encontrado, Garcia (1989) ao propor uma tabela de análise desta variável, classifica o valor encontrado como aceitável e neste intervalo de valor pode-se dizer que houve um bom controle experimental.

Tabela 6: Análise de variância aplicada aos dados obtidos nos três tratamentos de preparação das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	F
Tratamento	2	5423,33	26,62*
Resíduo	27	203,70	--
Média	51,33	--	--
Coeficiente de variação	27,80	--	--

* significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < .01$)

Pela Tabela 6 verifica-se que há uma diferença significativa entre os tratamentos e por essa razão aplicou-se o teste de médias de Tukey, a 5%. Os resultados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Médias dos tratamentos de preparação das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth., através do teste de Tukey, a 5%.

Tratamento	Médias	Comparações
3 – Hidratação a 25°C e remoção completa do tegumento	78	A
2 - Hidratação a 25°C e corte do tegumento	41	B
1- Hidratação a 25°C	35	B

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Os tratamentos Hidratação a 25°C e Hidratação a 25°C e corte do tegumento não diferem entre si. Em contrapartida, o tratamento de Hidratação a 25°C e remoção completa do tegumento se destacou dos demais por obter um valor maior de sementes viáveis.

A hidratação a 25°C seguida da remoção do tegumento foi o tratamento que permitiu o melhor desempenho do teste de tetrazólio nas análises das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. Apesar de ser um procedimento trabalhoso e que necessita de habilidade para não reproduzir resultados equivocados por injúrias causadas durante o processo, os resultados demonstram a garantia do contato dos tecidos com a solução de tetrazólio.

Este resultado é explicado também pela característica morfológica dos tegumentos resistentes das espécies da Família Fabaceae, descritas nos estudos de Rolston (1978). Silva (2012) estudou os procedimentos de preparação das sementes de girassol (*Helianthus annuus*) para a aplicação do teste de tetrazólio e concluiu que a hidratação foi suficiente para preparar as sementes para aplicação do teste.

As Regras de Análise de Sementes Brasileiras (Brasil, 2009) não recomenda um tratamento único, visto que as características morfológicas como tamanho da semente, tipo de tegumento, posição do embrião na semente podem influenciar nos resultados do teste. Essas são ainda mais evidentes em espécies florestais tanto pela diversidade como pelas estratégias ecológicas de dispersão das espécies.

Os resultados obtidos pelo teste de tetrazólio para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth demonstraram que o lote possui boa qualidade fisiológica uma vez que 78 % das sementes foram apontadas como viáveis pelo melhor tratamento de preparação. Desta maneira, recomenda-se o procedimento de hidratação em papel filtro a 25°C por 24 horas seguido da remoção completa do tegumento para avaliar as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth pela técnica do tetrazólio.

6.3 Teste de condutividade elétrica

Os resultados do teste de condutividade elétrica em função do tempo de embebição para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. encontram-se na Tabela 8, onde são apresentados os valores médios encontrados nas

repetições por tratamento, seguido dos valores médios de germinação das sementes postas para embeber.

Tabela 8: Valores médios de condutividade elétrica ($\mu\text{S/g/cm}$) e germinação em função dos tempos de embebição

TEMPO DE EMBEBIÇÃO (MINUTOS)	30'	60'	90'	120'	240'
Valores médios de condutividade ($\mu\text{S/g/cm}$)	65,90	69,06	80,80	81,36	146,84
Desvio Padrão da CE	12,86	11,84	18,00	13,10	20,19
Valores de germinação (%)	95	92	97	95	86
Desvio padrão da germinação	4,37	4,83	4,40	5,27	9,36

Os resultados médios encontrados para o teste de condutividade demonstraram um aumento da condutividade elétrica em função do aumento do tempo de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. Estes resultados também são descritos no estudo de Nunes et al (2011). Estes autores trabalharam com tempos de embebição de 3, 6, 9, 12 e 24 horas para sementes de Pinhão manso (*Jatropha curcas* L) e registraram um aumento gradativo na condutividade elétrica com o aumento do tempo de embebição.

Os valores de condutividade lidos representam a lixiviação de um conjunto de 20 sementes e por essa razão não são considerados valores altos. Outro fator considerado é o tamanho das sementes de *Dalbergia miscolobium* é maior que o tamanho da maioria das sementes agrícolas, que representam a grande maioria dos estudos de condutividade elétrica.

Ao estabelecer uma comparação entre os valores de condutividade e o tamanho das sementes, os valores encontrados para *Dalbergia miscolobium* são considerados semelhantes aos valores de condutividade elétrica encontrados para as sementes de pinhão manso no estudo de Araújo et al (2011). Segundo Nunes et al. (2009), a semente de pinhão manso possui um

comprimento variando de 1,5 a 1,8 cm, e essa medida é próxima da medida de comprimento da semente de *Dalbergia miscolobium* Benth descrito por Montoro, (2008) que apresenta de 1,1 a 1,4 cm de comprimento.

Nunes et al. (2011) encontraram para sementes de pinhão manso valores que variaram de 113 a 169 $\mu\text{S/g/cm}$. Esses valores são próximos dos valores médios encontrados para *Dalbergia miscolobium*, que variou de 65 a 146 $\mu\text{S/g/cm}$.

Os valores médios de germinação se mantiveram e vão de encontro com o resultado encontrado para o teste de germinação padrão onde 97% das sementes germinaram.

Os dados encontrados nos diferentes tratamentos foram submetidos a análise de variância e estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultado da análise de variância para os dados de condutividade elétrica em função do tempo

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	F
Tratamento	4	1310	5,57*
Resíduo	45	235,25	--
Média	88,79	--	--
Coeficiente de variação	17,27	--	--

*Significativo

O desvio padrão de 33,38 demonstra que os valores de condutividade encontrados variam em torno de 30% em relação a média encontrada. O coeficiente de variação de 17,27 é classificado como baixo por Garcia (1989), o que permite afirmar que houve um bom controle experimental.

Aplicou-se a regressão polinomial e concluiu-se que o modelo que melhor explicou o comportamento da condutividade em função do tempo de embebição foi o modelo cúbico, apresentando o valor de R^2 igual a 0,97.

A partir do modelo cúbico, obteve-se uma equação que explica a condutividade elétrica em função do tempo de embebição para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. A equação encontrada é:

$$CE = 14,3937 + 79,5954T - 34,1519T^2 + 4,6952T^3$$

Onde,

CE – condutividade elétrica em $\mu\text{S/g/cm}^3$.

T – tempo em minutos

Assim sendo, existe uma relação entre o tempo de embebição das sementes e o valor de condutividade elétrica. A equação apresentada permite que se estime a condutividade elétrica esperada para cada tempo de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. O que se esperava era encontrar uma distribuição Normal para os dados em função da natureza biológica das amostras. Porém o modelo estatístico cúbico que melhor explicou o comportamento da condutividade elétrica dos exsudatos das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. Por essa razão é importante investigar maiores tempos de embebição para verificar as variações de condutividade elétrica em relação ao período de embebição.

Krzyzanowski *et al.* (1991) e Vieira e Krzyzanoski (1999) citam que para espécies de sementes agrícolas consideradas grandes, como ervilha e soja, o período de embebição e em torno de 24 horas, pois durante este período ainda haveria lixiviação. Já para sementes pequenas, Murphy e Noland (1982) recomenda um período de embebição inferior a duas horas, pois nesse tempo ocorreria a lixiviação máxima verificada nas sementes de hortaliças.

O teste de condutividade elétrica pelo método massal analisando-se 20 sementes embebidas em 100mL de água a 25°C foi sensível para verificar as variações de condutividade elétrica e traçar uma comparação destes valores observados com a taxa de germinação das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth examinadas.

Embora tenha ocorrido um aumento gradual da condutividade elétrica, a germinação não apresentou grandes decréscimos. Essa relação demonstrou que as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth são vigorosas e possuem boa qualidade fisiológica.

Sobre o método massal do teste de condutividade elétrica aplicado em sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth conclui-se que temperatura de 25°C é recomendável para a realização dos procedimentos de embebição por se tratar de uma temperatura ótima para o teste de germinação para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Assim, o método massal do teste de condutividade elétrica pode seguir os procedimentos descritos pela Figura 7.

