

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

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO TESTE DE pH DE  
EXSUDATO NA VERIFICAÇÃO DE VIABILIDADE DE  
SEMENTES FLORESTAIS**

**JULIANA MARTINS DE MESQUITA MATOS**

**ORIENTADORA: Dr<sup>a</sup> ROSANA DE CARVALHO CRISTO MARTINS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS**

**Brasília /DF: MARÇO - 2009**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

**AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DO TESTE DE pH DE  
EXSUDATO NA VERIFICAÇÃO DE VIABILIDADE DE  
SEMENTES FLORESTAIS**

JULIANA MARTINS DE MESQUITA MATOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA FLORESTAL DA FACULDADE DE TECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE.

**APROVADA POR:**

---

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

---

**Álvaro Nogueira de Souza, Dr (Departamento de Engenharia Florestal, UnB)  
(Examinador)**

---

**Patrícia Aparecida de Souza, Dra (Departamento de Engenharia Florestal da UFT)  
(Examinadora Externa)**

---

**Christopher William Fagg, Dr. ( Departamento de Engenharia Florestal, UnB)  
(Suplente)**

Brasília, 02 de março de 2009.

## FICHA CATALOGRÁFICA

MATOS, JULIANA MARTINS DE MESQUITA

**Avaliação da eficiência do teste de pH de exsudato na verificação de viabilidade de sementes florestais [Distrito Federal] 2009.**

xiii, 75 p., 210 x 297 mm (EFL/FT/UnB, Mestre, Dissertação de Mestrado – Universidade de Brasília. Faculdade de Tecnologia.

Departamento de Engenharia Florestal

1. Teste de pH do exsudato

2. sementes florestais

3. estudo de viabilidade

I. EFL/FT/UnB

II. Título (série)

Matos, J.M.de M.(2009). Avaliação da eficiência do teste de pH de exsudato na verificação de viabilidade de sementes florestais. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal, Publicação PPG EFL.DM-121/09, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 75 p.

## CESSÃO DE DIREITOS

AUTOR: Juliana Martins de Mesquita Matos.

TÍTULO: Avaliação da eficiência do teste de pH de exsudato na verificação de viabilidade de sementes florestais

GRAU: Mestre

ANO: 2009

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

---

Juliana Martins de Mesquita Matos  
SQN 309 Bl F apt° 112  
70.755-060 Brasília – DF – Brasil.

"A mente que se abre a uma nova idéia jamais volta ao seu tamanho original."

Albert Einstein

### **Dedicatória**

Dedico este trabalho à minha  
Família, meu porto seguro de  
todas as horas.

## **Agradecimentos**

Agradeço a Deus por sempre me agraciar com sua presença tão viva e constante em minha vida. Agradeço ao meu estimado Santo Antônio por manter minha fé na vida! Agradeço a Nossa Senhora por atender minhas preces!

Agradeço aos meus Pais (Raimundo Mesquita e Maria Martins) pelo apoio tão necessário a esta jornada, incluindo o imenso amor que me deram ao longo de toda minha vida, e que vem sendo e continuará a ser tão essencial para mim.

Agradeço ao meu amado Esposo Alessandro pelo incentivo, amor, compreensão e toda a paciência que recebi em todos os momentos da nossa caminhada, em especial nesta jornada. Agradeço à minha Filha Thaís por mais uma vez abrir mão de horas tão preciosas do nosso convívio para que eu realizasse este sonho... Obrigada Filha! Pelo amor tão incondicional que você me dá...

Agradeço ao meu irmão Diego por todo apoio e carinho, e por sempre me dizer as palavras certas nas horas certas. Agradeço à minha cunhada Julia pelo auxílio carinhoso dado com o abstract! E às horas agradáveis do nosso convívio em família!

Agradeço a minha orientadora Dra Rosana Martins pela confiança, apoio e incentivo tão fundamentais para a realização deste trabalho. É uma honra e um privilégio aprender e trabalhar com um profissional deste porte e conviver com um ser humano tão doce e cativante!

Agradeço ao meu Co-orientador Professor Ildeu Martins pelos auxílios dados nos momentos do delineamento deste trabalho e análises estatísticas dos resultados.

Agradeço aos Professores Alexandre Florian e Ailton T. do Vale, por todo o incentivo e apoio dados ao longo da minha vida acadêmica!

Agradeço ao Professor Manoel Cláudio pelas sementes, conhecimento e entusiasmo!

Agradeço ao Professor Álvaro pela orientação na análise de custos e nos demais momentos do curso.

Obrigada Professora Patrícia por toda a colaboração e contribuições dadas a mim e ao meu trabalho.

Agradeço aos amigos: Pati, Thiago, Clarê, Quelzinha, Joana, Selminha, Leiliane, Priscila, Lalá, Carô, Keila, Maísa, Fred, Mirian e Lu pelas horas de alegria e trabalho...Obrigada Luiz, Aninha, Bruninha, Paulo, Ângela, Dani Vasconcelos e os demais colegas de Laboratório por todas as horas de trabalho tão gratificantes!

Obrigada Alcione, pela paciência de me atender, esclarecer e entender! Obrigada Juraci! Pela paciência com a demora dos meus testes...

Por fim, agradeço a todos que direta e indiretamente me ajudaram nesta conquista tão especial... A todos o meu sincero: Muito Obrigada!

## **RESUMO**

A produção de mudas de espécies arbóreas do Cerrado vem exigindo um refinamento das técnicas de análise de sementes. Diversos estudos ressaltam a importância do desenvolvimento de testes rápidos para avaliação de viabilidade de sementes, principalmente para aquelas com baixa capacidade de armazenamento e germinação lenta.

O Presente trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência do teste pH do exsudato na verificação de viabilidade de sementes florestais.

Para a verificação foram utilizadas sementes de três espécies nativas do Cerrado, selecionadas de acordo com a disponibilidade em campo e as diferentes características de seus respectivos tegumentos.

Para a avaliação foram realizados ensaios de germinação, que visaram caracterizar os lotes de sementes coletados. Foram realizados ensaios do teste de pH de exsudato por dois métodos (individual e massal), onde sementes estavam em três condições diferenciadas: íntegras, com corte no tegumento e com tegumento lixado.

O objetivo desta exposição diferenciada das sementes foi verificar se haveria diferença na leitura final do teste de pH de exsudato. As mesmas sementes testadas pela técnica de pH tiveram seus dados de viabilidade conferidos pelo teste de tetrazólio.

Os resultados demonstram que o teste de pH de exsudato pelo método individual é uma técnica eficiente para verificar a viabilidade de sementes florestais.

**Palavras-chaves:** sementes, viabilidade e teste de pH de exsudato

## **ABSTRACT**

The production of Cerrado's seedlings has been requiring a refinement of seed analysis techniques. Diverse studies highlight that it is important that quick tests for evaluation of the viability of seeds be developed, especially if the seed has a low capacity of storage and a slow germination.

This work's main goal was to evaluate whether the performance of the pH test of the seed's exsudato could be correlated with the forest seed's viability. For this verification, seeds of three native species chosen according to their availability on the field of the Cerrado were used. Germination assays were accomplished in order to characterize the collected seeds. Two different methods (individual e in group) for pH tests of the exsudato were carried out. In this test, the seeds were tested in three differentiated conditions: complete, with cut in the testa and sandpapered testa.

The objective of using differentiated seeds was to verify whether the exsudato's pH would suffer changes. The same seeds tested with the pH method had their viability checked with the tetrazolium test. Results demonstrated that the pH test of the exsudato for the individual method is a promising technique for evaluating of the viability of forest seeds.

**Key-words:** seeds, viability and test of pH of exsudato

## INDICE

|  |    |
|--|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....   | 14 |
| <b>2. OBJETIVOS</b> .....  | 15 |
| <b>2.1 Objetivo Geral</b> .....  | 15 |
| <b>2.2 Objetivos Específicos</b> .....   | 15 |
| <b>3. HIPÓTESE</b> .....   | 15 |
| <b>4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....  | 16 |
| <b>4.1 Características das sementes florestais</b> .....                                       | 16 |
| <b>4.2 Caracterização das espécies estudadas</b> .....   | 17 |
| <b>4.2.1 <i>Anadenanthera falcata</i> – Angico</b> .....                                       | 17 |
| <b>4.2.2 <i>Copaifera langsdorffii</i> - Copaíba</b> .....                                     | 18 |
| <b>4.2.3 <i>Enterolobium contortisiliquum</i> - Tamboril</b> .....                             | 20 |
| <b>4.3 Testes Clássicos de Análise de Sementes</b> .....                                       | 21 |
| <b>4.3.1 Teste de germinação</b> .....   | 21 |
| <b>4.3.2 Teste de tetrazólio</b> .....   | 22 |
| <b>4.4 Testes Alternativos de Análise de Sementes</b> .....                                    | 23 |
| <b>4.4.3 Teste de condutividade elétrica</b> .....   | 23 |
| <b>4.4.4 Teste de raios-X</b> .....  | 24 |
| <b>4.4.5 Teste de envelhecimento acelerado</b> .....   | 24 |
| <b>4.4.6 Teste de pH do exsudato</b> .....   | 25 |
| <b>5. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....  | 26 |
| <b>5.1 Descrição esquemática do método utilizado</b> .....                                     | 26 |
| <b>5.3 Assepsia das sementes e recipientes</b> .....   | 28 |
| <b>5.4 Teste de germinação convencional</b> .....  | 28 |
| <b>5.4.1 Teste de germinação convencional para Angico (<i>Anadenanthera falcata</i>)</b> ..... | 29 |
| <b>5.5 Teste de pH do exsudato individual</b> .....  | 31 |
| <b>5.6 Teste de pH de exudato pelo método massal</b> .....                                     | 32 |
| <b>5.7 Análise de custos dos testes realizados</b> .....                                       | 34 |
| <b>6. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....   | 34 |
| <b>6.1 Teste de germinação convencional</b> .....  | 34 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>6.2 Teste de pH do exsudato individual.....</b>          | <b>41</b> |
| <b>6.3 Teste de pH do exsudato pelo método massal .....</b> | <b>54</b> |
| <b>6.4 Análise de custos dos testes realizados .....</b>    | <b>61</b> |
| <b>7. CONCLUSÃO.....</b>                                    | <b>65</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                     | <b>66</b> |
| <b>ANEXO A.....</b>   | <b>73</b> |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA 1: Localização das áreas de coleta por espécie e época da coleta. ....   | 28 |
| TABELA 2: Resultados da germinação das sementes de Angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) submetidas ao tratamento de escarificação por corte do tegumento e testemunha.....     | 35 |
| TABELA 3 : Análise de variância para efeito do corte do tegumento na germinação em sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ).....                                       | 35 |
| TABELA 4: Comparação pelo teste de Tukey para a germinação de sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) .....   | 36 |
| TABELA 5: Germinação das sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) após aplicação de diferentes tratamentos de superação da dormência .....                           | 37 |
| TABELA 6: Análise de variância dos tratamentos de germinação em sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) .....   | 38 |
| TABELA 7: Comparação pelo teste de Tukey para o teste de germinação de sementes de Copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) .....  | 39 |
| TABELA 8: Resultado da germinação das sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) submetidas a diversos tratamentos de superação de dormência .....             | 40 |
| TABELA 9: Análise de variância para os tratamentos de quebra de dormência aplicados às sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ).....                         | 41 |
| TABELA 10: Comparação das médias de tratamentos de quebra de dormência aplicados às sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) pelo teste de Tukey, 1% .....   | 41 |
| TABELA 11: Resultados dos testes de pH de exsudato e tetrazólio aplicados às sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) submetidas a diferentes métodos de preparo ..... | 42 |

|  |    |
|--|----|
| TABELA 12: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ).....  | 45 |
| TABELA 13: Médias dos tratamentos do teste de pH de exsudato para sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) submetidas aos diversos métodos de preparo .....                                 | 45 |
| TABELA 14: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio aplicado em sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) submetidas ao teste de pH de exsudato .....                | 46 |
| TABELA 15: Comparação pelo teste de Tukey para os diferentes tratamentos do teste de tetrazólio para sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ).....  | 46 |
| TABELA 16: Resultados dos testes de pH de exsudato e tetrazólio para sementes de Copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) .....   | 47 |
| TABELA 17: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ).....  | 49 |
| TABELA 18: Análise de variância para dados obtidos pelo tetrazólio para sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) previamente testadas pelo teste de pH de exsudato.....                   | 49 |
| TABELA 19: Resultados dos testes de pH de exsudato e tetrazólio para sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) .....   | 51 |
| TABELA 20: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ).....  | 52 |
| TABELA 21: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio para sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) previamente testadas pelo teste de pH de exsudato ..... | 52 |
| TABELA 22: Resultados dos testes de pH de exsudato pelo método massal e tetrazólio para sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ).....   | 55 |
| TABELA 23: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio para sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) testadas pelo teste de pH de exsudato pelo método massal .....    | 56 |

|   |    |
|---|----|
| TABELA 24: Testes de pH pelo método massal e tetrazólio para sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) .....  | 57 |
| TABELA 25: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio para sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) testadas pelo teste de pH de exsudato pelo método massal ..... | 58 |
| TABELA 26: Resultados dos testes de pH massal e tetrazólio para sementes de Tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) .....   | 59 |
| TABELA 27: Análise de variância para teste de tetrazólio em sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) .....   | 59 |
| TABELA 28: Custo dos insumos necessários para a realização do teste de germinação no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade de Brasília .....     | 62 |
| TABELA 29: Custo dos insumos necessários para a realização do teste de pH de exsudato no Laboratório de sementes do Departamento de Engenharia Florestal da UnB .....                                 | 62 |
| Conta Gotas .....   | 62 |
| TABELA 30: Custo dos insumos necessários para a realização do teste de tetrazólio no Laboratório de sementes do Departamento de Engenharia Florestal da UnB.....                                      | 63 |
| TABELA 31: Comparação entre as técnicas de germinação, pH de exsudato e tetrazólio  | 64 |

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 : Esquema do método adotado por este estudo .....   | 27 |
| Figura 2: Sementes de copaíba germinadas após serem tratadas com banho de imersão seguido de corte no tegumento logo após a remoção da vermiculita .....   | 38 |
| Figura 3: Sementes de <i>Anadenanthera falcata</i> consideradas inviáveis pelo teste de pH de exsudato que passaram pelo teste de tetrazólio .....   | 43 |
| Figura 4: Sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) germinadas durante o processo de hidratação, etapa que precede a aplicação do teste de tetrazólio.....   | 44 |
| Figura 5: Sementes de copaíba ( <i>Copaifera langsdorffii</i> ) embebidas em água destilada após o contato com as soluções indicadoras .....   | 47 |
| Figura 6: Sementes de tamboril ( <i>Enterolobium contortisiliquum</i> ) embebidas em água destilada após o contato com as soluções indicadoras.....  | 50 |
| Figura 7: Sementes viáveis (A) e sementes inviáveis (B) de tamboril com eixo embrionário não colorido; C-semente intensamente colorida, considerada inviável por estar em acelerado processo de deterioração; D – semente viável apresentado coloração uniforme. | 51 |
| Figura 8: Teste de pH de exsudato massal para sementes de angico ( <i>Anadenanthera falcata</i> ) .....  | 55 |

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior diversidade biológica, abrigando cerca de 10% das formas vivas do planeta (MYERS et al., 2000). Toda esta riqueza está distribuída em variados ecossistemas ao longo do país. Dentre estes, destaca-se o Cerrado, o segundo maior bioma brasileiro. Trata-se de um bioma constituído por um mosaico de formações vegetais, que variam de campos abertos a formações densas de florestas que chegam a atingir até 30 metros de altura (EITEN 1972; RIBEIRO e WALTER, 1998).

Em virtude da intensa ação antrópica no Cerrado, é crescente a necessidade de implementação de práticas que visem à recuperação de áreas perturbadas para tanto, aumenta a procura por mudas de essências nativas.

A propagação de um grande número de espécies florestais encontra sérias limitações em razão do pouco conhecimento que se dispõe sobre características fisiológicas, morfológicas e ecológicas de suas sementes (MACHADO, 2002).

A semente é um fator fundamental no processo de produção de mudas, e representa um baixo custo no valor final de produção.