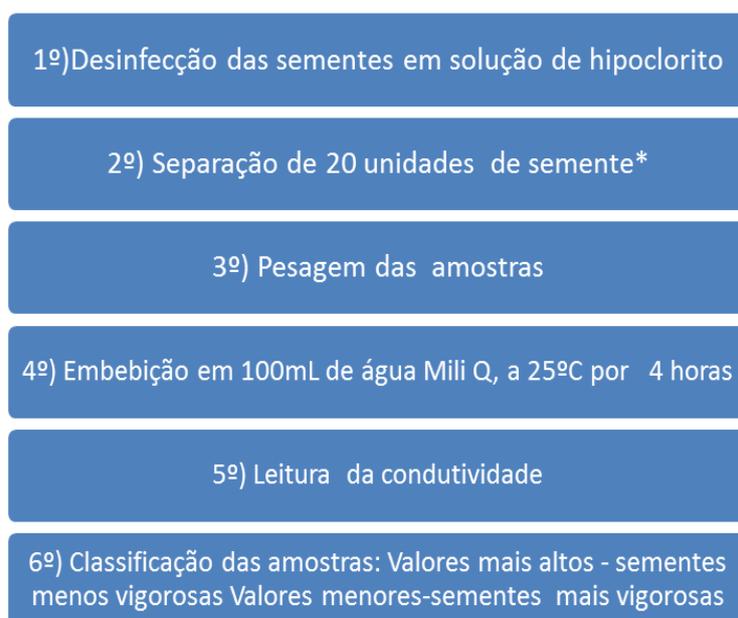


Figura 8: Procedimento metodológico sugerido para o teste de condutividade elétrica pelo método massal

Uma recomendação importante para futuros ajustes na metodologia do teste de condutividade elétrica seria a avaliar a influência da reativação metabólica das sementes, da mesma forma como é realizada para o teste de tetrazólio, para só então expor as sementes ao processo de embebição visto a desordem do metabolismo precederia a desestruturação das membranas plasmáticas. Outra análise relevante para refinar a técnica seria avaliar a sensibilidade do método individual comparando-o com o método massal.

6.4 Comparação dos métodos para verificação do potássio nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth

Até o presente momento, não há registros na literatura da aplicação do teste de Lixiviação de Potássio para estimar a viabilidade e o vigor de sementes de florestais. Assim, as análises da composição química pela Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF) e avaliação da lixiviação de potássio nos exsudatos das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth pela a Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) buscaram responder se era possível verificar o potássio sendo lixiviado durante a embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth e se esse indicador poderia ser utilizado como um referencial da queda do poder germinativo destas sementes.

Na Tabela 10 são apresentados os elementos da composição química das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth em valores médios percentuais encontrados pela Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF). A análise realizada mostrou que os elementos em maior abundância são respectivamente o potássio, cálcio, fósforo magnésio e enxofre.

Tabela 10: Composição química das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth pela Técnica de Fluorescência de Raios X(XRF)

Elementos Químicos presentes na composição da semente de <i>Dalbergia miscolobium</i> Benth	Quantidade média dos elementos (%)
K	56
Ca	18
P	13
Mg	6,2
S	4,4
Fe	0,55
Si	0,49
Zn	0,14
Mn	0,09
Cu	0,07
Rb	0,038
Ni	0,011
Sr	0,013

Os resultados encontrados para a composição química das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth pela técnica de XRF aponta o potássio como o componente majoritário e por essa razão este elemento seria um marcador mais fácil de verificar no meio de embebição das sementes.

Aplicando a Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) nas cinzas de amostras de *Dalbergia miscolobium* Benth encontrou-se que o potássio representa, em média, 55% da composição dessas sementes. A aplicação dessas técnicas nas cinzas objetivou responder se são técnicas compatíveis no quesito de identificar o potássio contido na composição das sementes, o que ficou comprovado pela semelhança dos resultados encontrados.

Tanto a Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF) quanto a Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) são eficientes para verificar a quantidade de potássio contida nas amostras. Porém a técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) apresenta algumas desvantagens em relação a Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF): a Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) analisa um elemento por vez, além de ser uma técnica destrutiva, pois a amostra é pulverizada na chama gerada pelo equipamento para fornecer os dados de absorbância. Também a Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) é considerada bastante trabalhosa dada às etapas de preparação das amostras que necessitam ser diluídas e acidificadas para ser enfim analisadas pela técnica. O mesmo não ocorre com a Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF), que é aplicada diretamente nas cinzas.

Outra vantagem da Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF) é que esta consegue rastrear um número maior de elementos químicos e preserva a amostra para outras análises. Porém os resultados encontrados nas análise das amostras de *Dalbergia miscolobium* Benth demonstraram que as técnicas se equivalem na qualidade dos resultados obtidos.

Custódio e Marcos Filho (1997) aplicaram o teste de lixiviação de potássio para analisar lotes de semente de soja aplicando o método de fotometria de chama e afirmam que não detectaram a relação entre a quantidade de potássio lixiviado com os teores deste elemento nas sementes. Porém o desfazimento das membranas pode ser responsável pela maior

liberação de potássio no meio embebição. E neste caso a liberação do potássio oriundo da constituição das membranas seria um indicativo de que a deterioração estaria num estágio bastante avançado.

Também Kruse et al. (2006) descrevem que em sementes mais deterioradas há menor integridade das membranas e, como consequência, ocorre o extravasamento do conteúdo celular para o meio, constatado pelo aumento da quantidade de lixiviados, durante o processo de embebição. Assim o potássio lixiviado no meio de embebição poderia ser originário de fontes diferentes, mas ambos estariam relacionados ao evento da deterioração.

O estudo da composição foi um importante indicador do que se poderia observar no meio de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth, uma vez que aspectos como a variação morfológica das sementes e a relação planta-solo poderiam resultar numa variação da composição das sementes refletindo diretamente nos marcadores das análises indiretas.

A proposta principal era verificar o efeito da lixiviação do potássio sobre a germinação, dessa forma as sementes utilizadas para extração do exsudatos foram postas para germinar. Esse procedimento impediu a realização da comparação do potássio inicial com o potássio lixiviado, uma vez que para isso seria necessário aplicar as Técnicas de Fluorescência de Raios X (XRF) e Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) nas cinzas das sementes que foram postas para liberar os exsudatos.

6.5 Teste de lixiviação de potássio

Os valores médios de potássio lixiviado encontrados por Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) após a embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* e a respectiva germinação média são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Valores médios de potássio lixiviado e germinação em função do tempo de embebição

TEMPO DE EMBEBIÇÃO (MINUTOS)	30'	60'	90'	120'	240'
Quantidade de K/massa de semente (mg/ L/ g)	3,75	3,62	4,08	4,63	5,02
Desvio padrão do K	1,05	0,51	1,41	1,74	1,29
Valores de germinação (%)	95	92	97	95	86
Desvio padrão da germinação	4,37	4,83	4,40	5,27	9,36

Houve um aumento na quantidade de potássio lixiviado pelas sementes de *Dalbergia miscolobium* com o aumento do tempo de embebição. Há que se ressaltar que o aumento da perda de potássio observado não significou uma redução drástica da germabilidade das sementes. Os dados obtidos permitem concluir que tanto pelo teste de lixiviação de potássio como pelo teste de germinação as sementes são vigorosas pois mesmo com o aumento dos valores de potássio nos diferentes tempos de embebição, verificou-se que não há uma redução acentuada na germinação das sementes.

Zucareli et al (2013) estudaram a lixiviação de potássio, cálcio e magnésio das sementes de milho doce (*Zea mays L.*) por a Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) e concluíram que o potássio foi o íon mais lixiviado. Estes resultados também foram comprovados nos estudos de Kikuti et al., (2008); e Vanzolini e Nakagawa (2003) que analisaram lotes de sementes de amendoim (*Arachis hypogaea L.*); e Alves et al. (2004) que avaliaram sementes de milho (*Zea mays L.*). Os apontamentos destes autores confirmam o íon potássio como um bom indicador de vigor de sementes, e capaz de diferenciar lotes com diferentes estados fisiológicos.

A maioria dos trabalhos realizados com a Técnica de Lixiviação de Potássio foram aplicados para analisar sementes de espécies agrárias como

soja (DIAS et al., 1995), feijão (Dias et al, 1998), amendoim (KIKUTE et al, 2008) e girassol (AGUIAR et al., 2001; MORAES et al., 2012). Nestes trabalhos o potássio é utilizado como um indicador de vigor para analisar lotes de diferentes procedências. Estes autores classificaram os lotes de acordo com a quantidade de potássio medido, de modo que sementes que lixiviaram as menores quantidades de potássio são consideradas as mais vigorosas. Mas no caso das sementes recém-colhidas de *Dalbergia miscolobium* Benth, independentemente do tempo de embebição, as sementes são consideradas vigorosas visto que desprenderam pouco potássio e continuam a germinar em grande maioria.

Os dados encontrados para o teste de lixiviação de potássio foram submetidos a análise de variância e são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12: Resultado da análise de variância para os dados de lixiviação de potássio em função do tempo pela Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA).

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	F
Tratamento	4	1983	1,172*
Resíduo	45	3497	--
Média	5,46	--	--
Coeficiente de variação	161,44	--	--

** Significativo

Ao realizar a decomposição em polinômios ortogonais encontrou-se que o modelo que melhor explica a relação do potássio e o tempo de embebição é o modelo linear apresentando o valor de R^2 igual a 0,97. A partir deste modelo encontrou-se a seguinte equação que explica a relação de potássio despreendido em função do tempo de embebição das sementes:

$$K = 4,2883 + 0,9276T$$

Onde,

K - quantidade de potássio expressos em mg/ L/ g

T – tempo em minutos

Essa equação encontrada pode ser aplicada para identificar a quantidade máxima de potássio desprendida em função do tempo para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

O coeficiente de variação geral dos tratamentos encontrado foi de 161,44. Essa enorme variação é explicada pela diferentes quantidade de potássio lixiviada por cada grupo de semente que compôs a amostra. Fatores como tamanho, idade e variação genética das sementes, juntos, colaboraram para as diferenças encontradas nas amostras. Assim, para que se possam controlar esses fatores, recomenda-se separar as amostras por árvore matriz, classe de tamanho e maturidade, sendo este último aspecto analisado pelo teor de umidade e o padrão de cor.

A Técnica de Lixiviação de Potássio é aplicável para analisar o vigor de sementes de *Dalbergia miscolobium* e demais sementes florestais, mas deve receber os ajustes metodológicos tais como: a relação entre a quantidade de sementes e os respectivos tamanhos assim como o volume da solução de embebição.

Os resultados permitiram concluir que o teste de Lixiviação de Potássio pela Técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) aplicado em sementes recém-colhidas de *Dalbergia miscolobium* foi eficiente na investigação do vigor das sementes aplicando-se o tempo de embebição de 240 minutos.

Essa Técnica pode ser empregada com sucesso para verificar a eficiência do programa de armazenamento de sementes, em especial nos casos de sementes estocadas em bancos de germoplasma, por detectar as mudanças do começo da deterioração e permitir intervenções que aproveitam ao máximo do material genético armazenado. Desta forma recomenda-se a utilização da sequencia de procedimentos descrita pela Figura 9.

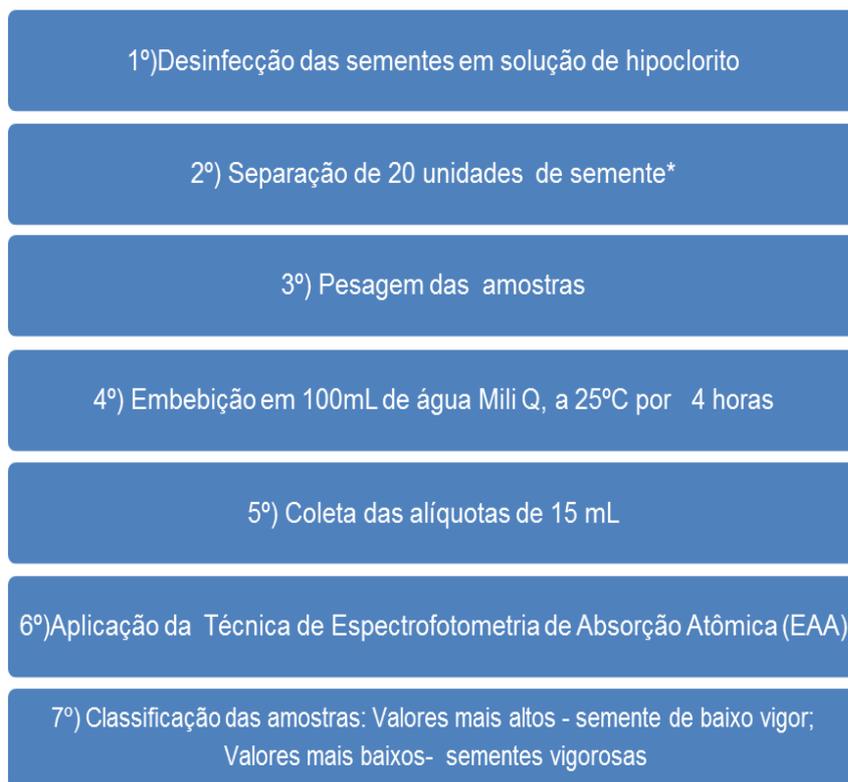


Figura 9: Procedimentos para aplicação do teste de lixiviação de potássio

Contudo, para maior compreensão dos mecanismos e futuros ajustes da Técnica recomenda-se investigar a relação entre quantidade de o potássio lixiviado em função do tempo de armazenamento das sementes para estabelecer quais faixas de valores de potássio desprendido indicam a perda da germinabilidade das sementes. Outra recomendação é, assim como foi recomendado para teste de condutividade elétrica, verificar a influencia da preparação das sementes com a reativação metabólica das sementes, para só então expor as sementes ao processo de embebição e verificar o potássio oriundo da desordem do metabolismo celular.

6.6 Teste do pH do exsudato pelos métodos quantitativo e colorimétrico

Os valores de pH obtidos pelo método quantitativo foram relacionados com os valores percentuais de germinação por repetição para cada tempo de embebição e são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Valores de pH e respectiva germinação em função dos tempos de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Tempo(minutos)	30'		60'		90'		120'		240'	
Repetição	pH	G								
1	4,98	90	6,50	95	5,44	90	4,31*	100	5,65	85
2	6,00	90	4,53*	95	5,60	100	4,30*	95	5,20	100
3	5,48	100	4,78*	90	5,40	100	5,91	95	5,52	85
4	5,58	100	4,50*	95	5,28	95	5,66	100	6,24	70
5	5,51	100	5,71	85	5,56	100	5,79	100	5,31	85
6	5,55	90	5,66	95	5,60	100	5,58	85	5,65	75
7	5,50	95	5,69	90	4,71*	100	5,79	95	5,77	100
8	5,73	95	5,82	85	5,41	100	5,67	90	5,89	85
9	5,15	95	5,49	90	5,62	90	5,50	90	5,67	85
10	5,86	100	5,63	100	5,32	100	5,52	100	5,48	90
Média	5,53	95,5	5,43	92	5,39	97,5	5,40	95	5,63	86
Desvio padrão	0,30	4,37	0,33	4,83	0,12	4,24	0,14	5,27	0,29	9,36

pH – Valores de pH lidos por repetição; G- percentual de sementes germinadas por repetição

Os resultados obtidos demonstraram que as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth germinam mesmo exsudando H⁺, pois se observou que sementes com o meio de embebição apresentando pH entre 4,30 e 4,78 chegam a ter germinação de até 100%. Esta condição verificada pode representar uma estratégia ecológica das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth para garantir a germinação em ambientes ácidos como é o caso dos solos ácidos do Cerrado brasileiro.

O valor de pH medido com o pHmetro mostra que as sementes germinam mesmo liberando H⁺, isto é, a acidez lida no meio de embebição não inviabilizou a germinação. Santos et al. (2013) verificaram que as sementes de *Dalbergia miscolobium* que apresentaram exsudatos com pH entre 4,77 e 5,70 germinam em média 80 %.

O mesmo constatou Melo (2011) analisando as sementes de landim (*Calophyllum brasiliense* Cambess.), pau-santo (*Kielmeyra coriacea* Mart. &

Zucc.) e amendoim-bravo (*Pterogyne nitens* Tul.). O autor concluiu que a acidificação da solução de embebição não é suficiente para concluir que a semente seja inviável.

Os resultados destes autores são explicados devido a acidez encontrada nos solos do Cerrado, que apresentam pH variando de 4,8 a 5,2 (LOPES e COX, 1977). Além da interação planta-solo deve-se considerar a hipótese de que a acidez também pode representar uma estratégia ecológica de proteção da semente para passar sem maiores danos pelo trato intestinal de animais dispersores e garantir o sucesso reprodutivo da espécie.

Os dados de pH pelo método quantitativo foram submetidos a uma análise de variância (Tabela 14). O coeficiente de variação encontrado foi de 6,37, o que demonstra um ótimo controle experimental, segundo Garcia (1989). O baixo desvio padrão, que obteve o valor de 0,35, apontou que os valores de viabilidade pelo teste de pH ficaram próximos do valor médio. A média de sementes viáveis para os diferentes tratamentos foi 5,55 em valores absolutos.

Tabela 14: Resultado da análise de variância para os dados de pH do exsudato para as diferentes soluções analisadas

Fonte de Variação	GL	Quadrado Médio	F
Tratamento	4	12481	13,50*
Resíduo	45	235,25	--
Média	5,64	--	--
Coeficiente de variação	3,15	--	--

*Significativo

Na Tabela 15 são apresentados os valores de pH lidos pelo método quantitativo e a respectiva coloração obtida pelas soluções indicadoras de fenolfetaleína e carbonato de sódio, propostas por Cabrera e Peske (2002), para o método qualitativo.