Para assegurar o baixo custo e o sucesso de produtividade, é necessário conhecer características das sementes como vigor e germinabilidade. Por esta razão, ao se aplicar técnicas de avaliação das sementes é importante que estas permitam a obtenção de resultados rápidos e confiáveis.

A produção de mudas de espécies arbóreas vem exigindo um refinamento das técnicas de análise de sementes.

Diversos estudos ressaltam a importância do desenvolvimento de testes rápidos para avaliação de viabilidade de sementes, principalmente para aquelas com baixa capacidade de armazenamento e germinação lenta. Esses diferentes comportamentos fisiológicos obrigam uma rápida indicação da utilização dessas sementes, o que justifica o desenvolvimento de testes de curta duração.

Os testes clássicos de verificação de viabilidade de sementes, germinação e tetrazólio, são reconhecidos como técnicas confiáveis, mas, apresentam inconveniências quanto a tempo de execução e custo elevado, respectivamente. Dentro deste contexto surgem outras técnicas, como pH de exsudato.

No teste de pH de exsudato, verifica-se que a quantidade de metabólitos lixiviados aumenta à medida que as membranas se deterioram, acidificando a solução onde é feita a leitura do teste. Desta forma, quanto mais ácido o meio, mais avançado é o estado de deterioração das sementes, o que implica na perda da viabilidade das mesmas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a eficiência do teste pH de exsudato da semente na verificação da viabilidade de sementes florestais.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Verificar se o estado do tegumento da semente (íntegro, com corte e lixado) influenciaria a leitura de resultados finais do teste de pH de exsudato;
- Gerar o protocolo de realização de ensaios do teste de pH de exsudato pelos métodos individual e massal adequados às sementes florestais; e
- Verificar e comparar os custos do teste de pH de exsudato com os custos das técnicas de germinação e tetrazólio.

## **3. HIPÓTESE**

O teste de pH do exsudato da semente apresenta a mesma precisão e confiabilidade quanto dos testes de germinação e tetrazólio, para analisar a viabilidade de sementes florestais.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Características das sementes florestais

A semente, no sentido botânico, é o embrião, composto de eixo hipocótilo-radicular ou eixo embrionário junto aos cotilédones, envolto ou não por tecidos de reserva e protegido pelo tegumento ou testa que pode apresentar estruturas adaptadas para dispersão (SALOMÃO e SOUSA SILVA, 2003).

Dentre essas estruturas, o embrião é a parte essencial da semente e, no armazenamento, a maior preocupação é mantê-lo vivo e pronto para retomar o crescimento (VIEIRA *et al.*, 2001). A manutenção das condições dos cotilédones para alimentá-lo também são importantes, pois contêm todas as substâncias necessárias para o início do desenvolvimento do embrião (FLORIANO 2004).

A longevidade corresponde ao período em que a semente se mantém viva, sendo capaz de germinar quando colocada em condições favoráveis, não havendo dormência (TOLEDO e MARCOS FILHO, 1977).

A dormência representa uma estratégia de sobrevivência, onde sementes viáveis não germinam mesmo quando são expostas a condições apropriadas para germinação (CARVALHO e NAKAGAWA, 2000). A dormência pode ser física, química, mecânica, morfológica ou fisiológica (SMITH *et al.*, 2003).

De acordo com Popinigis (1977), a origem ou causa da dormência de sementes pode estar relacionada ao tegumento da semente ou estruturas associadas que impedem a entrada de água; oferecem resistência mecânica, impedindo o desenvolvimento do embrião; afetam as trocas gasosas e podem conter substâncias inibidoras da germinação. Pode também estar associada ao embrião imaturo ou rudimentar; fisiologicamente inativo e sofrer dormência secundária induzida por mudança ambiental posterior à maturação da semente; ou ainda ser resultante da combinação de duas ou mais causas.

A semente é um material que pode ganhar ou perder umidade até atingir um equilíbrio higroscópico. De acordo com a composição química, as sementes podem apresentar diferentes teores de umidade de equilíbrio (POPINIGS, 1977). Sementes que possuem elevados teores de proteína ou amido apresentam maior umidade que sementes oleaginosas (MELO *et al.* 1987). Substâncias de reserva presentes nas sementes como os

óleos, que são mais instáveis que o amido, podem fazer com que a semente se autodeteriore mais rapidamente (KRAMER e KOZLOWSKI, 1972).

Considerando o teor de umidade, as sementes foram inicialmente classificadas em dois grandes grupos: **recalcitrantes** ou sementes sensíveis à dessecação, que não sobrevivem com baixos níveis de umidade, o que impede o seu armazenamento por longo prazo e **ortodoxas**, que se mantêm viáveis após dessecação até um grau de umidade em torno de 5% e podem ser armazenadas sob baixas temperaturas por um longo período (ROBERTS, 1973). Posteriormente, acrescentou-se a esta classificação um terceiro grupo, denominado como **intermediárias**, que são sementes que toleram o dessecamento parcial e perdem a viabilidade quando expostas às temperaturas subzero (SALOMÃO e SOUSA SILVA, 2003).

Ewart, em 1908, propôs uma classificação da longevidade de sementes, válida para condições naturais, onde dividiu as sementes em três grupos: **microbióticas** – sementes com período de vida inferior a 3 anos, incluindo a maioria das recalcitrantes; **mesobióticas** – sementes com período de vida superior a 3 e até 15 anos no máximo; e **macrobióticas** – sementes que mantêm a viabilidade por mais de 15 anos (EWART citado por HONG e ELLIS, 2003). Entretanto, a classificação de Ewart não é aplicável para condições artificiais, porque a maioria das sementes, quando tiradas do ambiente natural, têm sua fisiologia alterada e pode ter seu período de vida ampliado ou reduzido, o que irá depender da espécie e das condições de armazenamento (KRAMER e KOZLOWSKI, 1972).

## 4.2 Caracterização das espécies estudadas

### 4.2.1 *Anadenanthera falcata* – Angico

*Anadenanthera falcata* Benth. Speg., é popularmente conhecida como angico preto, angico cascudo. Trata-se de uma espécie pioneira a secundária inicial, sendo heliófila, medianamente tolerante a baixas temperaturas (LORENZI, 1992).

A espécie é recomendada para recuperação de terrenos erodidos e para locais sujeitos a inundações periódicas de rápida duração (CARVALHO, 2003). Os frutos amadurecem de agosto a novembro. Planta melífera, é muito utilizada na arborização de ruas, e na medicina popular, é utilizada para curar feridas e exsuda uma goma-resina usada no tratamento de moléstias pulmonares (ALMEIDA et al. 1998).

Santos (2002) observou que o chá da casca da árvore combate tosse e bronquite, e também anginas e desinteria.

É uma árvore que pode chegar até 35 m de altura, com tronco de casca grossa de cor cinza, fendida longitudinalmente. As folhas são alternas e compostas por folíolos pequenos (até 4 mm de comprimento) e alongados. Cada ramificação da folha (pina) pode conter até 100 pares de folíolos. As inflorescências são globosas, agrupando até 120 pequenas flores de cor creme, hermafroditas ou unissexuais. Os frutos são legumes com cerca de 20 cm de comprimento de cor castanha, que abrem em 2 partes para expor muitas sementes escuras e achatadas (LORENZI, 1992).

É uma espécie autocórica, podendo ser pioneira ou secundária inicial. O peso médio de 100 sementes é 4,7 g, sendo que estas podem permanecer armazenadas por um período de 1 a 2 anos, em saco de papel dentro de saco plástico, em temperatura de 6 °C. ALMEIDA et al.(1998) obtiveram uma taxa de germinação de 95% para sementes de angico, em um período de cinco a oito dias, utilizando a temperatura constante de 25 °C .

Scalon Filho et al. (2006), testou a germinação de sementes de angico que foram submetidas aos seguintes tratamentos pré-germinativos: imersão por 12 horas em água e imersão por 24 horas em água, e obteve entre 35,9% e 48,48% de germinação.

#### **4.2.2 *Copaifera langsdorffii* - Copaíba**

A copaíba pertence a família Fabaceae–Caesalpiniaceae. É uma espécie arbórea presente nas florestas primárias ou secundárias bem desenvolvidas (REIS e MARIOT, 1999). Trata-se de uma planta decídua à semidecídua, heliófita, seletiva xerófita, com 5 a 15 m de altura e 20 a 60 cm de DAP (LORENZI, 1992).

O fruto possui 4 a 5 cm de comprimento por 2 a 3 cm de largura. É uma vagem seca, unispermo, deiscente, estipitado, de coloração vermelha quando jovem e marrom ao atingir a maturidade. A semente tem 10 a 19 mm de comprimento por 7 a 10 mm de largura, de formato elipsóide, envolta parcialmente por um arilo alaranjado. As sementes têm (nos cotilédones) reservas amilóides, proteínas e óleos em abundância (CRESTANA e BELTRATI, 1988).

A semente é exalbuminosa, sendo a maioria elipsóide, podendo-se encontrar algumas com formato irregular. A testa é lisa, de coloração negra e brilhante. O hilo é

homócromo, linear, curto, localizado na base da semente, micrópila inconspícua, calaza pouco distinta e rafe ventral (GUERRA et al., 2006).

As sementes de copaíba possuem comportamento ortodoxo e podem ser conservadas por longo prazo (CARVALHO, 1994), mantendo a capacidade germinativa por cinco anos, quando armazenadas em embalagem hermética e conservadas a  $10 \pm 2^\circ\text{C}$  (FERREIRA et al., 2001).

Borges et al. (1982) testaram alguns métodos para quebra de dormência de sementes de copaíba, sendo os mais eficientes: a estratificação em areia úmida durante 15 dias a  $5^\circ\text{C}$  e a imersão em água parada por 24, 48, 72 e 96 horas à temperatura ambiente.

Durigan et al. (1997) e Almeida et al. (1998) atribuem a germinação lenta e desuniforme dessa espécie, que se estende por até 70 dias, a uma dormência ocasional, e propuseram os seguintes tratamentos para superá-la: imersão em água fria por 18 a 72 horas; imersão em ácido sulfúrico 98% por três a dez minutos; escarificação mecânica (com lixa, areia ou pedras de carboneto de silício); imersão em éter por 20 minutos; estratificação em areia úmida por 15 dias.

SOUSA-SILVA et al. (2001) recomendaram a retirada do arilo, seguido do procedimento de escarificação mecânica da semente e o uso da temperatura constante de  $25^\circ\text{C}$  para aumentar a taxa de germinação. Os autores observaram uma taxa de germinação de 86%, em um período de 17 a 40 dias.

Devido à sua plasticidade ecológica, mesmo apresentando crescimento lento, trata-se de espécie prioritária para reflorestamento em áreas degradadas de preservação permanente, principalmente na recomposição de mata ciliar (CARVALHO, 1994; DURIGAN et al., 1997).

Referindo-se ao estágio sucessional, a espécie é classificada como secundária tardia a clímax (CARVALHO, 1994). Segundo Joly (1970), a copaíba é encontrada tanto em áreas de cerrado como em áreas de florestas. Desenvolve-se melhor em solos de matas ciliares e matas semidecíduas (MACHADO, 1990).

O óleo de copaíba é usado na medicina popular como antiinflamatório, cicatrizante e antimicrobiano (CORRÊA, 1984; VEIGA JUNIOR. et al., 1997).

#### 4.2.3 *Enterolobium contortisiliquum* - Tamboril

O *Enterolobium contortisiliquum* pertence a família Fabaceae. É uma árvore decídua e frondosa que pode alcançar até 35 metros de altura. Possui folhas compostas, bipinadas, com 3 a 7 pares de pequenos folíolos oblongos. As inflorescências surgem na primavera e são do tipo capítulo, globosas, com cerca de 10 a 20 flores brancas (LORENZI 1992).

Ocorre naturalmente em florestas pluviais e semidecíduas do norte ao sul do Brasil. É uma espécie pioneira, de crescimento inicial rápido, rústica, sendo apropriada para reflorestamento (CARVALHO, 1994).

Segundo Carvalho (2003), é uma espécie comum na vegetação secundária: em clareiras, capoeirões e em matas degradadas, onde se estabelece uma regeneração acentuada.

Os frutos são vagens recurvadas e semilenhosas que surgem verdes e tornam-se pretos ao atingir a maturidade fisiológica (LORENZI 1992). Os frutos devem ser coletados diretamente da árvore ao iniciar a queda espontânea e postos para secar, no intuito de facilitar a abertura manual. A superfície do fruto é glabra, profundamente reentrante junto ao pedicelo, possuindo um formato semelhante à orelha humana.

Cada vagem possui de 2 a 12 sementes, que são glabras, elipsóides, com tegumentos lisos e duros, brilhantes, exalbuminosas.

Nos frutos e na casca encontra-se uma substância conhecida por saponina, que é aproveitada na produção de sabões (LORENZI, 1992). Contudo, a saponina dos frutos é extremamente tóxica, e provoca intoxicações em herbívoros.

A semente apresenta dormência evidenciada pela impermeabilidade de tegumento (CARVALHO 1994). Em cada quilograma de sementes são encontradas cerca de 3600 unidades (LORENZI, 1992).

Lêdo (1977) comparou tratamentos de escarificação física (desponte), água fervente e imersão em ácido sulfúrico (100%) para verificar a superação de dormência de sementes de tamboril. O autor concluiu que o uso de ácido sulfúrico foi eficiente ao passo que o tratamento da água quente não apresentou resultados satisfatórios.

Borges *et al.* (1980) aplicaram a técnica do desponte na extremidade oposta ao embrião, e obtiveram altos índices de germinação.

## **4.3 Testes Clássicos de Análise de Sementes**

### **4.3.1 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).

Durante o processo de germinação, ocorrem alterações na composição química da semente e no consumo de substâncias de reserva, tais como carboidratos, lipídios e proteínas, os quais fornecem energia e material para o desenvolvimento do embrião (BORGES e RENA, 1993).

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).

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).

### 4.3.2 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio, também conhecido por teste bioquímico de vitalidade, é uma técnica usada para estimar a viabilidade, bem como o vigor das sementes (DESWAL e CHAND, 1997).

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases nos processos respiratórios dos tecidos. Durante a respiração, ocorre a liberação de íons hidrogênio, com os quais o sal 2,3,5 trifenil cloreto de tetrazólio reage formando uma substância de cor vermelha e insolúvel, denominada de formazan, nos tecidos vivos da semente (DELOUCHE et al., 1976). O mesmo não se processa em tecidos inviáveis que se mantêm na cor original.

Uma condição fundamental para se garantir a eficiência do teste é o contato direto da solução de tetrazólio com os tecidos da semente a ser testada. Em razão da impermeabilidade da maioria dos tegumentos das sementes de essências florestais, faz-se necessário a adoção de um preparo prévio das sementes que receberão o teste. Este preparo baseia-se em facilitar a entrada da solução na semente. Dentre os preparos que antecedem o teste, tem-se: corte do tegumento, remoção do tegumento, escarificação por lixa, escarificação por água quente e embebição em água (BRASIL, 1992).

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 (DE SOUZA, 1994).

Além do preparo prévio das sementes, fatores como a concentração da solução ou mesmo o tempo de coloração na solução podem afetar a eficiência do teste na avaliação da qualidade das sementes. O período necessário para o desenvolvimento da coloração adequada, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992), varia de acordo com cada espécie, podendo ser entre 30 e 240 minutos.

O teste de tetrazólio vem sendo amplamente utilizado em sementes de várias espécies, devido à rapidez e à eficiência na caracterização da viabilidade e vigor de sementes, além da possibilidade de distinção de danos às mesmas, auxiliando no processo

de controle de qualidade, desde as etapas da colheita, ao armazenamento (GRIS et al, 2007).

## **4.4 Testes Alternativos de Análise de Sementes**

### **4.4.1 Teste de condutividade elétrica**

O desenvolvimento de testes para a avaliação da qualidade fisiológica em sementes, bem como a padronização destes, é essencial para a constituição de um eficiente controle de qualidade (MUNIZ et al., 2004).

Uma das principais exigências para a avaliação do vigor de sementes refere-se à obtenção de resultados confiáveis em um período de tempo relativamente curto, permitindo a agilização das tomadas de decisão, principalmente, no que se refere às operações de colheita, processamento e comercialização (DIAS e MARCOS FILHO 1996).