Tabela 15: Valores de pH seguidos da cor resultante da aplicação das soluções de fenolftaleína e carbonato de sódio em função dos tempos de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Repetição	pH 30'	Cor 30'	pH 60'	Cor 60'	pH 90'	Cor 90'	pH 120'	Cor 120'	pH 240'	Cor 240'
1	4,98	I	6,50	R	5,44	R	4,31	I	5,65	R
2	6,00	R	4,53	I	5,60	R	4,30	I	5,20	R
3	5,48	R	4,78	I	5,40	R	5,91	R	5,52	R
4	5,58	R	4,50	I	5,28	R	5,66	R	6,24	R
5	5,51	R	5,71	R	5,56	R	5,79	R	5,31	R
6	5,55	R	5,66	R	5,60	R	5,58	R	5,65	R
7	5,50	R	5,69	R	4,71	I	5,79	R	5,77	R
8	5,73	R	5,82	R	5,41	R	5,67	R	5,89	R
9	5,15	R	5,49	R	5,62	R	5,50	R	5,67	R
10	5,86	R	5,63	R	5,32	R	5,52	R	5,48	R

R- rosa pálido I - incolor

Ao comparar os valores lidos com o pHmetro com a coloração resultante constata-se uma divergência entre os métodos quantitativo e colorimétrico para os exsudatos de *Dalbergia miscolobium*. A zona de viragem da solução de fenolftaleína foi descrita por Sabnis (2007) e está apresentada na Tabela 16.

Tabela 16: Faixas de cores da solução indicadora de fenolftaleína observadas em diferentes faixas de pH. Fonte: Sabnis (2007)

Faixa de pH	Abaixo de 8,0	Entre 8,0 e 10,0	Entre 10,1 e 12,0
Cor observada	Incolor	Rosa	Carmim

Para Sabnis (2007) os valores de pH abaixo de 8,2 a coloração resultante é incolor, ao passo que valores acima de 10,00 observa-se a cor carmim. Esses resultados não são confirmados nos exsudatos de sementes de *Dalbergia miscolobium*, pois, em todas as repetições, o pH lido pelo método quantitativo é classificado como ácido e o mesmo não ocorre após a aplicação das soluções indicadoras que apontam um pH básico. Assim, o método

colorimétrico não é confiável quando se usa as soluções de fenolftaleína e carbonato de sódio, sendo necessário avaliar outras soluções indicadores de pH para aprimorar o método colorimétrico do Teste do pH do exsudato.

Santos et al. (2013) estudaram o Teste do pH do exsudato em sementes de *Dalbergia miscolobium* medindo o pH dos exsudatos com pHmetro seguido da aplicação as soluções indicadoras de pH Yamada e Azul do bromotimol e fenolftaleína associada com carbonato de cálcio. Essa autoras concluíram que apesar do subjetivismo da técnica colorimétrica, as soluções Yamada e Azul de bromotimol apresentam resultados compatíveis com o pH lido pelo pHmetro. O mesmo estudo demonstrou que as soluções de fenolftaleína e carbonato de sódio não apresentam resultados compatíveis com os resultados obtidos pelo pHmetro. Este resultado vai de encontro ao resultado encontrado nas análises realizadas neste estudo. Nesse sentido é recomendável a substituição do conjunto fenolftaleína/carbonato de sódio por outras soluções indicadoras como, por exemplo, as soluções indicadoras Yamada e Azul de bromotimol utilizadas por Santos et al (2013).

Para o método colorimétrico há outra questão que deve ser analisada: a liberação de corantes do tegumento da semente. Nesta espécie há a liberação de um corante de cor amarelada que pode interferir na leitura de resultados por este método.

As soluções indicadoras não causam efeito destrutivo nas sementes já que as mesmas germinam após terem tido contato com as soluções (Tabela 14).

O método colorimétrico utilizando as soluções propostas por Cabrera e Peske (2002) não apresentou diferença significativa entre os diferentes tempos de embebição aplicadas com sementes de *Dalbergia miscolobium*. Esse resultado comprova que as soluções propostas por Cabrera e Peske (2002) não são capazes de diferenciar pequenas variações na lixiviação de H^+ .

Matos (2009) relacionou o pH pelo método colorimétrico e os resultados do teste de tetrazólio, e concluiu que o teste de tetrazólio validou os resultados do Teste do pH do exsudato para sementes de *Anadenanthera falcata* (Benth.) Speg (angico), *Copaifera langsdorffii* Desf. (copaíba) e *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, (tamboril). Porém, a autora não relacionou os

resultados do pH colorimétrico com o pH quantitativo para determinar o pH que corresponde a inviabilidade das sementes analisadas.

A partir dos resultados obtidos pelo método quantitativo realizou-se a decomposição em polinômios ortogonais para determinar o modelo que melhor explica a relação do pH e o tempo de embebição. Para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. o modelo matemático que explica a relação do pH em função do tempo é o modelo linear, pois o R² obtido foi de 0.99. A partir deste modelo encontrou-se a seguinte equação:

$$\text{pH} = 4,2883 + 0,9276T$$

Onde,

pH - quantidade de H⁺ liberada

T – tempo em minutos

Essa equação, assim como nos testes indiretos anteriores, permite calcular o pH em função do tempo de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Os resultados deste estudo concluiu-se que o Teste do pH do exsudato pelo método quantitativo é um método mais eficiente de verificação do pH do exsudato das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth e indicar a queda do vigor destas sementes. A partir desta análise recomenda-se adotar a sequencia de procedimentos apresentados pela Figura 10.

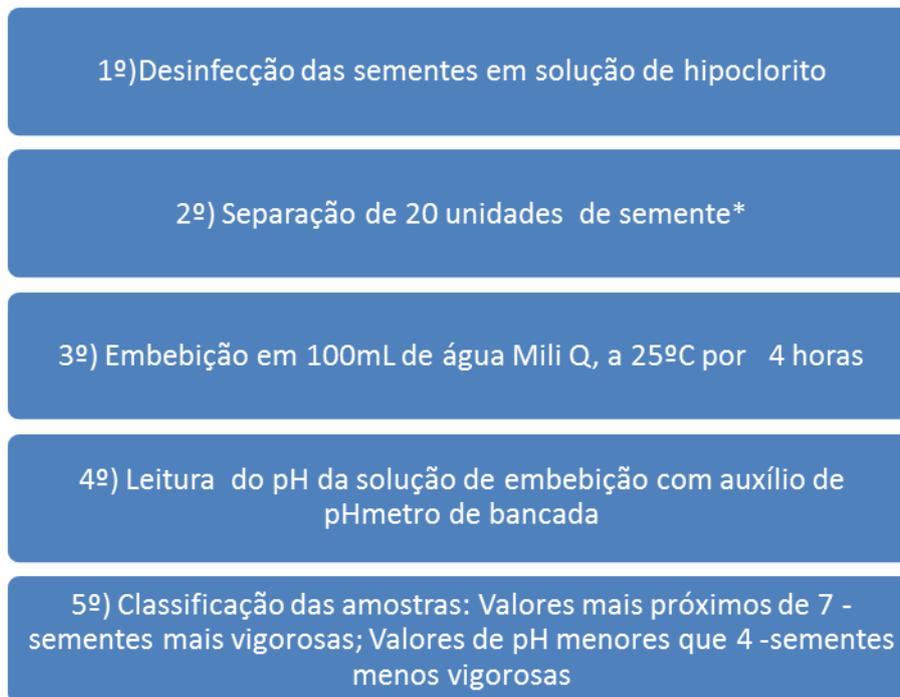


Figura 10: Procedimentos aplicados para a realização do Teste do pH do exsudato pelo método quantitativo

Recomenda-se investigar os valores de pH dos exsudatos das sementes que indicam a impossibilidade de germinar, para que se obtenha valores de referência para ser utilizado como parâmetro de análise da qualidade fisiológica do lote de sementes submetidas a esta técnica.

Outra recomendação é, assim como foi recomendado para os testes de condutividade elétrica e lixiviação de potássio, verificar a influência da preparação das sementes com a reativação metabólica das sementes, para só então expor as sementes ao processo de embebição e verificar se há alteração na lixiviação do H⁺ modificando o pH do exsudato medido pelo método quantitativo.

6.7 Verificação dos exsudatos lixiviados por sementes envelhecidas artificialmente

A proposta de estudar as sementes de *Dalbergia miscolobium* envelhecidas artificialmente teve por objetivo fundamental investigar se há um aumento gradativo da liberação dos exsudatos, a medida que as sementes se deterioram; e qual seria o melhor indicador para investigar esse comportamento bem como se há um valor máximo de referência que indicasse a inviabilidade das sementes.

Na Tabela 17 foram listados os valores de condutividade elétrica e germinação após 24, 48, 72 e 96 horas de envelhecimento acelerado.

Tabela 17: Valores de condutividade elétrica em função do tempo de envelhecimento artificial.

Tempo (horas)	24		48		72		96	
Repetição	C.E	G	C.E	G	C.E	G	C.E	G
1	101,88	80	151,92	95	129,03	70	262,75	0
2	87,7	40	153,3	90	114,73	85	163,58	0
3	92,61	70	172,06	95	138,8	75	141,65	0
4	88,43	65	123,01	90	141,02	40	125,81	5
5	118,03	85	125,86	100	110,28	90	114,22	0
6	66,71	65	199,87	90	118,93	95	138,15	0
7	79,14	55	165,74	100	125,6	70	111,9	0
8	134,47	65	160,92	90	211,95	80	188,42	0
9	111,96	60	205	90	160,04	60	189,35	0
10	91,71	65	245,73	95	114,25	50	127,75	10
Média	97,264	65	170,341	93,5	136,463	71,5	156,358	1,5*
Desvio padrão	19,82	12,47	37,59	4,11	30,57	17,48	46,59	3,37

C.E- Condutividade elétrica medida por repetição em $\mu\text{S/g/cm}^3$; G- percentual de sementes germinadas por repetição. * valores influenciados pelo aparecimento dos fungos.

Para os valores de condutividade elétrica percebe-se que há um aumento nos tempos de 24 e 48 horas. A partir de 72 horas começar a haver um decréscimo nos valores de condutividade. Este comportamento pode ser explicado pela variação biológica natural das amostras. Ainda assim, para encontrar um valor máximo de referência seria necessário estudar outros tempos de envelhecimento entre 48 e 72 horas.

Segundo Vieira e Carvalho (1994), a quantidade de exsudado da semente na água de embebição pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento no momento da colheita, pelo grau de deterioração e pela incidência de dano causado pela velocidade de embebição, pela ocorrência de injúrias no tegumento da semente, pela temperatura e tempo de embebição, pelo genótipo, pela idade e cor da semente, dentre outros fatores. Para as sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth todos estes fatores, associados ao stress do procedimento de envelhecimento artificial, podem explicar as variações dentro das repetições e entre os tratamentos.

O método da condutividade elétrica se mostrou sensível para identificar variações de lixiviados, mas os valores não significaram de fato uma queda na germinabilidade nos tratamentos de 24, 48 e 72 horas de envelhecimento visto que a amostra que apresentou a condutividade de $211 \mu\text{S/g/cm}^3$ obteve uma germinação de 80%. Já no tratamento de 96 horas valores menores de condutividade elétrica são relacionados com 0% de germinação. Esse resultado não teve a queda de germinabilidade atestada, pois a germinação foi afetada pela aparecimento de fungos durante o teste de germinação.

Ao comparar os resultados de condutividade dos exsudatos de sementes recém-colhidas e envelhecidas, expostas ao mesmo tempo de embebição, verificou-se um aumento de lixiviados nas sementes envelhecidas, pois enquanto a condutividade elétrica média lida foi nas sementes recém colhidas foi de $146 \mu\text{S/g/cm}^3$ com a respectiva germinação de 86%, nas sementes envelhecidas obteve-se até $170 \mu\text{S/g/cm}^3$, em média, com a germinação de 95%. O que era esperado, pois de acordo com Vieira et al. (1994), as alterações degenerativas, que ocorrem nas estruturas internas da semente, promovem um descontrole no metabolismo e nas trocas de água e de solutos entre as células e o meio exterior, determinando a queda da viabilidade da semente.

Os resultados demonstraram que o envelhecimento artificial das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth foi detectado pelo teste de condutividade elétrica, o que o torna uma boa técnica para diferenciar sementes recém colhidas e armazenadas. Porém ressalta-se a importância de investigar a o efeito do envelhecimento natural sobre a condutividade elétrica

para que se possa ter uma referencia do que esperar das analises de sementes durante o armazenamento.

Os resultados encontrados para o teste de lixiviação de potássio em função do tempo de envelhecimento foram relacionados com a germinação das sementes (Tabela 18).

Tabela 18: Valores de potássio lixiviado em função do tempo de envelhecimento artificial.

Tempo (horas)	24		48		72		96	
Repetição	K	G	K	G	K	G	K	G
1	7,23	80	7,51	95	5,78	70	13,44	0
2	4,16	40	5,33	90	5,20	85	7,18	0
3	5,78	70	6,98	95	6,21	75	7,15	0
4	5,92	65	5,97	90	7,71	40	4,86	5
5	4,06	85	6,04	100	6,76	90	7,08	0
6	5,93	65	9,79	90	6,88	95	7,92	0
7	3,91	55	6,50	100	7,64	70	8,08	0
8	5,51	65	4,07	90	11,77	80	7,19	0
9	4,70	60	4,42	90	8,25	60	8,10	0
10	5,24	65	3,46	95	6,18	50	8,24	10
Média	5,24	65	6,00	93,5	7,23	71,5	7,92	1,5*
Desvio padrão	1,11	13,22	1,72	4,33	1,92	16,72	2,29	1,66

k- concentração de potássio lixiviado pelas sementes de *Dalbergia miscolobium* (mg/ L/ g); G- percentual de sementes germinadas por repetição. * valores influenciados pelo aparecimento dos fungos.

Para análise de lixiviação de potássio verificou um aumento gradativo de da concentração do potássio. Esse aumento pode estar relacionado com o fato do envelhecimento acelerado ocasionar um *stress*, que tem como resposta imediata a perda de solutos intracelulares (KRUSE et al., 2006).

Kruse et al. (2006) descrevem que em sementes mais deterioradas há menor integridade das membranas e, como consequência, ocorre o extravasamento do conteúdo celular para o meio, constatado pelo aumento da quantidade de lixiviados, durante o processo de embebição.

Outra relação observada foi o aumento da condutividade elétrica com o aumento da liberação de potássio. O mesmo efeito foi observado por Prete (1992), ao analisar os exsudatos de grãos de café (*Coffea arabica* L.) pela Técnica de Condutividade elétrica. O autor concluiu que grande parte da

condutividade elétrica se deve à lixiviação de íons potássio. Essa resposta é o esperado nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth visto que as análises de composição química desta sementes demonstrou que o potássio é o íon majoritário e representa mais de 55% da composição média da semente.

Simon e Raja-Harun (1972) e Barros e Marcos Filho (1997) afirmaram em seus estudos sobre os lixiviados de sementes de *Pisum sativum* (ervilha) e *Glycine max* (L.) Merrill (soja) durante o processo de embebição que os resultados obtidos no teste de lixiviação de potássio são comparáveis aos obtidos no teste de condutividade elétrica.

Os resultados encontrados para o Teste do pH do exsudato em função do tempo de envelhecimento foram relacionados com a germinação das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. (Tabela 19).

Tabela 19: Valores de potássio lixiviado em função do tempo de envelhecimento artificial nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Tempo (horas)	24		48		72		96	
	pH	G	pH	G	pH	G	pH	G
Repetição								
1	5,67	80	6,03	95	6,25	70	6,2	0
2	5,97	40	6,1	90	6,23	85	6,24	0
3	6,12	70	6,05	95	6,15	75	6,25	0
4	6,03	65	6,12	90	6,19	40	6,27	5
5	6,02	85	6,13	100	6,17	90	6,22	0
6	6,06	65	6,07	90	6,17	95	6,25	0
7	6,05	55	6,16	100	6,19	70	6,17	0
8	6,1	65	6,21	90	6,19	80	6,12	0
9	6,02	60	6,15	90	6,17	60	6,1	0
10	6,04	65	6,11	95	6,22	50	6,13	10
Média	6,00	65	6,11	93,5	6,19	71,5	6,19	1,5*
Desvio Padrão	0,12	12,47	0,05	4,11	0,03	17,48	0,06	3,37

pH – Valores de pH lidos por repetição; G- percentual de sementes germinadas por repetição.

* valores influenciados pelo aparecimento dos fungos.

Já o pH do exsudato medido pelo método quantitativo demonstrou que o envelhecimento acelerado não influenciou na liberação de H⁺, pois o pH se manteve praticamente inalterado. Os pequenos valores encontrados para o desvio padrão de cada tratamento confirmam essa hipótese. Estes resultados se assemelham aos de Borges et al. (1990) que submeteram sementes de *Cedrela fissilis* (cedro) ao envelhecimento a 40° e 50°C, por até 96 horas, e

verificaram que a 40°C não houve grandes variações na liberação de exsudados.

Em contrapartida, o teste de germinação demonstrou as sementes de *Dalbergia miscolobium* analisadas são vigorosas. Somente após 96 horas de envelhecimento as sementes apresentaram a menor germinação. Isso se deve ao fato das sementes estarem completamente deterioradas, chegando a mudar completamente a coloração do tegumento.

Kaewnaree et al. (2011) justificam o decréscimo da germinação, após o envelhecimento pela saída substancial de solutos, e como consequência do pouco material restante nas células, há um decréscimo na viabilidade das sementes. Esse argumento explicaria os resultados encontrados para germinação das sementes após 96 horas de envelhecimento, onde apenas 1,5 % das sementes germinaram.