A literatura aponta que os testes rápidos mais estudados estão relacionados com os eventos iniciais da seqüência de deterioração proposta por Delouche e Baskin (1973), e a degradação das membranas celulares e a redução das atividades respiratórias e biossintéticas estudadas por Dias e Marcos Filho (1996).

O teste de condutividade elétrica baseia-se no princípio de que com o processo de deterioração ocorre a lixiviação dos constituintes celulares das sementes embebidas em água devido à perda da integridade dos sistemas celulares. Assim, baixa condutividade significa alta qualidade da semente e alta condutividade, ou seja, maior saída de lixiviados da semente, sugere o menor vigor desta (VIEIRA e KRZYZANOWSKI, 1999).

A medição da condutividade elétrica por meio da quantidade de eletrólitos liberados pela semente na água de embebição tem sido aplicada, de modo mais freqüente, em uma amostra de sementes representativa de uma população (método massal). Neste caso, apresenta a desvantagem de que os resultados expressam a condutividade média de um grupo de sementes, onde poucas sementes mortas podem afetar a condutividade de um lote com muitas sementes de alta qualidade. Para minimizar esse problema, recomenda-se escolher as sementes, excluindo-se as sementes danificadas.

#### **4.4.2 Teste de raios-X**

O teste baseia-se no princípio da obtenção de imagens com o emprego de raios-X. A radiação do teste é absorvida de acordo com a espessura, densidade e composição da semente. Assim, quando a radiação atravessa a semente, cria-se a uma imagem permanente no filme radiográfico (BINO et al., 1993). O nível de absorção dos raios-X pelas sementes depende de fatores como: a composição, a densidade dos tecidos e do comprimento de onda da radiação ionizante (SIMAK, 1980; ISTA, 1993).

O uso da radiografia por meio de raios-X de baixa energia para determinar a qualidade física das sementes é recomendado por ser um método rápido e não destrutivo, podendo ser indicado para detectar sementes cheias, vazias, com danos mecânicos ou ataque de insetos (ISTA, 1993).

O teste de raios-X foi usado em pesquisas com sementes por Simak e Gustafsson na década de 50, para avaliar a qualidade de sementes de *Pinus sylvestris* L (SIMAK, 1991).

Por se tratar de um método não destrutivo, vem sendo utilizado também com o propósito de gerar e analisar imagens complementares ao teste de germinação (BINO et al., 1993), avaliar danos mecânicos (ESCASINAS e HILL, 1988; CARVALHO et al., 1999) e dimensionamento interno das sementes (GIRARDIN et al., 1993; LIU et al., 1993).

Aspectos morfológicos das sementes, possivelmente associados à vitalidade, podem ser avaliados pelo teste de raios-X (COPELAND e MCDONALD, 1985). Procura-se relacionar a anatomia das sementes com a germinação ou morfologia de plântulas; essa correspondência tem variado de acordo com a espécie (SIMAK, 1991).

Sementes testadas por este método devem ser impregnadas por solução contraste como metais e água, antes de serem submetidas à radiografia (POULSEN et al., 1998).

A viabilidade das sementes submetidas ao comprimento de onda dos raios X não é comprometida devido às baixas intensidades utilizadas (BINO et al. 1993 e ISTA, 1993).

#### **4.4.3 Teste de envelhecimento acelerado**

O teste de envelhecimento acelerado baseia-se no aumento da taxa de deterioração das sementes, pela sua exposição a fatores ambientais de maior influência na intensidade e velocidade de germinação, como níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar.

Assim, as sementes são consideradas mais vigorosas quando deterioram mais lentamente, após serem submetidas ao envelhecimento acelerado, podendo suportar melhor às condições adversas no campo e armazenamento (MARCOS FILHO, 1994).

O teste é simples de conduzir e avaliar, podendo ser aplicado como teste de referência para avaliar o vigor de sementes. Entretanto, apresenta fontes de variação como: temperatura, teor de umidade das sementes, e características genéticas, que podem influenciar no resultado final (MELLO e TILLMANN, 1987).

O teste foi desenvolvido com a finalidade de estimar a longevidade de sementes armazenadas, considerando que lotes de sementes de alto vigor mantêm sua viabilidade quando submetidos, durante curtos períodos de tempo, a condições severas de temperatura e umidade relativa do ar (DELOUCHE e BASKIN, 1973). Essas condições ocasionam a deterioração das sementes e favorecem o aparecimento, na germinação subsequente, de anormalidades ou morte (GUPTA et al., 1993).

#### **4.4.4 Teste de pH do exsudato**

O teste de pH do exsudato 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.

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, ocorrem 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).

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). Estes autores concluíram que o período de 30 minutos de embebição é o mais eficiente para estimar o poder germinativo das sementes.

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.

A perda da integridade das membranas, com a conseqüente lixiviação de íons, em quantidades diferentes, se dão em função do grau de deterioração das sementes (CABRERA et al. 2002). Tal fato possibilita o emprego de testes rápidos para avaliar a viabilidade e o vigor. Sementes com baixa viabilidade e vigor apresentam maior lixiviação de solutos que sementes vigorosas e com alta germinação. Isto se relaciona com a baixa emergência no campo (CABRERA et al. 2002).

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, a exemplo da soja (SANTANA et al 1998).

## **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1 Descrição esquemática do método utilizado**

A figura 1 representa um esquema do método aplicado por este estudo. Foi realizada a coleta das sementes das três espécies utilizadas no estudo. Os lotes coletados foram homogeneizados e tiveram amostras retiradas para serem submetidas ao teste de germinação. Este teste foi realizado com o objetivo de verificar a condição de viabilidade das sementes coletadas para estabelecer a comparação entre os resultados obtidos e os resultados apresentados pelo teste de pH de exsudato. Durante o teste de germinação aplicou-se diferentes tratamentos para a superação de dormência, pois a presença deste mecanismo nas sementes estudadas comprometeria a comparação dos resultados de germinação e pH de exsudato.

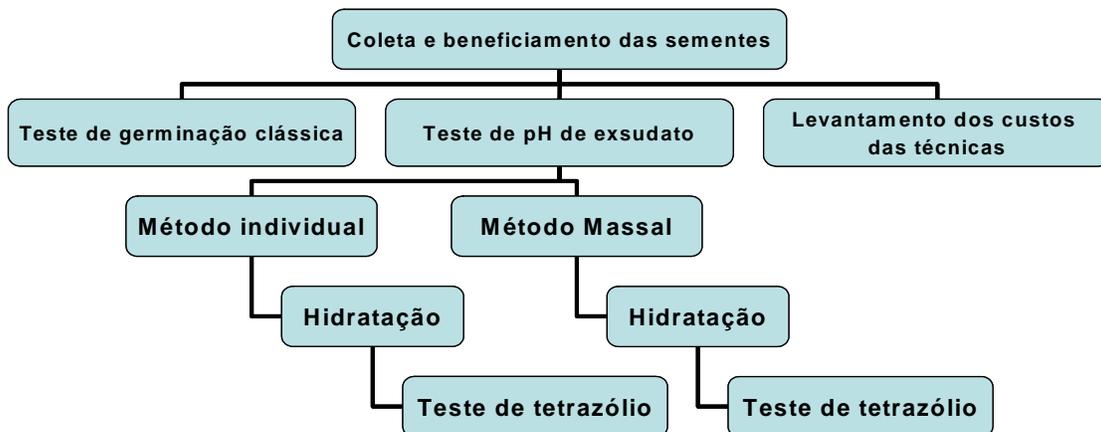


Figura 1: Esquema do método adotado por este estudo

Pelo esquema mostrado pela Figura 1, a parte restante das sementes coletadas foi destinada para realização do teste de pH de exsudato por dois métodos (individual e massal). Após a realização do teste de pH de exsudato as sementes eram postas em hidratação e em seguida submetidas ao teste de tetrazólio, que foi utilizado para verificar se os dados obtidos pelo teste de pH eram confiáveis para sementes florestais.

## 5.2 Coleta das sementes

Foram coletadas sementes em 7 matrizes por espécie, em áreas de cerrado *sensu stricto* naturais do Distrito Federal. As áreas onde se encontravam as matrizes tiveram sua localização marcada com o auxílio de aparelho GPS GARMIN Vista (TABELA 1). A coleta foi realizada diretamente da árvore, próximo ao período de maturidade fisiológica dos frutos. A utilização de matrizes de diferentes procedências teve por objetivo garantir a validade da técnica por espécie. A marcação das coordenadas das áreas de coleta disponibilizam o acesso às matrizes com boa produção de sementes, favorecendo a coleta de material para futuros estudos.

Após a coleta foi realizado o beneficiamento das sementes. Realizou-se a homogeneização dos lotes, para que a técnica possa ser validada por espécie. Após a homogeneização, os lotes foram armazenados em embalagens herméticas em temperatura ambiente, até a realização dos testes.

TABELA 1: Localização das áreas de coleta por espécie e época da coleta.

| Áreas    | Coordenadas                | Época da coleta |
|----------|----------------------------|-----------------|
| Angico   | S15° 48. 100' W047°51.049' | Outubro /2008   |
| Angico   | S15° 48. 177' W047°51.061' | Outubro /2008   |
| Angico   | S15° 51. 132' W047°51.379' | Setembro /2008  |
| Copaíba  | S15° 51. 132' W047°51.379' | Agosto /2008    |
| Copaíba  | S15° 50. 132' W047°51.379' | Julho /2008     |
| Tamboril | S15° 45. 818' W047°52.287' | Setembro /2008  |
| Tamboril | S15° 45. 587' W047°52.202' | Outubro /2008   |

### 5.3 Assepsia das sementes e recipientes

Com o intuito de se realizar um controle rigoroso da possível contaminação por fungos e bactérias, as sementes passaram por um processo de assepsia. As sementes foram imersas em solução de hipoclorito de sódio 2% por 5 minutos. Ao término do período de 5 minutos, as sementes foram lavadas em água corrente, sendo secas por papel toalha, para serem armazenadas após 24 horas. Esse período foi adotado para que as sementes fossem armazenadas estando completamente secas. Seguida da secagem, as sementes foram misturadas para homogeneizar os lotes testados. Após a homogeneização, as sementes foram acondicionadas em sacolas plásticas herméticas, mantidas em temperatura ambiente, até o momento da realização dos testes.

O mesmo tratamento de descontaminação foi aplicado nas pinças e demais vidrarias utilizadas ao longo dos testes.

### 5.4 Teste de germinação convencional

Os lotes de sementes das espécies usadas neste estudo tiveram amostras testadas pelo método da germinação clássica. O teste foi realizado segundo as normas de análise de sementes (BRASIL, 1992). As sementes de espécies que apresentavam mecanismo de dormência foram previamente tratadas de acordo com as causas da dormência. Os testes foram aplicados em 7 repetições de 20 sementes. O critério adotado para verificação da germinação foi o critério botânico, onde se considera germinada a semente que tenha emitido a radícula de pelo menos 2,0 mm de comprimento. A duração do teste foi de 30

dias, com monitoramento diário de umidade. O objetivo da aplicação do teste foi obter um parâmetro da viabilidade dos lotes testados para avaliar o desempenho do testes de pH de exsudato.

#### **5.4.1 Teste de germinação convencional para Angico (*Anadenanthera falcata*)**

A germinação do Angico foi realizada utilizando dois métodos distintos quanto à escarificação das sementes. No primeiro tratamento as sementes íntegras sem tratamento algum foram postas para germinar em rolos de papel filtro, que foram depositados em sacolas plásticas herméticas (ZIPLOC). As sacolas contendo os rolos de sementes foram acondicionadas em câmara de temperatura constante regulada para 25°C e fotoperíodo de 8 horas. No segundo tratamento as sementes receberam um pequeno corte no tegumento e foram posta a germinar em rolos de papel filtro, que foram depositados em sacolas plásticas herméticas (ZIPLOC).As sacolas contendo os rolos de sementes foram acondicionados em câmara de temperatura constante regulada para 25°C e fotoperíodo de 8 horas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância.

#### **5.4.2 Teste de germinação convencional para Copaíba (*Copaifera langsdorffii*)**

O teste de germinação foi realizado, objetivando saber a viabilidade das sementes do lote coletado. Para tal foi necessário verificar o melhor método de superação de dormência para copaíba, para que se obtivesse dados precisos sobre a viabilidade das sementes coletadas. Foram realizados quatro tratamentos distintos de superação de dormência para sementes de copaíba, baseados nas recomendações encontradas na literatura.

Os tratamentos de superação propostos foram baseados nos dados obtidos por SOUSA-SILVA et al. (2001) e DURIGAN et al.(1997).

No tratamento 1, as sementes foram postas em água fria por um período de 24 horas, seguido de uma incisão no tegumento. Após este tratamento as sementes foram postas para germinar em caixas do tipo GERBOX, contendo vermiculita, sendo mantidas em câmara de temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 8 horas ao longo de trinta dias.

O tratamento 2 baseou-se em submeter as sementes ao banho de imersão em solução de ácido giberélico a 3% ao longo de três horas. Após este período as sementes foram postas para germinar em caixas do tipo GERBOX, contendo vermiculita como substrato. As sementes foram mantidas em câmara de temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 8 horas por trinta dias.

No tratamento 3, as sementes receberam pequenos cortes que removiam uma porção mínima do tegumento. Após o procedimento, as sementes foram postas para germinar em caixas do tipo GERBOX, contendo vermiculita como substrato. As sementes foram mantidas em câmara de temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 8 horas por trinta dias.

O tratamento 4 consistiu em por as sementes em banho de imersão por 48 horas. Após este período as sementes foram postas para germinar em caixas do tipo GERBOX, contendo vermiculita como substrato. As sementes foram mantidas em câmara de temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 8 horas por trinta dias. Para comparação dos tratamentos foi implantado um experimento controle, contendo o mesmo numero de repetições, onde as sementes sem nenhum tratamento para superação de dormência foram postas para germinar em caixas do tipo GERBOX, contendo vermiculita.

O experimento controle ou tratamento 5 foi mantido em câmara de temperatura constante de 25° C e fotoperíodo de 8 horas ao longo de trinta dias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância.

### **5.4.3 Teste de germinação convencional para Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)**

A germinação do Tamboril foi realizada utilizando três métodos distintos quanto a escarificação das sementes. No primeiro tratamento as sementes foram lixadas em uma pequena porção do tegumento. A germinação foi realizada em rolos de papel filtro, que foram postas em sacolas plásticas herméticas (ZIPLOC). As sacolas contendo os rolos de sementes foram acondicionadas em câmara de temperatura constante regulada para 25°C e fotoperíodo de 8 horas.

No segundo tratamento as sementes tiveram suas pontas removidas com o auxílio de tesoura de poda, sendo postas para germinar em rolos de papel filtro, acondicionados

em sacolas plásticas herméticas (ZIPLOC). As sacolas contendo os rolos de sementes foram acondicionadas em câmara de temperatura constante regulada para 25°C e fotoperíodo de 8 horas.

No terceiro tratamento as sementes foram imersas em água quente por um período de 10 minutos. As sementes foram removidas do banho e postas para germinar em rolos de papel filtro, que foram acondicionados em sacolas plásticas herméticas (ZIPLOC) e mantidas em câmara de temperatura constante regulada para 25°C e fotoperíodo de 8 horas.

Para comparação dos tratamentos foi implantado um experimento controle ou tratamento 4, contendo o mesmo número de repetições, onde as sementes sem nenhum tratamento para superação de dormência foram postas para germinar em rolos de papel filtro, que foram acondicionados em sacolas plásticas herméticas (ZIPLOC) e mantidas em câmara de temperatura constante regulada para 25°C e fotoperíodo de 8 horas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância.

## **5.5 Teste de pH do exsudato individual**

São denominadas soluções indicadoras de pH, substâncias orgânicas que mudam gradualmente de coloração, dentro de uma faixa de pH relativamente estreita (OHLWEILER, 1974).

Para a execução do teste, foram formuladas duas soluções indicadoras: (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. Estas concentrações das soluções indicadoras foram baseadas nas análises realizadas por Cabrera e Peske (2002).

O tempo de embebição das sementes adotado foi de trinta minutos. Este tempo foi baseado nos dados de Amaral e Peske (1984).

Foram empregados três tratamentos para este método. O primeiro tratamento consistiu em pôr as sementes íntegras em copos descartáveis individualizados, contendo 10 mL de água destilada fervida, numa temperatura de 25°C por 30 minutos. Após este período adicionou-se ao conjunto uma gota de cada solução indicadora, que foram misturados com o auxílio de bastonetes plásticos descartáveis. A leitura foi realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição.

O segundo tratamento consistiu em pôr as sementes com uma pequena incisão no tegumento, em copos descartáveis individualizados, contendo 10 mL de água destilada fervida, na câmara de temperatura constante por 30 minutos. Após este período foi adicionada uma gota de cada solução indicadora por conjunto, que eram misturadas com o auxílio de um bastonete plástico. A leitura foi realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a água destilada onde estiveram imersas as sementes.

No terceiro tratamento, as sementes tiveram seus tegumentos lixados. Foram postas para embeber em água destilada, permanecendo por 30 minutos em câmara de temperatura constante de 25°C. Ao término deste período foi adicionada a cada copo, uma gota de cada solução indicadora. A leitura foi realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a água onde estiveram imersas as sementes.

As soluções de embebição que permanecerem cor de rosa indicaram sementes viáveis, ao passo que soluções de embebição que ficarem incolores indicaram sementes inviáveis.

Foram adotadas sete repetições de 20 sementes por tratamento para cada espécie. A interpretação foi realizada com base na coloração das soluções de embebição. Os resultados foram expressos em valores percentuais. Após a leitura do teste de pH, as sementes eram postas para hidratar, ao longo de 6 horas, para serem encaminhadas para o teste de tetrazólio a 0,5% de concentração. O teste de tetrazólio foi usado para comprovar a validade dos resultados apresentados pelo teste de pH de exsudato.

Após o período de 24 horas de contato das sementes com a solução de tetrazólio, eram realizadas as leituras.

Para o teste de tetrazólio foram consideradas viáveis as sementes que coloriam o eixo embrionário de forma uniforme. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância.

## **5.6 Teste de pH de exudato pelo método massal**

O método massal consiste em avaliar as sementes em conjuntos. Para este método foram formuladas duas soluções indicadoras: (1) A solução indicadora de fenoltaleína que é composta de 1 g de fenoltaleína 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. Estas concentrações das soluções indicadoras foram baseadas nas análises realizadas por Cabrera e Peske (2002).

O tempo de embebição das sementes adotado foi de trinta minutos. Este tempo foi baseado nos dados de Amaral e Peske (1984).

Foram adotadas sete repetições, cada repetição continha um conjunto de 20 sementes, por espécie.

Foram empregados três tratamentos para o método massal. O primeiro tratamento consistiu em pôr as sementes íntegras em copos descartáveis identificados por repetição, contendo 200 mL de água destilada fervida, numa temperatura de 25°C por 30 minutos. Após este período, adicionou-se ao conjunto 20 gotas de cada solução indicadora, que foram misturados com o auxílio de bastonetes plásticos descartáveis. A quantidade de solução indicadora procurou seguir a proporção utilizada no teste individual, no que se refere à quantidade de água destilada usada no processo de embebição. A leitura foi realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição.

O segundo tratamento consistiu em pôr as sementes com uma pequena incisão no tegumento em copos descartáveis identificados por repetição, contendo 200 mL de água destilada fervida, na câmara de temperatura constante por 30 minutos. Após este período foram adicionadas 20 gotas de cada solução indicadora por conjunto, que eram misturadas com o auxílio de um bastonete plástico. A leitura foi realizada imediatamente após do contato da solução com a água destilada onde estiveram imersas as sementes.

No terceiro tratamento, as sementes tiveram seus tegumentos lixados. Foram postas para embeber em água destilada, permanecendo por 30 minutos em câmara de temperatura constante de 25°C. Ao término deste período foram adicionadas a cada repetição, 20 gotas de cada solução indicadora. A leitura foi realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a água onde estiveram imersas. Foram sete repetições de 20 sementes por tratamento para cada espécie. A interpretação foi realizada com base na coloração dos exsudatos resultantes.

Os resultados foram expressos em valores percentuais. Após a leitura do teste de pH, as sementes eram postas para hidratar, ao longo de 6 horas para serem encaminhadas para o teste de tetrazólio a 0,5% de concentração.

Após o período de 24 horas de contato das sementes com a solução de tetrazólio, eram realizadas as leituras. Para o teste de tetrazólio foram consideradas viáveis as sementes que coloriram o eixo embrionário de forma uniforme. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 1% de significância.

Segundo Peternelli (2008) o intervalo de confiança é uma medida importante da informação obtida da amostra. Para os métodos individual e massal do teste de pH de exsudato, foi estabelecido um intervalo de confiança de 90%. Isto significa dizer que, os resultados obtidos pelo teste de pH de exsudato não devem diferir mais que 10 pontos percentuais dos resultados do teste de germinação (no tratamento de melhor desempenho de superação de dormência) e do teste de tetrazólio (utilizado para comprovar os resultados do teste de pH de exsudato) para que o teste seja aceito como um teste confiável.

## **5.7 Análise de custos dos testes realizados**

A análise econômica de um investimento envolve o uso de técnicas e critérios de análise que comparam os custos e receitas inerentes ao projeto, visando verificar se este deve, ou não, ser implementado (REZENDE e OLIVEIRA 2001).

A análise proposta para verificar a viabilidade econômica do teste de pH de exsudato trata-se de uma comparação do custo total de aquisição dos insumos do teste de tetrazólio, germinação e pH de exsudato.

Os preços foram levantados nas lojas onde foram adquiridos os materiais para a execução dos testes (ANEXO A). O critério observado foi o custo do teste de pH, que deveria ser menor ou igual ao custo dos testes convencionais, para que o teste fosse apontado como uma técnica economicamente viável.

## **6. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **6.1 Teste de germinação convencional**

#### **6.1.1 Teste de germinação convencional para Angico (*Anadenanthera falcata*)**

As sementes, em ambos os tratamentos, foram submetidas às mesmas condições de temperatura constante, umidade e luminosidade. Os tratamentos testados foram o corte de tegumento na porção oposta ao eixo embrionário e sementes com tegumentos íntegros. No tratamento onde os tegumentos recebem cortes, a germinação das sementes de angico ocorreu num período de uma semana. Verificou-se que o tratamento de corte do tegumento das sementes foi importante, pois aumentou a quantidade de sementes germinadas em relação às sementes que não receberam o corte no tegumento (TABELA 2).

A aplicação do corte de tegumento uniformizou a germinação, fato que é verificado ao se comparar o percentual de germinação ao longo das repetições entre o teste com sementes que não receberam o tratamento de corte e as que receberam (TABELA 2).

TABELA 2: Resultados da germinação das sementes de Angico (*Anadenanthera falcata*) submetidas ao tratamento de escarificação por corte do tegumento e testemunha

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1<br>(s/corte) | Tratamento 2<br>( c/ corte) |
|--------------|---------------------------|-----------------------------|
| 1            | 80 %                      | 100 %                       |
| 2            | 85 %                      | 95 %                        |
| 3            | 80 %                      | 90 %                        |
| 4            | 85 %                      | 100 %                       |
| 5            | 85 %                      | 90 %                        |
| 6            | 80 %                      | 100 %                       |
| 7            | 90 %                      | 85 %                        |
| <b>TOTAL</b> | <b>83,57 %</b>            | <b>94,28 %</b>              |

O uso do tratamento de corte de tegumento é recomendável por aumentar o percentual de sementes germinadas.

Em virtude da coloração do tegumento, é difícil perceber quaisquer tipos de injúria, broca ou defeito nas sementes. As sementes não germinadas se dividiram em dois grupos: 1) sementes que apresentavam embriões com injúrias, visualizadas com auxílio de lupa estereoscópica, após a remoção do tegumento; 2) sementes com embriões pouco desenvolvidos ou abortados. Cerca de 16,43% e 5,72% das sementes amostradas apresentam estas características no controle no tratamento de corte do tegumento, respectivamente. Essa quantidade de sementes defeituosas não reflete a qualidade do lote coletado, pois a germinação média foi de 88,92 % (TABELA 3).

TABELA 3 : Análise de variância para efeito do corte do tegumento na germinação em sementes de angico (*Anadenanthera falcata*)

| FV         | QM   |                   |
|------------|------|-------------------|
|            | G.L. | Variável original |
| Tratamento | 1    | 401,78*           |
| Resíduo    | 12   | 25,59             |
| Média      | --   | 88,92             |
| CV         | --   | 5,68              |

\* significativo ao nível de 1%

O teste de Tukey (TABELA 4) mostra diferença entre os tratamentos ao comparar as médias obtidas, e demonstra que o tratamento 2 é melhor que o tratamento 1; embora a diferença entre os tratamentos seja menor que 10 pontos percentuais (TABELA 2). O tratamento 2 apresentou também a vantagem de promover a germinação em menor espaço de tempo, pois cerca de 90% das sementes submetidas ao tratamento germinaram até o 4º dia após o início do teste, ao passo que as sementes sem corte germinaram em sua maioria após o 8º dia de teste. O valor da germinação encontrado para o tratamento 2 é bastante próximo do valor encontrado por Almeida et al. (1998) nas mesmas condições de temperatura.

TABELA 4: Comparação pelo teste de Tukey para a germinação de sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) submetidas ao corte do tegumento

| Tratamento         | médias | Comparações |
|--------------------|--------|-------------|
| Sementes com corte | 94,28  | A           |
| Sementes íntegras  | 83,57  | B           |

A redução do tempo de germinação justifica a utilização do tratamento de corte do tegumento, uma vez que Scalon Filho et al. (2006), ao testarem a germinação de sementes de angico sob os tratamentos pré-germinativos de imersão por 12 horas em água e imersão por 24 horas em água, obtiveram germinação entre 35,9% e 48,48% das sementes testadas.

O objetivo da realização do teste de germinação empregando ou não o corte do tegumento foi verificar as condições de viabilidade de amostras do lote a ser testado pela técnica de pH de exsudato. Estes resultados caracterizam a qualidade do lote coletado, o que implica que os resultados encontrados pelo teste de pH de exsudato não devem ser muito diferenciados destes valores para que a técnica seja aceita como uma técnica viável para análise de sementes de angico.

### 6.1.2 Teste de germinação convencional para Copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

O objetivo da realização do teste de germinação foi verificar as condições de viabilidade de amostras do lote a ser testado pela técnica de pH de exsudato. Os diferentes tratamentos de superação de dormência foram aplicados para que se verificasse a real condição de viabilidade do lote de sementes coletado, pois a dormência característica das

sementes de copaíba poderia comprometer a caracterização do lote e a comparação a ser estabelecida entre os resultados obtidos pela técnica de pH de exsudato e os resultados da germinação.

Os tratamentos utilizados para superação de dormência das sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) foram baseados nos resultados obtidos por SOUSA-SILVA et al. (2001) que recomendaram a retirada do arilo, seguido do procedimento de escarificação mecânica da semente e o uso da temperatura constante de 25 °C para aumentar a taxa de germinação; e DURIGAN et al (1997) que fizeram uso de banhos de imersão por diferentes períodos.

Os resultados dos tratamentos utilizados para superar a dormência das sementes de copaíba foram listados na TABELA 5. O tratamento de banho por 24 horas aliado ao corte do tegumento foi o mais eficiente. Todas as sementes germinaram no 12º dia do teste, após a aplicação do referido tratamento.

TABELA 5: Germinação das sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) após aplicação de diferentes tratamentos de superação da dormência

| <b>REPETIÇÃO</b> | <b>Tratamento 1<br/>(Banho+corte)</b> | <b>Tratamento<br/>2 (GA 3%)</b> | <b>Tratamento<br/>3 (corte)</b> | <b>Tratamento<br/>4 (controle)</b> | <b>Tratamento<br/>5 ( banho<br/>por 48<br/>horas)</b> |
|------------------|---------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---|
| <b>1</b>         | 100 %                                 | 85%                             | 70%                             | 65%                                | 60%   |
| <b>2</b>         | 100 %                                 | 70%                             | 60%                             | 35%                                | 40%   |
| <b>3</b>         | 95 %                                  | 60%                             | 75%                             | 45%                                | 50%   |
| <b>4</b>         | 100 %                                 | 95%                             | 70%                             | 30%                                | 55%   |
| <b>5</b>         | 95 %                                  | 55%                             | 75%                             | 45%                                | 25%   |
| <b>6</b>         | 100 %                                 | 80%                             | 70%                             | 50%                                | 20%   |
| <b>7</b>         | 100 %                                 | 70%                             | 60%                             | 40%                                | 25%   |
| <b>TOTAL</b>     | <b>98,57 %</b>                        | <b>73,57%</b>                   | <b>68,57%</b>                   | <b>44,28%</b>                      | <b>39,28%</b>   |

A Figura 2 mostra as sementes de copaíba, após serem removidas da vermiculita. As sementes foram tratadas com banho de imersão por 24 horas seguido de corte do tegumento, em teste de germinação realizado em câmara a 25°C, em gerbox transparente.



Figura 2: Sementes de copaíba germinadas após serem tratadas com banho de imersão seguido de corte no tegumento logo após a remoção da vermiculita

A análise estatística dos dados obtidos para germinação de sementes de copaíba submetidas aos tratamentos diferenciados de superação de dormência mostra uma média de 71.25% de germinação (TABELA 6), e um baixo coeficiente de variação. O coeficiente de variação tem aplicações na pesquisa para comparar a precisão de diferentes experimentos. Assim, quando um ensaio apresenta valores pequenos em relação à média, demonstra que houve um bom controle experimental dos ensaios (SANTANA e RANAL, 2004).

TABELA 6: Análise de variância dos tratamentos de germinação em sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

| FV         | QM |          |
|------------|----|----------|
|            | GL | Variável |
| Tratamento | 3  | 3467,55* |
| Resíduo    | 24 | 92,85    |
| Média      | -- | 71.25    |
| CV         | -- | 13.52    |

\* significativo a nível de 1%.

Os tratamentos tiveram suas médias comparadas pelo teste de médias de tukey (TABELA 7). Verifica-se que o tratamento banho por 24 horas seguido de corte do tegumento é eficaz na superação da dormência das sementes de copaíba. Os tratamentos em que as sementes são expostas ao ácido giberélico a 3% e que receberam apenas cortes nos tegumentos podem ser aplicados com uma eficiência boa, porém apresenta eficiência menor que o tratamento de banho seguido de corte. Pela comparação realizada por meio do Teste de Tukey, estes tratamentos não diferem estatisticamente (TABELA 7).

TABELA 7: Comparação pelo teste de Tukey para o teste de germinação de sementes de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

| <b>Tratamento</b> | <b>médias</b> | <b>Comparações</b> |
|-------------------|---------------|--------------------|
| Banho+incisão     | 98,57         | <b>A</b>           |
| Ácido giberélico  | 73,57         | <b>B</b>           |
| Corte             | 68,57         | <b>B</b>           |
| Controle          | 44,28         | <b>C</b>           |
| Banho por 48h     | 39,28         | <b>D</b>           |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey, 1%.

O tratamento em que as sementes permanecem em banho de imersão por 48 horas apresentou a menor média de germinação, sendo inferior ao valor encontrado pelo experimento controle (TABELA 7).

O valor percentual da germinação do experimento controle confirma a condição de dormência mencionada por Borges et al. (1982) e Almeida et al. (1998). O resultado obtido no tratamento de banho de imersão por 48 horas não corresponde ao resultado apresentado Durigan et al. (1997), que obteve um bom índice de germinação com o mesmo tratamento. Os diferentes resultados dos tratamentos de superação de dormência em uma mesma espécie podem ser explicados pelas variações genético-ambientais entre as várias populações utilizadas para análise. Diversos autores já observaram que espécies com ampla distribuição geográfica podem responder diferentemente aos tratamentos utilizados devido aos efeitos de adaptação e origem (BIANCHETTI, 1991; MALUF, 1992).

### **6.1.3 Teste de germinação convencional para Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)**

A TABELA 8 mostra os resultados obtidos para germinação das sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) após serem submetidas aos diferentes tratamentos de escarificação. Os tratamentos aplicados foram baseados nas recomendações feitas por BRASIL (1992).