Ataíde et al. (2012) estudaram o envelhecimento de sementes de *Pterogyne nitens* Tul. (amendoim bravo) e observaram que com aumento do metabolismo, a viabilidade das sementes decresceu significativamente a partir de 24 horas de envelhecimento, chegando a valores de 66 e 7% de germinação após 48 e 72 horas, respectivamente. Estes autores concluíram que o envelhecimento artificial aplicado na temperatura de 40 °C pelo tempo de 48 horas é o método mais apropriado adequada para provocar alterações fisiológicas nas sementes da espécie.

Observou-se que nas sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth., o período de 48 horas de envelhecimento apresentou o melhor desempenho no teste de germinação e a maior condutividade elétrica média. A partir desse resultado conclui-se que entre os métodos testados por este estudo, o tempo de 48 horas de envelhecimento artificial a 40°C de temperatura é o procedimento mais adequado para verificar o vigor das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância (Tabela 20). Os coeficientes de variação encontrados para condutividade elétrica, lixiviação de potássio, pH do exsudato e germinação demonstraram que houve um bom controle experimental segundo a classificação proposta por Garcia (1989).

Tabela 20: Dados da análise estatística aplicada aos valores encontrados de condutividade elétrica, potássio lixiviado, pH do exsudato e germinação em função do tempo de envelhecimento artificial para sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

TESTES	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
Condutividade elétrica ($\mu\text{S/g/cm}^3$)	141	43,83	25,18
Lixiviação de potássio	6,64	2,02	27,16
pH do exsudato	6.13	0,77	0.80
germinação (%)*	57,30	36,54	19.02

Avaliando o desvio padrão de cada teste, os dados se concentram próximo a média e por essa razão essas médias são consideradas representativas e o que indica os experimentos realizados são eficientes. Ao realizar a decomposição em polinômios ortogonais encontrou-se para cada teste o modelo matemático que melhor explica a relação das variáveis: Condutividade elétrica, pH, potássio lixiviado e germinação com o tempo de envelhecimento das sementes (Tabela 21).

Tabela 21: Modelo matemático e respectiva equação gerada para explicar o efeito do tempo de envelhecimento sobre cada variável analisada.

TESTES	VALOR DO R ²	MODELO ESTATÍSTICO	EQUAÇÃO
Condutividade elétrica ($\mu\text{S/g/cm}^3$)	0,99	Mod.cúbico	$CE = -24,3662 + 52,844T - 21,492T^2 + 2,6804$
Lixiviação de potássio	0.99	Mod. Linear	$K = 4,2883 + 0,92764T$
pH do exsudato	0.90	Mod. Linear	$pH = 5,467 + 0,0641T$
germinação (%)*	0.99	Mod quadrático	$G = -2,425 + 20,3751T - 4,925T^2$

Os modelos estatísticos encontrados para os testes de condutividade elétrica, pH do exsudato e lixiviação de potássio são os melhores ajustes para os intervalos de tempo de envelhecimento aplicados como tratamento neste estudo.

Ao analisar as variáveis potássio lixiviado, condutividade elétrica e pH exsudado pelas sementes envelhecidas artificialmente, constatou-se que há a necessidade de avaliar o fracionamento dos intervalos de tempo de envelhecimento para ampliar a compreensão entre relação do tempo de envelhecimento e a quantidade de lixiviados.

De acordo com Vieira et al. (1994), as alterações degenerativas, que ocorrem nas estruturas internas da semente, promovem um descontrole no metabolismo e nas trocas de água e de solutos entre as células e o meio exterior, determinando a queda da viabilidade da semente. Para Carvalho (1994), o processo de envelhecimento de sementes tem como consequência inicial a desestruturação dos sistemas de membranas em nível celular, sendo a causa imediata dessa desestruturação a ação de grupos químicos de alta reatividade, denominados radicais livres.

Para análises futuras, além de investigar o tempo de embebição para as sementes envelhecidas é recomendável que se analise as variáveis como temperatura e tempo de exposição ao procedimento de envelhecimento artificial bem como as sementes armazenadas por diferentes períodos para que se possam indicar valores de referência para as Técnicas estudadas.

Os resultados das análises das sementes recém colhidas quando comparadas com os resultados das sementes envelhecidas artificialmente permitiram a elaboração de uma Tabela comparativa das Técnicas empregadas onde aponta-se os melhores métodos, o grau de dificuldade de execução e confiabilidade dos resultados (Tabela 22).

Tabela 22: Comparação das Técnicas segundo os melhores procedimentos, os resultados e nível de dificuldade de execução.

Teste	Melhores Condições de execução	Resultados Encontrados	Confiabilidade dos resultados do teste	Nível de dificuldade de execução
Teste de germinação	Método do rolo a 25°C constantes, com ou sem luz, sementes com corte na porção lateral do tegumento apenas para uniformizar a germinação- não há dormência para as sementes desta espécie	Entre 68 e 97% de sementes germinadas	Alta- porém ressalta-se que o aparecimento de fungos pode resultar em valores de germinação subestimados	Fácil
Teste de tetrazólio	Preparação: hidratação por 24 horas seguida da remoção completa do tegumento; Exposição em imersão direta em solução de tetrazólio a 1% de concentração por 24 horas	78% de sementes viáveis	Alta – pois permite distinguir sementes inviáveis por morte dos tecidos e por deterioração	Moderada – pois requer alguma habilidade para remoção dos tegumentos e experiência para leitura dos resultados
Teste de Condutividade elétrica	Pesagem das amostras para aplicação do fator de correção(Condutividade/peso da amostra); Método Massal – 20 unidades por amostra; Embebição em água destilada ou MiliQ por um período de 4 horas em câmara de em germinação calibrada para 25°C; Leitura dos resultados com condutivímetro de	65,9 a 146,84 $\mu\text{S/g/cm}^3$ representaram de 95 a 86% de sementes viáveis	Alta – mas deve-se relacionar a variação nos valores de condutividade com o número e tamanho das sementes que compõe a amostra analisada	Fácil

	bancada			
Teste de lixiviação de potássio	Método Massal ; Utilização de 20 sementes por amostra; Embebição em água MiliQ por um período de 4 horas em câmara de em germinação calibrada para 25°C; Retirada das alíquotas de 15mL para aplicação da Técnica de EAA	3,75 a 5,02 mg/L/g de potássio lixiviado apresentaram de 97 a 86% de sementes viáveis.	Alta –pois detecta as variações por menores que sejam.	Difícil – pois as etapas de preparação das alíquotas requer alguma experiência com as técnicas de diluição e acidificação das amostras para expô-las a EAA.
Teste do pH do exsudato da semente	Método Quantitativo; Separação de 20 unidades por amostra(Método Massal); Embebição em água destilada ou MiliQ por um período de 4 horas em câmara de em germinação calibrada para 25°C; Leitura dos resultados com pHmetro de bancada	pH entre 6,24 e 4,30 apresentaram sementes viáveis com germinação entre 90 e 100%.	Moderada - Apesar de o método quantitativo mostrar as menores variações do pH do exsudato ainda não foi definido os níveis de pH do exsudato que determina a total impossibilidade de germinar da semente.	Fácil

Os resultados demonstraram que as Técnicas de Lixiviação de potássio, Condutividade elétrica e pH do exsudato da semente são promissoras para realizar o monitoramento da qualidade fisiológica de sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.

7. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que os testes de lixiviação de potássio, condutividade elétrica e pH do exsudato expressam resultados tão confiáveis como os reproduzidos pelos testes de germinação e tetrazólio. Entre as conclusões obtidas para cada técnica estão:

- As sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth. são fotoblásticas neutras;
- As sementes não possuem dormência tegumentar, porém o tratamento de corte do tegumento serviu para agilizar e uniformizar a germinação; e
- O teste de germinação demonstrou que as sementes coletadas possuem boa qualidade, com média de 87% de germinação.
- A hidratação em papel filtro a 25°C por 24 horas seguida da remoção do tegumento foi o tratamento que permitiu o melhor desempenho do teste de tetrazólio nas análises das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth.
- Pelo teste de tetrazólio verifica-se que o lote possui boa qualidade fisiológica.
- Há um aumento da condutividade elétrica e em função do tempo de embebição das sementes de *Dalbergia miscolobium*;
- As diferenças no tamanho da semente e a quantidade de sementes usadas no método massal podem influenciar nos valores de condutividade elétrica;

- Os valores de condutividade elétrica obtidos, quando comparados aos valores de germinação demonstraram que as sementes de *Dalbergia miscolobium* estão em bom estado fisiológico;
- Devido a diversidade morfológica das sementes florestais é recomendável que se realize ajustes na execução das metodologias dos testes de condutividade elétrica, pH do exsudato e lixiviação de potássio considerando o tamanho, o número de sementes e volume de solução de embebição;
- O método quantitativo do Teste do pH do exsudato é o método mais apropriado desta técnica para avaliar o vigor das sementes de *Dalbergia miscolobium* Benth;
- O teste de lixiviação de potássio é eficiente em detectar as diferenças de vigor entre diferentes amostras;