TABELA 8: Resultado da germinação das sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) submetidas a diversos tratamentos de superação de dormência

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1<br>(c/lixa) | Tratamento 2<br>(c/desponte) | Tratamento 3<br>(água quente) | Tratamento 4<br>(controle) |
|--------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 1            | 100 %                    | 100%                         | 45%                           | 10%                        |
| 2            | 95 %                     | 100%                         | 40%                           | 5%                         |
| 3            | 100 %                    | 100%                         | 50%                           | 5%                         |
| 4            | 90 %                     | 100%                         | 5%                            | 10%                        |
| 5            | 100 %                    | 100%                         | 30%                           | 5%                         |
| 6            | 90 %                     | 100%                         | 30%                           | 10%                        |
| 7            | 90 %                     | 100%                         | 40%                           | 5%                         |
| <b>TOTAL</b> | <b>98,57%</b>            | <b>100%</b>                  | <b>34,28%</b>                 | <b>7,14%</b>               |

A técnica do desponte foi eficiente em 100% das sementes testadas e apresentou menor tempo para ocorrência da germinação, cerca de 3 dias em condições de câmara de germinação a 25°C, com fotoperíodo de 8 horas de luz, em rolo de papel filtro .

Os resultados obtidos pela técnica de desponte vão de encontro ao resultado obtido por Borges et al. (1980) que ao aplicarem a técnica do desponte na extremidade oposta ao embrião, obtiveram altos índices de germinação.

A técnica em que o tegumento é lixado também se mostrou bastante promissora, apresentando 98,57% de germinação. O mesmo não ocorre nos tratamentos de banho em água quente e controle, que apresentaram germinação média de 34,28% e 7,14% respectivamente (TABELA 8). Os resultados obtidos pelos tratamentos de água quente e controle confirmam os dados de Lêdo (1977). O autor comprovou em seu estudo que a impermeabilidade tegumentar das sementes de tamboril é um obstáculo para a germinação e obteve os menores índices de germinação ao utilizar água quente. O uso de água quente, embora seja uma técnica de fácil de execução, não foi uma alternativa eficaz para as sementes de tamboril do lote coletado.

O coeficiente de variação, ao apresentar valores pequenos em relação a média, demonstra que houve um bom controle experimental dos ensaios (SANTANA e RANAL , 2004). Embora o coeficiente de variação encontrado para os tratamentos realizados seja de 13.43 %, ainda pode-se considerar um bom controle experimental.

TABELA 9: Análise de variância para os tratamento de quebra de dormência aplicados às sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*).

| FV         | QM |           |
|------------|----|-----------|
|            | GL | Variável  |
| Tratamento | 3  | 14646,13* |
| Resíduo    | 24 | 63,09     |
| Média      | -- | 59,10     |
| CV         | -- | 13,43     |

\* significativo ao nível de 1%

Foi encontrada diferença significativa pela análise de variância. Em virtude disso, foi realizado o teste de médias para ilustrar as diferenças entre os diferentes tratamentos de superação de dormência das sementes de tamboril.

Pelo teste de Tukey (TABELA 10) percebe-se que há diferença estatística nos resultados obtidos pelas técnicas de lixa, desponte, água quente e controle. Ressalta-se que ambas as técnicas, de desponte e lixa dos tegumentos foram eficazes na superação da dormência tegumentar das sementes de tamboril.

TABELA 10: Comparação das médias de tratamentos de quebra de dormência aplicados às sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) pelo teste de Tukey, 1%

| Tratamento  | Médias | Comparações |
|-------------|--------|-------------|
| Desponte    | 100    | A           |
| lixa        | 95     | A           |
| Água quente | 34,28  | B           |
| Controle    | 7,14   | C           |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tuckey, 1%

## 6.2 Teste de pH do exsudato individual

### 6.2.1 Teste de pH do exsudato individual para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*)

Peske e Amaral (1986) estudaram o pH do exsudato de sementes de soja usando como indicadores a fenolftaleína e o carbonato de sódio anidro e concluíram que o tempo de 30 minutos de embebição permitia distinguir, através da coloração do meio de embebição, sementes viáveis de inviáveis.

O objetivo de realizar o teste de tetrazólio, logo após a realização do teste de pH de exsudato, é verificar a veracidade dos resultados obtidos pelo teste de pH.

Na TABELA 11 estão dispostos os resultados obtidos para o teste de pH de exsudato e tetrazólio para as sementes nos três tratamentos realizados.

Foram consideradas viáveis pelo teste de pH de exsudato as sementes cujas soluções de embebição mantiveram-se rosa após do contato com as soluções indicadoras. Para o teste de tetrazólio, foram consideradas viáveis apenas as sementes que coloriram uniformemente o eixo embrionário e o material de reserva.

TABELA 11: Resultados dos testes de pH de exsudato e tetrazólio aplicados às sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) submetidas a diferentes métodos de preparo

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1 (sementes íntegras) | TZ Em sementes do T1 | Tratamento 2 (sementes c/ incisão) | TZ Em sementes do T2 | Tratamento 3 (lixadas) | TZ Em sementes do T3 |
|--------------|----------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|------------------------|----------------------|
| 1            | 90%                              | 90%                  | 75%                                | 95%                  | 100%                   | 100%                 |
| 2            | 95%                              | 95%                  | 80%                                | 90%                  | 60%                    | 90%*                 |
| 3            | 95%*                             | 100%                 | 75%                                | 100%                 | 85%                    | 95%*                 |
| 4            | 85%                              | 85%                  | 95%                                | 95%                  | 100%                   | 100%                 |
| 5            | 85%                              | 95%                  | 85%                                | 100%                 | 60%                    | 95%*                 |
| 6            | 95%                              | 95%                  | 85%                                | 100%                 | 75%                    | 100%                 |
| 7            | 95%                              | 95%                  | 80%                                | 100%                 | 50%                    | 100%                 |
| <b>TOTAL</b> | <b>91,42 %</b>                   | <b>93,57 %</b>       | <b>82,14%</b>                      | <b>97,14%</b>        | <b>75,71%</b>          | <b>97,14%</b>        |

\* Falsos inviáveis do teste de pH causado por injúria do tipo quebra.

No tratamento em que as sementes íntegras são submetidas ao teste de pH de exsudato, encontrou-se 91,42% de sementes viáveis. Estas mesmas sementes quando testadas pelo teste de tetrazólio, apresentam viabilidade de 93,57% (TABELA 11). Essa diferença é registrada em virtude da presença de 1 semente com injúria na repetição 3.

O teste de pH do exsudato aplicado em sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) apontou viabilidade de 82,85%, para o tratamento em que as sementes com corte no tegumento. O resultado obtido pelo teste de tetrazólio para as mesmas sementes foi de 97,14%. Essa diferença se deu em virtude do teste de pH de exsudato apontar como inviáveis sementes que continham injúrias do tipo broca ou do tipo quebra. Todas as sementes nestas condições são lidas como sementes inviáveis pelo teste de pH de exsudato (Figura 3).



Figura 3: Sementes de *Anadenanthera falcata* consideradas inviáveis pelo teste de pH de exsudato que passaram pelo teste de tetrazólio

Entretanto, algumas destas sementes, quando avaliadas pelo teste de tetrazólio, são consideradas viáveis por colorirem uniformemente toda sua estrutura. Ao subtrair o resultado do teste de tetrazólio do resultado do teste de pH de exsudato verifica-se que o teste de pH subestimou a viabilidade do lote em 15 % (TABELA 11).

Acredita-se que as injúrias sejam locais de passagem dos íons que acidificaram a solução de embebição, gerando a leitura do teste de pH como falso inviável.

O objetivo da aplicação dos tratamentos de corte e lixa dos tegumentos foi verificar diferença na quantidade de material lixiviado pela semente e se haveria influência na leitura do teste.

No tratamento onde os tegumentos foram lixados, registraram-se resultados falsos de inviabilidade, pois as sementes de angico são frágeis e quebram-se facilmente no momento em que tinham seus tegumentos lixados. Porém, estas sementes quando testadas pelo teste de tetrazólio, foram consideradas viáveis por colorirem uniformemente (TABELA 11).

Ao subtrair o resultado do teste de pH do resultado do teste de tetrazólio verificou-se uma diferença de 21,43 pontos percentuais. Esta diferença evidencia que injúria do tipo quebra, foi capaz de modificar a coloração do meio de embebição, para sementes de angico. A grande dificuldade para a visualização das injúrias, é a coloração escura do tegumento. Estas injúrias só são visualizadas no momento da leitura do teste de tetrazólio, quando são removidos os tegumentos.

Segundo Cabrera e Peske (2002), as sementes com baixa viabilidade e vigor apresentam maior lixiviação de solutos que sementes vigorosas e com alta germinação, fato que se confirmou ao longo do teste para sementes de angico.

Os valores de viabilidade encontrados nos testes de pH de exsudato e tetrazólio são bastante próximos dos valores obtidos no teste de germinação das sementes de angico. Este fato demonstra que o teste de pH de exsudato é capaz de verificar a viabilidade em sementes de angico, podendo subestimar o percentual de viabilidade na presença de sementes com injúrias.

Destaca-se como vantagem do teste de pH de exsudato o fato de não ser uma técnica destrutiva. Verificou-se que as sementes de angico testadas pelo método, quando postas em hidratação de até 6 horas, retomam normalmente as atividades metabólicas, chegando, em alguns casos, a germinar durante o processo de hidratação (Figura 4).



Figura 4: Sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) germinadas durante o processo de hidratação, etapa que precede a aplicação do teste de tetrazólio

Outra evidencia da característica não destrutiva da técnica é o fato das sementes testadas, quando hidratadas após o teste de pH, estarem aptas para condução do teste de tetrazólio.

Pela análise de variância aplicada aos resultados obtidos (TABELA 12), verifica-se que a média de sementes viáveis encontradas para o teste de pH de exsudato de 83.09% é muito semelhante aos valores encontrados para germinação das sementes do lote testado.

TABELA 12: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*)

| FV         | QM |          |
|------------|----|----------|
|            | GL | Variável |
| Tratamento | 2  | 436,91*  |
| Resíduo    | 18 | 158,33   |
| Média      | -- | 83,09    |
| CV         | -- | 15,14    |

\*significativo ao nível de 1%

A análise de variância (TABELA 12) demonstra que houve diferenças significativas entre os tratamentos. Para avaliar estas diferenças foi aplicado o teste de médias de Tukey (TABELA 13).

TABELA 13: Médias dos tratamentos do teste de pH de exsudato para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) submetidas aos diversos métodos de preparo (tratamentos)

| Tratamento | médias | Comparações |
|------------|--------|-------------|
| íntegra    | 91,42  | <b>A</b>    |
| corte      | 82,14  | <b>B</b>    |
| lixa       | 75,71  | <b>C</b>    |

Médias seguidas por letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tuckey a 1%.

Estatisticamente há diferença entre os tratamentos cujas sementes foram expostas ao teste de pH com tegumento íntegro, com corte e lixado. O tratamento em que as sementes tiveram os tegumentos lixados apresenta resultado estatístico inferior aos demais, por ocasionar a quebra das sementes, resultando em dados falsos de inviabilidade. A injúria do tipo quebra foi capaz de modificar o pH do meio de leitura. No entanto, ao submeter sementes nestas condições ao teste de tetrazólio, verifica-se a condição de que estas sementes são viáveis. Desta forma sementes frágeis não devem receber o tratamento de lixa do tegumento para exposição ao teste de pH de exsudato. Recomenda-se, para sementes como morfologia semelhante às sementes de angico, utilizar sementes com tegumento no estado íntegro, por se tratar de uma opção que apresenta maior facilidade de execução e apresenta resultados mais confiáveis.

Para os tratamentos propostos, a semente com o tegumento no estado íntegro é o mais adequado para analisar sementes de angico.

A diferença encontrada entre o tratamento das sementes com tegumento íntegro e com tegumento lixado ocorreu em virtude da presença de sementes com injúria do tipo broca na amostra testada com lixa nos tegumentos.

As sementes de angico que passaram pelo teste de pH de exsudato foram testadas pelo teste de tetrazólio. Os resultados do teste de tetrazólio foram avaliados pela análise de variância (TABELA 14).

TABELA 14: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio aplicado em sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) submetidas ao teste de pH de exsudato

| FV         | QM |          |
|------------|----|----------|
|            | GL | Variável |
| Tratamento | 2  | 29,76*   |
| Resíduo    | 18 | 17,86    |
| Média      | -- | 95,95    |
| CV         | -- | 4,40     |

\*significativo ao nível de 1%

O teste de Tukey para as médias do teste de tetrazólio comprova que o estado das sementes (íntegras, cortadas e lixadas nos tegumentos) não interfere na leitura final do teste de pH de exsudato, pois não há diferença estatística dos dados obtidos pelo teste de tetrazólio (TABELA 15).

TABELA 15: Comparação pelo teste de Tukey para os diferentes tratamentos do teste de tetrazólio para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*)

| Tratamento | médias | Comparações |
|------------|--------|-------------|
| íntegra    | 97,14  | A           |
| corte      | 97,14  | A           |
| lixa       | 93,57  | A           |

Para o tratamento onde as sementes tiveram os tegumentos lixados, a diferença encontrada entre as médias do teste tetrazólio aumenta em virtude dos resultados falso inviáveis apresentados pelo teste de pH de exsudato, quando as sementes do tratamento de lixa nos tegumentos apresentavam quebra.

### 6.2.2 Teste de pH do exsudato individual para sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

Os resultados de viabilidade encontrados para as sementes de copaíba avaliadas pelo teste de pH de exsudato e pelo teste de tetrazólio fora dispostos na TABELA 16.

TABELA 16: Resultados dos testes de pH de exsudato e tetrazólio para sementes de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1 (sementes integras) | TZ Em sementes do T1 | Tratamento 2 (sementes c/ incisão) | TZ Em sementes do T2 | Tratamento 3 (sementes lixadas) | TZ Em sementes do T3 |
|--------------|----------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|---------------------------------|----------------------|
| 1            | 95 %                             | 95 %                 | 100%                               | 100%                 | 100 %                           | 100 %                |
| 2            | 95 %                             | 95 %                 | 95%                                | 95%                  | 100 %                           | 100 %                |
| 3            | 100 %                            | 100 %                | 100%                               | 100%                 | 95 %                            | 95 %                 |
| 4            | 100 %                            | 100 %                | 100%                               | 100%                 | 100 %                           | 100 %                |
| 5            | 100 %                            | 100 %                | 100%                               | 100%                 | 95 %                            | 95 %                 |
| 6            | 100 %                            | 100 %                | 100%                               | 100%                 | 100 %                           | 100 %                |
| 7            | 100 %                            | 100 %                | 100%                               | 95%*                 | 100 %                           | 100 %                |
| <b>TOTAL</b> | <b>98,57 %</b>                   | <b>98,57 %</b>       | <b>99,28%</b>                      | <b>98,57%</b>        | <b>98,57 %</b>                  | <b>98,57%</b>        |

\* semente com embrião pouco desenvolvido

As sementes de copaíba foram consideradas viáveis pelo teste de pH de exsudato, quando a solução de embebição mantinha a coloração rosa forte até 30 minutos após o contato das soluções indicadoras (Figura 4).

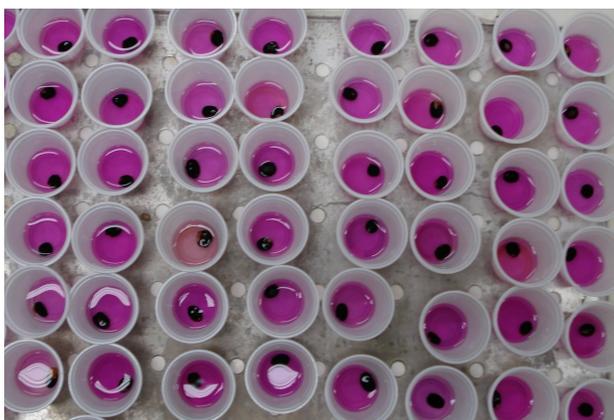


Figura 4: Sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) embebidas em água destilada após o contato com as soluções indicadoras

Pelo teste de tetrazólio, as sementes eram consideradas viáveis quando coloriam uniformemente o eixo embrionário e o material de reserva (Figura 5 B/C/D).



Figura 5: Sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) avaliadas pelos testes de pH de exsudato e tetrazólio A- semente inviável apontada pelo teste de pH e comprovado pelo teste de tetrazólio; B/C/D- sementes viáveis

O tratamento onde as sementes estavam íntegras foi encontrado um valor de viabilidade de 98,57%. Este valor coincide com o valor encontrado pelo teste de germinação aplicado em sementes do mesmo lote, e é posteriormente comprovado pelo teste de tetrazólio.

Segundo Santana et al. (1998), 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, a exemplo da soja. Para o teste de pH de exsudato realizado com sementes de copaíba, os valores de viabilidade encontrados são semelhantes aos valores encontrados para germinação de sementes que foram tratadas com banho de imersão de 24 horas seguido de corte no tegumento.

A pequena diferença encontrada no tratamento 2 entre o teste de pH de exsudato e o teste de tetrazólio (TABELA 16) é explicado pela presença de uma semente com eixo embrionário pouco desenvolvido. Fato que ocorreu isoladamente neste trabalho.

A análise de variância para os dados de viabilidade das sementes testadas pelo teste de pH de exsudato (TABELA 17), mostra que o valor da média é semelhante ao valor encontrado pelo teste de germinação das sementes, onde se obteve 98,57% de sementes

viáveis no tratamento que apresentou melhor superação da dormência das sementes (banho por 24 horas seguido de corte no tegumento).

TABELA 17: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

| FV         | QM |                    |
|------------|----|--------------------|
|            | GL | Variável           |
| Tratamento | 2  | 1,19 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 5,15               |
| Média      | -- | 98,80              |
| CV         | -- | 2,29               |

ns- não significativo

A média de viabilidade das sementes de copaíba (TABELA 18) encontrada para o teste de tetrazólio também é semelhante aos valores médios de viabilidade encontrada pelo teste de pH de exsudato e germinação no tratamento do banho de 24 horas seguido de corte no tegumento.

TABELA 18: Análise de variância para dados obtidos pelo tetrazólio para sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) previamente testadas pelo teste de pH de exsudato

| FV         | QM |                 |
|------------|----|-----------------|
|            | GL | Variável        |
| Tratamento | 2  | 0 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 5,95            |
| Média      | -- | 98,57           |
| CV         | -- | 2,47            |

ns - não significativo

A análise de variância apresentada na TABELA 18 mostra que não há diferença significativa entre os tratamentos, isto é, o estado das sementes (íntegras, cortadas e lixadas nos tegumentos) não interfere na leitura final do teste de pH de exsudato.

Ao comparar as médias do teste de tetrazólio com as médias encontradas pelo teste de pH de exsudato e germinação, verifica-se que são muito próximos, apresentando variação menor que 2%.

Fica evidenciada a característica não destrutiva do teste de pH de exsudato, pois as sementes de copaíba, após a reidratação, ficavam aptas para serem submetidas ao teste de tetrazólio.

Não se constatou a germinação das sementes de copaíba durante o processo de reidratação, como ocorreu com as sementes de angico após o teste de pH de exsudato. Este fato se deve ao fato das sementes de copaíba apresentarem dormência tegumentar e embrionária, e necessitarem de tratamentos combinados para a germinar.

### **6.2.3 Teste de pH do exsudato individual para sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)**

A lixiviação de açúcares, ácidos orgânicos e íons (entre os quais H<sup>+</sup>) contribuem na acidificação do meio e provocam a diminuição do pH do exsudato de sementes. Assim, sementes mais deterioradas apresentam maior lixiviação e, conseqüentemente, exsudatos com maior poder tampão (CABRERA e PESKE, 2002), fato que resulta na mudança da coloração da solução de embebição de sementes submetidas ao teste de pH de exsudato, tendo a fenolftaleína como solução indicadora. Deste modo a solução de embebição de sementes viáveis apresenta coloração rosa forte (Figura 6), ao passo que a solução contendo sementes inviáveis permanece incolor.



Figura 6: Sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) embebidas em água destilada após o contato com as soluções indicadoras

O tratamento 1 aplicado à sementes de tamboril apontou que 97,85% estavam viáveis. Este valor é muito próximo do valor encontrado pelo teste de germinação. Os valores encontrados para teste de pH de exsudato coincidem com o valor apontado pelo teste de tetrazólio (TABELA 19).

TABELA 19: Resultados dos testes de pH de exsudato e tetrazólio para sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1<br>(sementes<br>íntegras) | TZ<br>Em<br>sementes<br>do T1 | Tratamento<br>2 (sementes<br>c/ incisão) | TZ<br>Em<br>sementes<br>do T2 | Tratamento<br>3<br>(sementes<br>lixadas) | TZ<br>Em<br>sementes<br>do T3 |
|--------------|--|-------------------------------|--|-------------------------------|--|-------------------------------|
| <b>1</b>     | 95 %                                   | 95 %                          | 95%                                      | 95%                           | 95%                                      | 95%                           |
| <b>2</b>     | 95 %                                   | 95 %                          | 100%                                     | 100%                          | 100%                                     | 100%                          |
| <b>3</b>     | 95 %                                   | 95 %                          | 95%                                      | 95%                           | 95%                                      | 100%                          |
| <b>4</b>     | 100 %                                  | 100 %                         | 100%                                     | 100%                          | 95%                                      | 95%                           |
| <b>5</b>     | 100 %                                  | 100 %                         | 100%                                     | 100%                          | 100%                                     | 100%                          |
| <b>6</b>     | 100 %                                  | 100 %                         | 100%                                     | 100%                          | 100%                                     | 100%                          |
| <b>7</b>     | 100 %                                  | 100 %                         | 100%                                     | 100%                          | 100%                                     | 100%                          |
| <b>TOTAL</b> | <b>97,85%</b>                          | <b>97,85%</b>                 | <b>98,57%</b>                            | <b>98,57%</b>                 | <b>97,85%</b>                            | <b>98,57 %</b>                |

Para a realização do teste de tetrazólio nas sementes de tamboril com tegumentos íntegros que foram avaliadas pelo teste de pH de exsudato, foi necessário realizar cortes nos tegumentos para possibilitar o contato dos tecidos com o sal de tetrazólio. Este procedimento foi adotado em virtude do tegumento espesso e impermeável das sementes de tamboril. A duração do teste foi de 48 horas, em virtude do tamanho e espessura das sementes. Foram consideradas viáveis pelo teste de tetrazólio, as sementes que coloriram uniformemente sua estrutura (Figura 7).

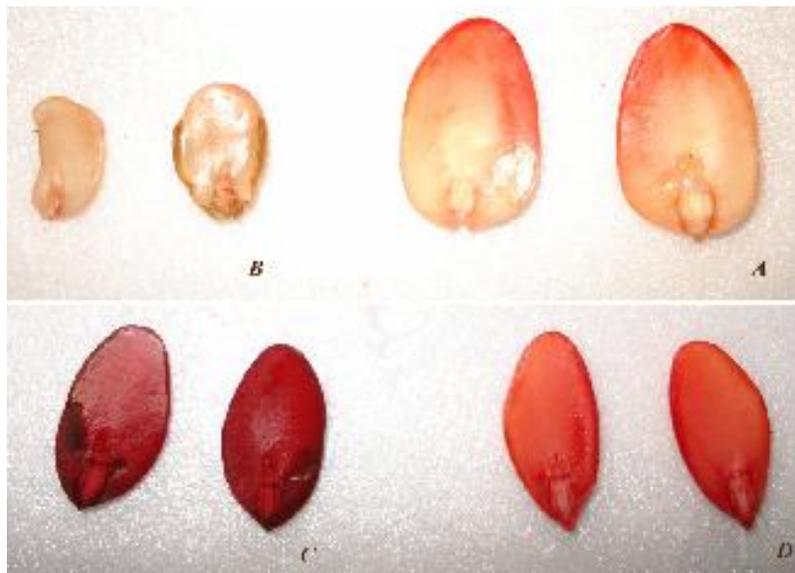


Figura 7: Sementes viáveis (A) e sementes inviáveis (B) de tamboril com eixo embrionário não colorido; C-semente intensamente colorida, considerada inviável por estar em acelerado processo de deterioração; D – semente viável apresentado coloração uniforme.

A análise de variância foi feita para os dados de viabilidade das sementes de tamboril obtidos pelos testes de pH de exsudato e tetrazólio.

A análise de variância mostra que viabilidade média das sementes de tamboril obtida pelo teste de pH de exsudato é de 98,09%, quando avaliadas pelo teste de pH de exsudato (TABELA 20). Este valor é semelhante aos valores encontrados para os testes de germinação das sementes de tamboril tratadas pelos métodos do desponte e da lixa.

TABELA 20: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)

| FV         | QM |                    |
|------------|----|--------------------|
|            | GL | Variável           |
| Tratamento | 2  | 1,19 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 6,75               |
| Média      | -- | 98,09              |
| CV         | -- | 2,64               |

ns - não significativo

A viabilidade das sementes encontrada pelo teste de tetrazólio (TABELA 22) é semelhante aos valores encontrados pelos testes de germinação e de pH de exsudato.

TABELA 21: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio para sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*) previamente testadas pelo teste de pH de exsudato

| FV         | QM |                    |
|------------|----|--------------------|
|            | GL | Variável           |
| Tratamento | 2  | 1,19 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 6,35               |
| Média      | -- | 98,33              |
| CV         | -- | 2,56               |

ns - não significativo

De acordo com as TABELAS 20 e 21, a condição de exposição da semente quando submetida ao testes de pH de exsudato (tegumento íntegro, com corte ou lixado) não altera a leitura final do teste. Assim sendo, seria mais adequado expor as sementes íntegras ao teste de pH de exsudato para verificação da viabilidade.

Pelas características apresentadas pelo teste de pH de exsudato, este teste pode também ser empregado como um teste de vigor (PIÑA-RODRIGUES et al., 2004).

Carvalho (2001) faz uso desta característica do teste de pH de exsudato quando comparou a qualidade de sementes oriundas de diferentes lotes.

A característica não destrutiva da técnica de pH de exsudato também é comprovada nas sementes de tamboril. As sementes após serem submetidas ao teste de pH, eram postas em hidratação, e ficavam aptas para o teste de tetrazólio.

#### **6.2.4 Caracterização do teste de pH de exsudato pelo método individual**

- O teste de pH de exsudato pelo método individual realiza a leitura de sementes que apresentam dormência;
- A técnica considera a integridade das membranas celulares;
- O teste de pH de exsudato pelo método individual é bastante criterioso por apontar como inviáveis sementes com injúrias;
- Trata-se de uma técnica não destrutiva;
- Apresenta rapidez na obtenção de resultados;
- É de fácil execução.

#### **6.2.4 Protocolo de execução do teste de pH de exsudato pelo método individual**

Como produto final dos ensaios realizados, foi gerado um protocolo de execução para o teste de pH de exsudato pelo método individual para avaliação de viabilidade de sementes florestais. Este produto é disposto a seguir.

### **PROTOCOLO DE EXECUÇÃO DO TESTE DE PH DE EXSUDATO INDIVIDUAL**

#### **1. Preparação das soluções indicadoras**

As soluções indicadoras são preparadas baseando-se no trabalho de Cabrera e Peske (2002).

**Solução indicadora de fenolftaleína** - 1 g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool absoluto. Em seguida são adicionados 100 mL de água destilada e fervida.

**Solução indicadora de carbonato de sódio** - São dissolvidos 8,5 g de carbonato de sódio em 1 litro de água destilada e fervida.

As soluções são armazenadas em geladeira até o momento da utilização.

## **2. Preparação das sementes**

Segundo os resultados obtidos por este trabalho, a preparação das sementes florestais segue as seguintes especificações:

As sementes, íntegras, são separadas em recipientes individualmente. Cada recipiente contém 1 unidade de semente, que ficará embebida em 15 ml de água destilada por um período de trinta minutos em câmara de temperatura constante regulada para 25°C.

## **3. Contato das soluções indicadoras com a solução de embebição das sementes**

A proporção das soluções indicadoras utilizada segue o que Cabrera e Peske ( 2002) desenvolveram em seu estudo:

Cada conjunto recipiente/semente, previamente identificado receberá 1 gota de solução de fenolftaleína seguida de 1 gota da solução de carbonato de sódio, que devem ser mexidas com o auxílio de bastonete plástico.

## **4. Leitura do teste**

A leitura do teste, de acordo com este trabalho, é realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição da semente. A solução de embebição colorida indica viabilidade da semente testada. A solução de embebição incolor indica inviabilidade ou acelerado processo de deterioração da semente.

## **6.3 Teste de pH do exsudato pelo método massal**

### **6.3.1 Teste de pH do exsudato pelo método massal para sementes de angico**

*(Anadenanthera falcata)*

O teste de pH de exsudato permite avaliar a viabilidade de sementes pois detecta processos como a perda da integridade ou descontinuidade das membranas, por meio da consequente lixiviação de íons e metabólitos voláteis. Estas alterações ocorrem em função do grau de deterioração das sementes (CHEN e BURRIS, 1991).

No método massal do teste de pH de exsudato, as sementes são postas em conjunto num único recipiente com um volume de 200 ml de água destilada, para depois do período de embebição, ter contato com as soluções indicadoras de pH (Figura 8).



Figura 8: Teste de pH de exsudato massal para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*)

O teste pH pelo método massal apontou 100% de sementes viáveis, nos três tratamentos. Estes resultados não são confirmados pelo teste de tetrazólio aplicados nas sementes testadas pelo teste de pH de exsudato (TABELA 22). Segundo Cabrera e Peske (2002), é possível que o teste massal do pH do exsudato apresente a desvantagem de não distinguir numa amostra que contenha muitas sementes de alta qualidade a presença de algumas sementes mortas.

TABELA 22: Resultados dos testes de pH de exsudato pelo método massal e tetrazólio para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*)

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1 (sementes integras) | TZ Em sementes do T1 | Tratamento 2 (sementes c/ incisão) | TZ Em sementes do T2 | Tratamento 3 (sementes lixadas) | TZ Em sementes do T3 |
|--------------|----------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|---------------------------------|----------------------|
| 1            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 85%                  | 100%                            | 100%                 |
| 2            | 100%                             | 90%                  | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 100%                 |
| 3            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 100%                 |
| 4            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 90%                  | 100%                            | 90%                  |
| 5            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 95%                  | 100%                            | 95%                  |
| 6            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 95%                  | 100%                            | 100%                 |
| 7            | 100%                             | 90%                  | 100%                               | 90%                  | 100%                            | 85%                  |
| <b>TOTAL</b> | <b>100%</b>                      | <b>93,57%</b>        | <b>100%</b>                        | <b>95%</b>           | <b>100%</b>                     | <b>95,71%</b>        |

Ao avaliar as diferenças encontradas entre os resultados do teste de pH e tetrazólio para os três tratamentos (TABELA 22), verifica-se que o teste de pH de exsudato pelo método massal superestima os valores de viabilidade das sementes de angico. Esta leitura do teste de pH pode ser explicada em virtude da pequena quantidade de material lixiviado pelas sementes inviáveis; além disso, as sementes inviáveis não apresentavam concentrações suficientes para modificar o pH do volume de 200ml em que se encontravam. Isso se verifica em todas as repetições, nos três tratamentos.

Para Cabrera e Peske (2002) o processo de determinação da viabilidade de sementes de milho por meio do teste do pH do exsudato pelo método massal apresenta alta confiabilidade. Entretanto, na análise das sementes de angico pelo método massal, o teste de pH superestimou os valores de viabilidade. Por essa razão, o método massal é considerado menos eficiente que o método individual que é mais rigoroso, por avaliar as sementes portadoras de injúria como inviáveis.

Pelos resultados obtidos pelo teste de pH de exsudato, não foi necessário realizar análise de variância, pois pelo método massal todas as sementes são lidas como viáveis. A análise de variância foi feita para os dados de viabilidade das sementes de angico encontrados pelo teste de tetrazólio.

A média encontrada de sementes viáveis pelo teste de tetrazólio foi de 94,28%. O coeficiente de variação encontrado (TABELA 23), reflete um bom controle experimental para o teste de tetrazólio.