8. Perspectivas para pesquisa desenvolvida

A partir da pesquisa realizada com as sementes de *Dalbergia miscolobium* recomenda-se analisar os seguintes tópicos no intuito de complementar a pesquisa com os métodos indiretos de avaliação da qualidade de sementes florestais:

- O estudo da relação da liberação de exsudatos por sementes florestais deve continuar considerando o procedimento de reativação de

metabolismo utilizado pelo teste de tetrazólio para que seja verificada a variação dos exsudatos relacionados com metabolismo;

- Recomenda-se estudar os ajustes necessários tais como: classe de tamanho, teor de umidade, números de sementes por amostra e volume da solução de embebição;
- Considerar as variações morfológicas, como por exemplo, espessura do tegumento das sementes para expô-las ao processo de embebição;
- Obter valores mínimos e máximos de condutividade, pH e potássio lixiviado para usar como referencia do vigor de sementes de espécies florestais para que os testes indiretos possam ser usados na certificação de lotes comercializados ;
- Sugere-se avaliar o pH dos exsudatos das sementes florestais e relacionar com a queda da germinabilidade;
- Investigar a relação do pH e o potássio do solo da planta matriz e as influencia sobre a germinabilidade das sementes produzidas por este indivíduos para que se possa relacionar as características ecológicas de cada individuo com a capacidade reprodutiva dos mesmos;
- Aplicar as Técnicas de Fluorescência de Raios X (XRF) e Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA) para estudar a relação planta-solo no que se refere as composições químicas das diferentes espécies dos Biomas brasileiros para contribuir com a compreensão dos mecanismos ecológicos de estabelecimento dessas espécies;
- Avaliar a Técnica de Fluorescência de Raios X (XRF) como uma ferramenta que possibilite realizar análise nutricional de plantas, e seus dados como indicadores para a realização dos procedimentos de adubação;

- Estudar o efeito dos diferentes estágios de maturação das sementes na liberação de exsudatos relacionando com as capacidades de germinar e armazenar estas sementes;
- Desenvolver estudos de descrição morfológica das sementes de espécies florestais para otimizar a sua utilização e manejo durante coleta, processamento e produção.
- Recomenda-se que se investigue a relação entre acidez e a germinação de sementes *Dalbergia miscolobium*; e
- Indica-se avaliar o número mínimo de sementes para as análises de potássio lixiviado bem como verificar a relação da perda de potássio em sementes recém colhidas e armazenadas por longos períodos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A.A. & ANDERSON, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds, In: KOSLOWSKI, T.T. ed. Seed Biology. New York, Academic Press, 1972. v.2, cap. 4, p. 283-315.

AGUIAR, R. H.; FANTINATTI, J. B.; GROTH, D.; USBERTI, R., Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de girassol de diferentes tamanhos. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.23, n,1, p.134-139, 2001.

AMARAL, A.S. ; PESKE, S.T. pH do exsudato para estimar, em 30 minutos, a viabilidade de sementes de soja. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.6, n.3, p.85-92, 1984.

ARAÚJO, A. M. Estudo do tempo de embebição utilizado na técnica de pH do exsudato para a verificação de viabilidade de sementes de *Acacia polyphylla* DC. Universidade de Brasília - Trabalho de conclusão de curso, 26 p, 2009.

ASHRAF, M.; NASIM, F. H.; HUSSAIN, M. M. Efflux of inorganic ions in leachates of wheat seeds. Journal of Biological Sciences, v. 1, n. 1, p. 1-3, 2001.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS–AOSA. Seed vigor testing handbook. Lincoln, 2002. 105p. (Contribution, 32)

ATAIDE, M. ; FLÔRES, G.; BORGES, A. V. DE L. ; EDUARDO, E.; TASSINARI, R. R. Adequação da metodologia do teste de condutividade elétrica para sementes de *Pterogyne nitens* Tull. Revista Brasileira de Ciências Agrárias [On-line] 2012, 7 (Outubro-Diciembre) : [Data de consulta: 12 / novembro / 2013] Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=119024993016>> ISSN 1981-1160

BARBOSA, R. M., SILVA, C. B. , MEDEIROS, M. A., CENTURION, M. A. P. DA C., VIEIRA, R. D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. Ciência Rural, v.42, n.1, jan, 2012.

BARROS, M.A.; OHSE, S.; MARCOS FILHO, J. Íon leakage as indicator of vigor in field beans seeds. Seed Technology, Lansing, v.21, n.1, p.44-48, 1999.

BARROS, A.S.R; e MARCOS FILHO, J. TESTES PARA AVALIAÇÃO RÁPIDA DO VIGOR DE SEMENTES DE SOJA. Revista Brasileira de Sementes, vol. 19, no 2, p.288-294 – 1997 <http://www.abrates.org.br/revista/artigos/1997/v19n2/artigo24.pdf> Acessado em 23.09.2013

BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Ecologically meaningful germination studies. In: BASKIN, C.C.; BASKIN, J.M. Seeds – ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. New York: Academic Press, 1998. p.5-26.

BORGES, E. E. L.; CASTRO, J. L. D; BORGES, R. C. G. Avaliação fisiológica de sementes de cedro submetidas ao envelhecimento precoce. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, DF, v. 12, n. 1, p. 56-62, 1990.

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, 2009.399 p.

CABRERA, A. C. ; PESKE, S. T. Testes do pH do exsudato para sementes de milho. Revista Brasileira de Sementes, vol. 24, nº 1, p.134-140, 2002

CARVALHO, N. M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Eds.). Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p. p.1-30.

CARVALHO, N.M. & NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4.ed. 2000.

CHEN, T.; BURRIS, J.S. Dessication tolerance in maturing maize seed: membrane phospholipid composition and thermal properties. Crop Science, Madison, v.31, n.3, p.766-770, 1991.

COLETE, J. C. F., VIEIRA, R. D., PANOBIANCO, M., DUTRA, A.S. Condutividade elétrica da solução de embebição de sementes e emergência de plântulas de soja. Científica, Jaboticabal, v.35, n.1, p.10 - 16, 2007.

COSTA, C. J. ; VAHL, L. C.; VILLELA, F. A. Testes de lixiviação de íons inorgânicos e condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola. R. Bras. Agrocência, Pelotas, v.13, n.4, p.449-453, outubro, 2007.

CUSTÓDIO, C.C.; MARCOS-FILHO, J. Potassium leachate test for the evaluation of soybean seed physiological quality. Seed Sci. & Technol., Zürich, v.25, n.3, p. 549-564, 1997.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.1, n.2, p.427-452, 1973.

DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD; M. O teste de tetrazólio para viabilidade da semente. Brasília: AGIPLAN, 1976.

DELOUCHE, J.C. 2002. Germinação, deterioração e vigor da semente. *Seed News* 6:1-7

DIAS, D.C.F.S. et al. CONDUTIVIDADE ELÉTRICA E LIXIVIAÇÃO DE POTÁSSIO PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE HORTALIÇAS: FEIJÃO-DE-VAGEM E QUIABO. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 20, no 2, p.170-175 – 1998

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS-FILHO, J. & CARMELLO, Q.A.C. Teste de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). *Scientia Agricola*, Piracicaba, v.52, n.3, p.444-451, 1995.

FAVARATO, L.; ROCHA, V.; ESPINDULA, M.; SOUZA, M.; PAULA, G. Teste de lixiviação de potássio para avaliação da qualidade em sementes de trigo - DOI:10.5039/agraria.v6i4a1547. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária) Brazilian Journal of Agricultural Sciences*, América do Norte, 6 8 11 2011.

FERNANDES, E. J.; SADER, R.; e CARVALHO, N. M. VIABILIDADE DE SEMENTES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.) ESTIMADA PELO pH DO EXUDATO *Revista Brasileira de Sementes*. vol. 9, no 3, p. 69-75, 1987.

FRANÇA-NETO, J. B; HENNING, A. A; KRZYZANOWSKI, F. C. Seed production and technology for the tropics. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. Tropical soybean: improvement and production. Roma: FAO, 1994. p. 217-240.

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

GARCIA, C.H. Tabelas para classificação de coeficientes de variação. Piracicaba: IPEF, 1989. 12 p. (Circular Técnica, 171).

GARCIA, L.C. NOGUEIRA, A.C.; ABREU, D.A. Influência do envelhecimento acelerado no vigor de sementes de *Anadenanthera colubrina* (Velloso) Brenan-Mimosaceae. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 85-90, 2004

HAMPTON, J.G. Conductivity test. In: SEED VIGOUR TESTING SEMINAR. Copenhagen: International Seed Testing Association, Vigour Test Committee, 1995. p.10-28. Jaboticabal, Funep, 588p.