TABELA 23: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio para sementes de angico (*Anadenanthera falcata*) testadas pelo teste de pH de exsudato pelo método massal

| FV         | QM |                     |
|------------|----|---------------------|
|            | GL | Variável            |
| Tratamento | 2  | 10,71 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 24,60               |
| Média      | -- | 94,28               |
| CV         | -- | 5,26                |

ns - não significativo

A TABELA 24 demonstra que há diferença estatística entre os tratamentos para a variável analisada. Deste modo, pode-se dizer que a condição de exposição da semente ao ser submetida aos testes de pH de exsudato e posteriormente ao de tetrazólio (íntegra, com corte ou lixada) não altera a leitura final do teste.

### 6.3.2 Teste de pH do exsudato pelo método massal para sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

Pelos resultados obtidos pelo teste de pH de exsudato para sementes de copaíba, não foi necessário realizar análise de variância, pois pelo método massal todas as sementes são lidas como viáveis (TABELA 24).

TABELA 24: Testes de pH pelo método massal e tetrazólio para sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*)

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1 (sementes integras) | TZ Em sementes do T1 | Tratamento 2 (sementes c/ incisão) | TZ Em sementes do T2 | Tratamento 3 (sementes lixadas) | TZ Em sementes do T3 |
|--------------|----------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|---------------------------------|----------------------|
| 1            | 100%                             | 100%                 | 100%                               | 85%                  | 100%                            | 85%                  |
| 2            | 100%                             | 90%                  | 100%                               | 95%                  | 100%                            | 100%                 |
| 3            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 85%                  | 100%                            | 85%                  |
| 4            | 100%                             | 85%                  | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 95%                  |
| 5            | 100%                             | 100%                 | 100%                               | 95%                  | 100%                            | 100%                 |
| 6            | 100%                             | 85%                  | 100%                               | 90%                  | 100%                            | 100%                 |
| 7            | 100%                             | 85%                  | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 100%                 |
| <b>TOTAL</b> | <b>100%</b>                      | <b>91,42%</b>        | <b>100%</b>                        | <b>92,85%</b>        | <b>100%</b>                     | <b>95%</b>           |

Esta leitura do teste de pH pelo método massal pode ser explicada em razão da pequena quantidade de material lixiviado pelas sementes inviáveis não possuir concentrações suficientes para modificar o pH do volume de 200ml de solução de embebição em que se encontravam. Isso se verifica em todas as repetições, nos três tratamentos que avaliaram as sementes de copaíba.

Ao analisar as diferenças encontradas entre o teste de pH de exsudato pelo método massal e o teste de tetrazólio, nota-se que os valores de viabilidade são superestimados em cerca de até 10% (TABELA 24). E, neste caso, mesmo que se aumentasse o tempo de embebição das sementes o resultado não seria alterado, pois Mckersie e Stinson (1980), ao avaliarem o tempo de embebição para sementes de *Lotus corniculatus* L., verificaram que no período inicial de embebição ocorre um rápido fluxo de substâncias das sementes, e a partir de 30 minutos de embebição, a quantidade lixiviada permanece constante.

A análise de variância realizada para os dados do teste de tetrazólio aponta um coeficiente de variação baixo (TABELA 25). Este fato reflete um bom controle

experimental. A média encontrada possui um valor muito próximo do valor encontrado pelo teste de germinação.

TABELA 25: Análise de variância para dados obtidos pelo teste de tetrazólio para sementes de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) testadas pelo teste de pH de exsudato pelo método massal

| FV         | QM |                     |
|------------|----|---------------------|
|            | GL | Variável            |
| Tratamento | 2  | 22,61 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 46,03               |
| Média      | -- | 93,09               |
| CV         | -- | 7,28                |

ns - não significativo

A análise de variância da TABELA 25 mostra que não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos; ou seja, o estado das sementes (íntegras, cortadas e lixadas nos tegumentos) não interfere na leitura final do teste de pH de exsudato pelo método massal.

Para Santana et al. (1998), o teste do pH do exsudato pelo método massal foi eficiente na separação dos lotes de milho, (*Zea mays* L.) em diferentes qualidades fisiológicas, usando o tempo de embebição de 30 minutos e a fenolftaleína e o carbonato de sódio como indicadores de pH. Para as sementes de copaíba a técnica de pH de exsudato pelo método massal pode ser usada desde que seja estipulada uma margem de segurança para os resultados, ou seja, sabendo que se quer produzir 100 mudas a partir de sementes de um lote testado por este método, será necessário usar ao menos 110 sementes para produzir a quantidade de mudas desejada.

### 6.3.3 Teste de pH do exsudato pelo método massal para sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)

Pelos resultados obtidos pelo teste de pH de exsudato, não foi necessário realizar análise de variância, pois pelo método massal, todas as sementes de tamboril foram apontadas como viáveis (TABELA 27).

TABELA 26: Resultados dos testes de pH massal e tetrazólio para sementes de Tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)

| REPETIÇÃO    | Tratamento 1 (sementes integras) | TZ Em sementes do T1 | Tratamento 2 (sementes c/ incisão) | TZ Em sementes do T2 | Tratamento 3 (sementes lixadas) | TZ Em sementes do T3 |
|--------------|----------------------------------|----------------------|------------------------------------|----------------------|---------------------------------|----------------------|
| 1            | 100%                             | 100%                 | 100%                               | 95%                  | 100%                            | 95%                  |
| 2            | 100%                             | 100%                 | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 95%                  |
| 3            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 95%                  | 100%                            | 95%                  |
| 4            | 100%                             | 100%                 | 100%                               | 90%                  | 100%                            | 100%                 |
| 5            | 100%                             | 90%                  | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 95%                  |
| 6            | 100%                             | 95%                  | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 90%                  |
| 7            | 100%                             | 100%                 | 100%                               | 100%                 | 100%                            | 100%                 |
| <b>TOTAL</b> | <b>100%</b>                      | <b>97,14%</b>        | <b>100%</b>                        | <b>97,14%</b>        | <b>100%</b>                     | <b>95,71%</b>        |

As sementes de tamboril contendo injúrias não são identificadas no método massal. Acredita-se que a pequena quantidade de material lixiviado pelas sementes com algum tipo de injúria não possua concentração suficiente para modificar o pH do volume de 200ml da solução de embebição onde as sementes foram testadas. Embora, para Cabrera e Peske (2002) o processo de determinação da viabilidade de sementes de milho por meio do teste do pH do exsudato massal apresente alta confiabilidade, o referido teste para sementes de tamboril superestimou a viabilidade em até 5% (TABELA 26).

O teste de pH de exsudato pelo método massal é lido indiferentemente de haver dormência nas sementes analisadas. Os parâmetros considerados pelo teste de pH de exsudato são a integridade das membranas e a quantidade material lixiviado por meio destas.

A análise de variância do teste de tetrazólio mostra uma média de valor semelhante ao encontrado pelo teste de germinação para sementes de tamboril encontrados do tratamento de lixa dos tegumentos (TABELA 27).

TABELA 27: Análise de variância para teste de tetrazólio em sementes de tamboril (*Enterolobium contortisiliquum*)

| FV         | QM |                    |
|------------|----|--------------------|
|            | GL | Variável           |
| Tratamento | 2  | 4,76 <sup>ns</sup> |
| Resíduo    | 18 | 14,28              |
| Média      | -- | 96,66              |
| CV         | -- | 3,91               |

ns - não significativo

A análise de variância da TABELA 27 mostra que não houve diferenças significativas entre os tratamentos; logo, o estado das sementes (íntegras, cortadas e lixadas nos tegumentos) não interfere na leitura final do teste de pH de exsudato pelo método massal.

Para fazer recomendações sobre um lote de sementes de tamboril avaliado pelo teste de pH de exsudato pelo método massal é necessário trabalhar com uma margem de segurança de ao menos 10%. Isto significa que para produzir 100 mudas de tamboril de um lote avaliado pelo teste, o ideal é que se plantem 110 sementes.

#### **6.3.4 Caracterização do teste de pH de exsudato pelo método massal**

- A técnica é capaz de realizar a leitura de sementes que apresentam dormência;
- O teste considera a integridade das membranas celulares;
- Trata-se de uma técnica não destrutiva;
- Apresenta rapidez na obtenção de resultados;
- O teste de pH de exsudato pelo método massal é menos sensível que o método individual;
- Fácil execução.

#### **6.3.4 Protocolo de execução do teste de pH de exsudato pelo método massal**

Como produto final dos ensaios realizados, foi gerado um protocolo de execução para o teste de pH de exsudato pelo método massal. Este produto é disposto a seguir.

### **PROTOCOLO DE EXECUÇÃO DO TESTE DE PH DE EXSUDATO PELO MÉTODO MASSAL**

#### **1. Preparação das soluções indicadoras**

As soluções indicadoras são preparadas baseando-se no trabalho de Cabrera e Peske (2002).

**Solução indicadora de fenolftaleína** - 1 g de fenolftaleína dissolvida em 100 mL de álcool absoluto. Em seguida são adicionados 100 mL de água destilada e fervida.

**Solução indicadora de carbonato de sódio** - São dissolvidos 8,5 g de carbonato de sódio em 1 litro de água destilada e fervida.

As soluções são armazenadas em geladeira até o momento da utilização.

## **2. Preparação das sementes**

Segundo os resultados obtidos por este trabalho, a preparação das sementes florestais segue as seguintes especificações:

As sementes, íntegras, são postas em conjunto de 20 unidades por recipiente. Cada recipiente com 200 ml de água destilada será posto por um período de trinta minutos em câmara de temperatura constante regulada para 25°C.

## **3. Contato das soluções indicadoras com a solução de embebição das sementes**

Segundo os resultados obtidos por este trabalho a proporção de solução indicadora a ser utilizada para este método seguem as seguintes especificações:

Cada conjunto recipiente/sementes, previamente identificado, receberá 20 gotas de solução de fenolftaleína seguido de 20 gotas da solução de carbonato de sódio, que devem ser mexidas com o auxílio de bastonete plástico.

## **4. Leitura do teste**

A leitura do teste, segundo os resultados obtidos por este trabalho, é realizada imediatamente após o contato das soluções indicadoras com a solução de embebição das sementes. A solução de embebição colorida indica viabilidade das sementes testadas. A solução de embebição incolor indica inviabilidade ou acelerado processo de deterioração das sementes.

## **6.4 Análise de custos dos testes realizados**

Para avaliar economicamente o teste de pH de exsudato foram realizados levantamentos de preços dos materiais de consumo utilizados na execução dos testes de germinação, tetrazólio e pH de exsudato (Anexo 1).

Ao avaliar os custos de execução dos testes de pH de exsudato, tetrazólio e germinação, conclui-se que o teste de pH de exsudato é economicamente viável. Essa constatação fica evidenciada ao se avaliar o custo dos insumos. O Custo do teste de germinação é de 20,00 reais, para ensaios que usem vermiculita como substrato (TABELA 28).

TABELA 28: Custo dos insumos necessários para a realização do teste de germinação no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da Universidade de Brasília

| <b>Produto</b>                   | <b>Preço (R\$)</b>               | <b>Quantidade</b> | <b>Total (R\$)</b> |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------------|--------------------|
| Vermiculita textura média (saco) | 20,00                            | 1 unidade         | 20,00              |
| Caixa gerbox                     | Material permanente já adquirido | 4 unidades        | --                 |
| <b>Total</b>                     | -----                            | -----             | <b>20,00**</b>     |

\*\*Para todos os testes aplicados ao longo do trabalho

Custo do teste de pH de exsudato para execução no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da UnB (TABELA 29) é de 55,90 reais. O custo final quando comparado ao teste de germinação possui um acréscimo de 35,90 reais. Este valor é considerado pequeno quando comparado ao benefício da rapidez de obtenção de resultados, o rendimento dos reagentes e a praticidade da técnica. Esta quantidade de reagente adquirida para este trabalho poderá realizar ao menos mais 10 trabalhos iguais ao que foi realizado, visto as concentrações das soluções utilizadas.

TABELA 29: Custo dos insumos necessários para a realização do teste de pH de exsudato no Laboratório de sementes do Departamento de Engenharia Florestal da UnB

| <b>Produto</b>                       | <b>Preço (R\$)</b>               | <b>Quantidade</b> | <b>Total (R\$)</b> |
|--------------------------------------|----------------------------------|-------------------|--------------------|
| Carbonato de sódio (frasco de 500 g) | 12,34                            | 1 unidade         | 12,34              |
| álcool absoluto                      | 26,92                            | 1 litro           | 26,92              |
| Fenolftaleína (frasco de 10 g)       | 16,64                            | 1 unidade         | 16,64              |
| Becker                               | Material permanente já adquirido | 2 unidades        | --                 |
| Conta Gotas                          | Material permanente já adquirido | 2 unidades        | --                 |
| <b>Total</b>                         | -----                            | -----             | <b>55,90**</b>     |

\*\*Para todos os testes aplicados ao longo do trabalho

Custo do teste de tetrazólio para execução no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal da UnB (TABELA 30) é de 904,00 reais.

TABELA 30: Custo dos insumos necessários para a realização do teste de tetrazólio no Laboratório de sementes do Departamento de Engenharia Florestal da UnB

| <b>Produto</b>                     | <b>Preço (R\$)</b>               | <b>Quantidade</b> | <b>Total (R\$)</b> |
|------------------------------------|----------------------------------|-------------------|--------------------|
| Papel alumínio                     | 14,00                            | 1 unidade         | 14,00              |
| Sal de tetrazólio (frasco de 10 g) | 890,00                           | 1 unidade         | 890,00             |
| Caixa gerbox                       | Material permanente já adquirido | 4 unidades        | --                 |
| Becker                             | Material permanente já adquirido | 1 unidades        | --                 |
| <b>Total</b>                       | -----                            | -----             | <b>904,00**</b>    |

\*\*Para todos os testes aplicados ao longo do trabalho

Apesar da técnica de tetrazólio ser uma técnica já consagrada, apresenta inconveniência quanto ao custo do sal, bem como apresenta dificuldades como a demora da obtenção, por se tratar de um material importado, e a necessidade de uma mão de obra especializada para aplicá-lo. Estas condições justificam a utilização e o desenvolvimento de outras técnicas, como por exemplo, o teste de pH de exsudato.

O valor da execução do teste de tetrazólio, quando comparado ao custo do teste de pH de exsudato, demonstra claramente a viabilidade econômica da técnica de pH para análise de viabilidade de sementes.

A TABELA 31 estabelece uma comparação entre as técnicas clássicas e o teste de pH de exsudato. Ao avaliar o tempo de execução verifica-se que o teste de pH de exsudato é o mais eficaz, pois, o tempo gasto para avaliar as sementes pelo teste de germinação pode chegar até 120 dias, no caso de sementes que apresentam dormência.

A rapidez de obtenção de resultados da técnica de pH de exsudato também representa uma vantagem por possibilitar a agilidade na tomada de decisões para sementes recalcitrantes, garantindo que o uso das sementes seja otimizado para a produção de mudas. Além disso, a técnica realiza leitura de viabilidade de sementes com dormência e portanto se equipara à outra vantagem de uso do teste de tetrazólio.

TABELA 31: Comparação entre as técnicas de germinação, pH de exsudato e tetrazólio

| TESTE                                     | Germinação                           | pH de exsudato                       | Tetrazólio  |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|---|
| Duração                                   | Até 120 dias                         | 30 minutos                           | Até 72 horas  |
| Custo do teste no Lab. de sementes da EFL | 20,00                                | 55,90                                | 904,00  |
| Mão-de-obra                               | Técnico com treinamento simplificado | Técnico com treinamento simplificado | Técnico com alta especialização na interpretação dos resultados |

Ao comparar a duração do teste de pH de exsudato com o teste de tetrazólio, evidencia-se a vantagem do uso da técnica de pH de exsudato pela obtenção de resultados em trinta minutos. Outro diferencial, quando se compara ambas as técnicas, é a especialização da mão-de-obra. Para a realização do teste de pH de exsudato, um técnico com treinamento básico é capaz de ler os resultados finais da técnica, ao passo que para o teste de tetrazólio, faz-se necessário uma mão de obra especializada na interpretação dos resultados, o que aumenta o já elevado custo de execução do teste de tetrazólio.

Deste modo, a técnica de pH de exsudato é recomendada por possuir baixo custo de execução, curta duração e por utilizar mão-de-obra facilmente treinável.