ISTA - International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. Seed Science and Technology, Zürich, v.4,n.1, p.51-177, 1976

KAEWNAREE, P.; VICHITPHAN, S.; KLANRIT, B.; VICHITPHAN, K. Effect of accelerated aging process on seed quality and biochemical changes in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds. Biotechnology, v.10, n.1, p.175-182, 2011. <<http://scialert.net/fulltext/?doi=biotech.2011.175.182&org=11>>. 13 Jun. 2013. doi:10.3923/biotech.2011.175.182.

KANO, N.K.; MARQUEZ, F. C. M.; KAGEYAMA, P.Y. Armazenamento de sementes de Ipê-dourado (*Tabebuia* sp) IPEF n.17, p.13-23, 1978.

KIKUTI, H.; MEDINA, P.F.; KIKUTI, A.L.P.; RAMOS, N.P. Teste de lixiviação de potássio para avaliação do vigor de sementes de amendoim. Revista Brasileira de Sementes, v.30, n.1, p.10- 18, 2008.

KOOSTRA, P.; HARRINGTON, J. Biochemical effects of age on membranar lipids of Copenhagen, v34, p329-340, 1973.

LABOURIAU, L. G. A Germinação das Sementes. OEA: Washington, 1983. 174p.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 368p.

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

MARCOS FILHO, J.; AMORIM, H.V.; SILVAROLLA, M.B.; PESCARIN, H.M.C. Relações entre germinação, vigor e permeabilidade das membranas celulares durante a maturação de sementes de soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DA PESQUISA DE SOJA, 2., 1981, Brasília, DF. Anais.Londrina: EMBRAPA/ CNPSo, 1982. v.1. p.676-688.

MARTINS, D. S. Estudo das concentrações da solução de carbonato de sódio utilizada no teste pH do exsudato da semente. 2009. 33p., Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade de Brasília. Brasília, DF.

MARTINS, I.C. F. Estudo do tempo de embebição de sementes para o método de condutividade elétrica para análise da viabilidade e vigor das sementes de *caesalpinia ferrea martius*, *peterogyne nitens tul* e *copaifera langsdorffii*. Monografia. Universidade de Brasília. Brasília- DF. 60 p. 2011

MATTHEWS, S. ; ROGERSON, N.E. (1976). The influence of embryo condition on the leaching of solutes from pea seeds. *Journal of Experimental Botany*, 27, 119-125.

MATOS, J. M. M. Avaliação do Teste do pH do exsudato na verificação de viabilidade de sementes florestais. 2009. 75p., Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Brasília, DF.

MENDHAM, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D. & THOMAS, M.J.K. - Vogel: Análise Química Quantitativa. 4a. edição (Traduzido por Aída Espinola, COPPE - UFRJ), Rio de Janeiro, Guanabara Dois (1981), 690pp

MENDONÇA, R. C. DE; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C. DA; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. DE S.; NOGUEIRA, P. E.; FAGG, C. W. Flora Vasculare do Bioma Cerrado: Checklist com 12.356 espécies. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S.; RIBEIRO, J. F. (org.). 2008. Cerrado: Ecologia e Flora, Volume 2. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. cap. 15, 876p.

MENEZES, J.M.T.; OLIVEIRA, J.C.; RUGGIERO, C.; BANZATO, D. A. Avaliação da taxa de pegamento de enxertos de maracujá-amarelo sobre espécies tolerantes à "morte prematura de plantas". *Científica*, São Paulo, v.22, n.1, p.95-104, 1994.

MONTORO, G. R. Morfologia de plântulas de quatorze espécies Lenhosas do Cerrado sentido restrito. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, 104 p. 2008.

MORAES, M. T.; MIGLIORINI, P.; SILVA, V. R.; ARNUTI, F.; ZWIRTES, A. QUALIDADE FISIOLÓGICA DE AQUÊNIO DE GIRASSOL CULTIVADO NO NORTE DO RIO GRANDE DO SUL . ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; p. - 2012

NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNANDES, G. D. Fatores externos (ambientais) que influenciam na germinação de sementes. IPEF, Boletim informativo, 1998. Disponível em: <<http://www.ipef.br/tecsementes/germinacao.asp>>. Acesso em: 21.11. 2010.

PESKE, S.T. e AMARAL, A.S. pH of seed exudate as a rapid physiological quality test. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.22, n 3, p.641-644, 1994.

PIÑA-RODRIGUES et al. Teste de qualidade. In FERREIRA A. G., BORGHETTI F. *Germinação do Básico ao Aplicado*- p 283-297, 2004.

POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 1977. 289p.

PRETE, C.E.C. Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café(*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida. Piracicaba, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, 1992. 125p. (Tese Doutorado).

RAMOS, K. M. O.; MATOS, J. M. M; MARTINS, R. C. C; MARTINS, I. S. “Electrical Conductivity Testing as Applied to the Assessment of Freshly Collected *Kielmeyera coriacea* Mart. Seeds,” *ISRN Agronomy*, vol. 2012, Article ID 378139, 5 pages, 2012. doi:10.5402/2012/378139

RECH E. G.; VILLELA, F. A; e TILLMANN, M. A. A. AVALIAÇÃO RÁPIDA DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ERVILHA. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 21, nº 2, p.1-9, 1999

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S.P.(Ed.). *Cerrado: ambiente e flora*. Brasília, DF; Embrapa Cerrados, 1998. p.89-166.

RIBEIRO, U.P. Condicionamento fisiológico de sementes de algodão: efeitos sobre a germinação, vigor, atividade enzimática e armazenabilidade. *Dissertação de Mestrado*, 79p, Lavras: UFLA, 2000 .

RODRIGUES, L.L. Estudo do tempo de embebição para aplicação do método da condutividade elétrica na verificação da viabilidade de sementes florestais armazenadas. *Monografia*. Universidade de Brasília. Brasília- DF. 31 p. 2010.

SABNIS R. W.. *Handbook of Acid-Base Indicators*. [S.l.]: CRC Press, 2007. [ISBN 0849382181](https://doi.org/10.1002/9781118131111)

SALOMÃO, A. N.; SOUSA-SILVA, J. C. Germinação, análise e armazenamento de sementes IN: SALOMÃO, A. N. et al. *Germinação de sementes e produção de mudas de plantas do Cerrado*. Brasília , Rede de Sementes do Cerrado, 2003. 96 p.

SANTANA, D.C.; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.L.M. e OLIVEIRA, M.S. Teste do pH do exsudato - fenolftaleína para rápida definição sobre o destino de lotes de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.20, n.1, p.160-166, 1998.

SANTOS, L. P.; BELLOTTO, V. R.; MATOS, J. M. M. AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE VERIFICAÇÃO DO pH NOS EXSUDATOS DE SEMENTES DE *Dalbergia miscolobium* BENTH. Anais do XVIII Congresso Brasileiro de Sementes 2013 in: <http://www.abrates.org.br/cbsementes/trabalhos>

STEIN, W. I. et al - Harvesting processing, and storage of fruits and seeds. In: USDA. Forest Service - Seeds of woody plants in the United States. Washington, 1974. p. 98-125 (Agriculture handbook,450).

TOLEDO, F. F.; FILHO, J. M. Manual das Sementes – Tecnologia da Produção. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1977. 224p.

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim, efeitos de teor de água inicial e de período de embebição. Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.21, n.1, p.46-52, 1999.

VIEIRA, Abadio H.; MARTINS, Eugenio P.; PEQUENO, Petrus L. de L.; LOCATELLI, Marília; SOUZA, Maria G. de. Técnicas de produção de sementes florestais. Porto Velho: Embrapa, CT 205, p.1-4, 2001

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M.; SADER, R. Testes de vigor e suas possibilidades de uso. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). Teste de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.31-47.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor em sementes. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1994. p.103-132.

VIEIRA, R.D. et al. Condutividade elétrica e o teor de água inicial das sementes de soja. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.37, n.19, p.1333-1338, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100204X2002000900018&lng=em&nrm=iso>. Acesso em: 2 mar. 2013. doi: 10.1590/S0100-204X2002000900018

VILLELA, F.A. ; PERES, W.B. 2004. Coleta, beneficiamento e armazenamento. In Germinação do básico ao aplicado (A.G. Ferreira & F. Borghetti, orgs.). Artmed, Porto Alegre, p.265-281.

WOODSTOCK, L.W.; FURMAN, K.; LEFFLER, H.R. Relationship between weathering deterioration and germination, respiratory metabolism, and mineral leaching from cottonseeds. Crop Science, v.25, n.3, p.459-466, 1985.

ZUCARELI, C; BRZEZINSKI, C R; ABATI, J.; HENNING, F A; RAMOS JUNIOR, E. U.; NAKAGAWA, J. Lixiviação de íons potássio, cálcio e magnésio para determinação do vigor em sementes de milho doce. Informativo ABRATES vol.23, nº.3, p 56-60 2013 disponível em: http://www.abrates.org.br/portal/images/Informativo/v23_n3/08.Claudemir.pdf acessado em 21.01.2014