## 7. CONCLUSÃO

O teste de pH do exsudato pelo método individual apresentou um bom índice de confiabilidade quando seus resultados são comparados aos resultados dos testes de tetrazólio e germinação, estando dentro do intervalo de confiança estabelecido por este trabalho.

A técnica pelo método individual pode ser empregada com segurança para avaliar a viabilidade de sementes.

A técnica de pH de exsudato, em ambos os métodos, é capaz de verificar a viabilidade de sementes que apresentam dormência.

O estado do tegumento da semente (íntegro, com corte e lixado) não altera o resultado final do teste de pH do exsudato em ambos os métodos.

O teste de pH de exsudato individual é mais criterioso que o teste de pH pelo método massal.

A técnica possui baixo custo se comparada aos testes de tetrazólio. Embora o teste de germinação possua um custo menor que o teste de pH de exsudato, a rapidez da obtenção de resultados e a facilidade de execução do teste de pH o tornam tecnicamente viável.

Em comparação com o custo do teste de tetrazólio, o teste de pH de exsudato é considerado economicamente viável.

O teste de pH de exsudato é uma boa ferramenta para certificação de qualidade de sementes florestais.

Recomenda-se avaliar o tempo e a condição de embebição das sementes para que se verifique o comportamento do teste, bem como verificar o efeito das diferentes concentrações das soluções indicadoras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, A.S. e 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.

ALMEIDA, S.P.(Ed.). **Cerrado: ambiente e flora.** Brasília, DF; Embrapa Cerrados, p.89-166, 1998.

ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: espécies vegetais úteis.** Planaltina: EMBRAPA –CPAC, 1998. 299p.

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.

BIANCHETTI, A. **Tratamentos pré-germinativos para sementes florestais.** In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE SEMENTES FLORESTAIS, 2, Atibaia, 1989. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1991. p.237-246.

BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; BURG, W.J. van der. **Non-destructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants.** Seed Science Research, Wallingford, v.3, p.167-170. 1993.

BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; TELES, F.F.F. **Avaliação da maturação e dormência de sementes de orelha-de-negro.** Revista Brasileira de Sementes, 2(2):29-32, 1980.

BORGES, E.E.L.; BORGES, R.C.G.; CANDIDO, J.F.; GOMES, J.M. **Comparação de métodos de quebra de dormência em sementes de copaíba.** Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.4, n.1, p.9-12, 1982.

BORGES, E.E.L. & RENA, A.B. 1993. **Germinação de sementes.** In **Sementes florestais tropicais** (I.B. Aguiar, F.C.M. Piña-Rodrigues & M.B. Figliolia, eds.). Abrates, Brasília, p.83-135.

BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regra para análise de sementes.** Brasília: SNPA/DNPV/CLAV, 1992.

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, M.L.M.; AELST, A.C. van; ECK, J.W. van; HOEKSTRA, F.A. **Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays*L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality.** Seed Science Research, Wallingford, v.9, p.227-236.1999.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras. Recomendações Silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** EMBRAPA-CNPQ. Brasília. 1994. 640p.

CARVALHO, J. A. **Conservação de sementes de citros e testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica.** Lavras, 2001. Tese( Doutorado)- UFLA 140 p.

CARVALHO, N.M., NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000.588 p.

CARVALHO, P.E.R **Espécies arbóreas brasileiras.** Brasília: Embrapa Informação tecnológica; Colombo, PR:Embrapa Florestas, 2003. 1039p.

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.

COPELAND, L.O., McDONALD JR., M.B. **Principles of seed science and technology.** New York: McMillan, 1985.321p.

CORREIA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro:Imprensa Nacional, v.2, p.370-375, 1984.

CRESTANA, C. M.; BELTRATI, C. M. **Morfologia e anatomia de sementes de *Copaifera langsdorfii* Desf** (Leguminosae-Caesalpinoideae). Naturalia, São Paulo, v. 13, p. 45-54, 1988.

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

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

DESWAL, D. P.; CHAND, U. **Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & ohashi) seeds.** Seed Science and Technology, Zurich, v. 25, p. 409-417, 1997.

DE SOUZA, F. H.D. **Preparo de soluções neutras de tetrazólio - COT N°.** 51, setembro de 1994 Fonte:<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/cot/COT51.html> acessado em 18/05/2008

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. **Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) .** Sci. agric. vol. 53 n. 1 Piracicaba Jan./Apr. 1996.

DURIGAN, G.; FIGLIOLIA, M. B.; KAWABATA, M.;GARRIDO, M. A.O.;BAITELLO, J. B. **Sementes e mudas de árvores tropicais.**São Paulo: Ed. Páginas e Letras, 1997. 65p.

- EITEN, G. **The cerrado vegetation of Brazil**. The Botanical review, New York, v.38, p.201-341, 1972.
- ESCASINAS, A.B.; HILL, M.J. **Stress cracking in maize (*Zea mays*L.) seeds**. Annals of Tropical Research, Bay Bay-Leyte, v.10, n.3-4, p.182-192, 1988.
- FERNANDES, E.J.; SADER, R. e CARVALHO, N.M. **Viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) estimada pelo pH do exsudato**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 5, Gramado, 1987. **Anais**. Brasília: ABRATES,1987. p.80.
- FERREIRA, L.P.; PRADO, C.H.B.A.; MONTEIRO,J.A.F.; RONQUIM, C. **Germinação de sementes de *Copaifera langsdorffii* após cinco anos de estocagem sob refrigeração doméstica**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., Ilhéus, 2001. **Resumos...** Ilhéus: SBFV, 2001. p.189.
- FLORIANO, E. P. **Armazenamento de sementes florestais**, Caderno Didático nº 1, 1ª ed./ Santa Rosa: ANORGS. 2004.10 p.
- GIRARDIN, P.; CHAVAGNAT, A.; BOCKSTALLER, C. **Determination des caracteristiques des semences de mais grâce à la radiographic aux rayons x**. Seed Science and Technology, Zurich,v.21, n.3, p.545-551, 1993.
- GRIS, C. F.; CARVALHO, M. L. M. DE; OLIVEIRA, A. DOS S. **Adequação Do Teste De Tetrazólio Para Avaliação Da Qualidade Fisiológica Em Sementes De Pinhão Manso(*Jatropha curcas* L.)**. in: [www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/caracterizacao/2.pdf](http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/caracterizacao/2.pdf)
- GUERRA, M. E. DE C. ; MEDEIROS FILHO, S. ; GALLÃO, M. I. **Morfologia de sementes, de plântulas e da *Copaifera langsdorffii* Desf.** (Leguminosae Caesalpinioideae). **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 4, p. 322-328, out./dez. 2006
- GUPTA, I.J.; SCHIMITTHENNER, A.F; McDONALD, M.B. **Effect of storage fungi on seed vigour of soybean**. Seed Science and Technology, Zürich, v.21, n.3, p.581-591, 1993.
- HAMPTON, J.G. **Conductivity test**. In: **SEED VIGOUR TESTING SEMINAR**. Copenhagen: International Seed Testing Association, Vigour Test Committee, 1995. p.10-28.
- HONG, TRAN D.; ELLIS, RICHARD H. **Chapter 3: Storage**. In: **Tropical Tree Seed Manual**. [s.l]: USDA Forest Service's, Reforestation, Nurseries, e Genetics Resources, 2003.
- ISTA. **International Rules for Seed Testing**. Seed Science and Technology, Zurich, v.24, 1996. 336p. Supplement.IPEF/LARGEA.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). **International rules for seed testing**. Seed Science and Technology, v. 21, 363 p., 1993. Supplement.

JOLY, A. B. **Conheça a vegetação brasileira**. São Paulo:Polígono, 1970. 181 p.

KRAMER, P. J. e KOZLOWSKI, T. **Fisiologia das árvores**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1972. 745 p.

KOOSTRA, P.; HARRINGTON, J. **Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. seed**. Proceedings International Seed Testing Association, Copenhagen, v34, p329-340, 1973.

LIU, Y.; BURG, W.J.van der; AARTSE, J.W.; ZWOL, R.A.van;JALINK, H.; BINO, R.J. **X-ray studies on changes in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato seeds**. Seed Science Research, Wallingford, v.3, p.171-178, 1993.

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

LÊDO, A.A.M. **Estudo da causa da dormência em sementes de guapuruvu (*Schizolobium parahybum* (Vell.) Blake) e orelha-de-negro(*Enterolobium contortisiliquum* (Vell. Morong) e métodos para sua quebra**. Viçosa, UFV, 1977. 57p. (Dissertação Mestrado ).

LORENZI, H. 1992. **Árvores Brasileiras** - Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. 1ªed. Editora Plantarum. Nova Odesa – SP V.1, 1992. 352p.

MACHADO, C.F. **Metodologia para a condução do teste de germinação e utilização de raios-X para a avaliação da qualidade de sementes de aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl.)**. 2002. 51f. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MACHADO, J.W.B. 1990. **Relação origem/solo e tolerância à saturação hídrica de *Copaifera langsdorffii* Desf.** Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas,Campinas.

MALUF, A.M. **Varição populacional na germinação e dormência de sementes de *Senna multijuga***. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS, 2, São Paulo, 1992. **Anais...** São Paulo: Instituto Florestal, 1992. p.728-732.

MARCOS FILHO, J. **Teste de envelhecimento acelerado**. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-149.

MCKERSIE, B.D.; STINSON, R.H. Effect of dehydration on leakage and membrane structure in *Lotus corniculatus* L. seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v.66, n.2, p.316-320, 1980.

- MUNIZ, M.F.B. *et al.* **Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão.** Revista Brasileira de Sementes, Pelotas, v.26, n.2, p.144-149.2004.
- MELLO, V. D. C.; TILLMANN, M. A. A. **O teste de vigor em câmara de envelhecimento precoce.** Revista Brasileira de Sementes, vol. 9, no 2, p. 93-102, 1987.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENTS, J. **Biodiversity hotspots for conservation priorities.** Nature, London, v.403,p. 853-858, 2000.
- OHLWEILER, O. A. **Química analítica quantitativa.** Rio de Janeiro: Livros Técnicos Científicos, vol 2, p 409-420, 1974.
- PESKE, ST. e AMARAL, S. **Prediction of the germination os soybean seeds by measuremen of the pH of seed exudates.** Seed Science & Tecnology, New Delhi. v.14, n.1, p. 151-156. 1986.
- 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.
- PETERNELLI, L. A. Material acessado na Internet em 12/12/2008 em <http://www.dpi.ufv.br/disciplinas/inf162/materiais/CAPITULO7.v1.pdf>
- PIÑA-RODRIGUIES *et al.* **Teste de qualidade.** In FERREIRA A. G., BORGHETTI F. **Germinação do Básico ao Aplicado-** p 283-297, 2004
- POPINIGIS, F. **Avaliação da qualidade fisiológica.** In: POPLNIGIS, F. **Fisiologia da semente.** Brasília: Ministério da Agricultura, 1977. 289p.
- POPINIGIS, F. 1985. **Fisiologia das sementes.** Ministério da Agricultura - AGIPLAN, Brasília.
- POULSEN, K.M; PARRATT, M. J.; GOSLING,P.G.; ( Ed.) **Tropical and sub-tropical tree and shrub seed handbook.** Zürich: International seed testing association, 1998. 204p.
- REZENDE, J. L. P.; OLIVEIRA, A. D. **Análise econômica e social de projetos florestais.** Viçosa: UFV, 2001. 398 p.
- 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 .
- ROBERTS, E.H. **Predicting the storage life of seeds.** Seed Science and Technology, Zürich, v.1, n.4, p.499-514, 1973.

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.

SANTANA, D. G.; RANAL M. A. **Análise da germinação - um enfoque estatístico**. Brasília: editora Universidade de Brasília, 2004. 248p.

SANTOS, L.F. **Levantamento de Plantas medicinais nas fazendas Santa Madalena e Lagoa Azul em Dourados, MS**. Monografia de final de Curso. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. 2002.67p.

SCALON FILHO, H. ; SCALON, S. de P. Q. ; MUSSURY, R. M. . **Armazenamento e germinação de sementes de Angico Preto**. In: 46 congresso Brasileiro de Olericultura, 2006, Goiânia. Horticultura Brasileira - CDROM. Brasília : Associação Brasileira de Horticultura, 2006. v. 24. p. 247-247.

SIMAK, M. **Testing of forest tree and shrub seeds by X radiography**. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991. p. 1-28.

SIMAK, M. **X-Radiography in research and testing of forest seeds**. Report SUAS Department of Silviculture, n. 3, p 1-34, 1980

SMITH, M.; WANG, T.B.S.P.; MSANGA, H. P. Chapter 5: Dormancy and Germination. *In: Tropical Tree Seed Manual*. [s.l]: USDA Forest Service's/Reforestation, Nurseries, e Genetics Resources, 2003.

SOUSA-SILVA, J.C., RIBEIRO, J.F., Fonseca, C.E.L. da & Antunes. **Germinação de sementes e emergência de plântulas de espécies arbóreas e arbustivas que ocorrem em Matas de Galeria**. In: Riberio, J.F.; Fonseca, C.E.L. da; Sousa-Silva, J.C. eds. **Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria**. Planaltina: Embrapa-Cerrados, pp. 379-422, 2001.

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

VEIGA Jr., V.F.; PATITUCCI, M.L.; PINTO, A.C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, São Paulo, v.20, n.6, p.612-615, 1997.

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

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

## ANEXO A

Levantamento de preços realizados para avaliação econômica dos testes de pH de exsudato, germinação e tetrazólio.

Para os materiais que tiveram seus valores levantados pela Internet, gerou a tabela a seguir:

**Tabela 1: Orçamentos realizados pela internet**

| <b>Equipamento</b>               | <b>Valor (R\$)</b> | <b>Site</b>   |
|----------------------------------|--------------------|---|
| Destilador de Água Fanem         | 450,00             | <a href="http://www.splabor.com.br/produtos-ver.asp?codigo=4&amp;produto=212">http://www.splabor.com.br/produtos-ver.asp?codigo=4&amp;produto=212</a><br>acessado em 12/11/2008   |
| Câmara de temperatura constante  | 6. 400,00          | <a href="http://www.sovnet.com.br/det_produtos.asp?id=145&amp;nome=Estufas%20e%20Incubadoras&amp;expf=1&amp;familia=58">http://www.sovnet.com.br/det_produtos.asp?id=145&amp;nome=Estufas%20e%20Incubadoras&amp;expf=1&amp;familia=58</a><br>acessado em 12/11/2008   |
| Becker                           | 19,00              | <a href="http://www.splabor.com.br/produtos-lista.asp?codigo=11">http://www.splabor.com.br/produtos-lista.asp?codigo=11</a><br>acessado em 12/11/2008   |
| Conta Gotas                      | 0,50               | <a href="http://www.samavidros.com.br/19.shtml">http://www.samavidros.com.br/19.shtml</a><br>acessado em 05/11/2008   |
| Vermiculita textura média (saco) | 20,00              | <a href="http://www.accoelho.com.br/">http://www.accoelho.com.br/</a><br>acessado em 05/08/2008   |
| caixa gerbox                     | 15,00              | <a href="http://www.biosystems.com.br/index.php?page=shop.product_details&amp;flypage=shop.flypage&amp;product_id=426&amp;category_id=36&amp;manufac">http://www.biosystems.com.br/index.php?page=shop.product_details&amp;flypage=shop.flypage&amp;product_id=426&amp;category_id=36&amp;manufac</a><br>acessado em 12/11/2008 |

Orçamento do sal de Tetrazólio fornecido pela Bio Ciência Produtos Científicos LTDA.



**BIO CIÊNCIA PRODUTOS CIENTÍFICOS LTDA**

Equipamentos, Vidrarias, Reagentes, Nacionais e Importados para Laboratórios

CNPJ: 33.056.891/0001-59

CEP: 07.339.247/001-18

BRASÍLIA, DF 28 DE MAIO DE 2008

À  
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB  
EFL/FT  
**BRASÍLIA - DF**

**ATT: PROFa. ROSANA CARVALHO CRISTO MARTINS**

**ORÇAMENTO NR. 08.05.088**

**PROPOSTA**

| ITEM | QUANT. | PRODUTO  | PREÇO UNITÁRIO R\$ | PREÇO TOTAL R\$ |
|------|--------|--|--------------------|-----------------|
| 01   | 01FR   | ACIDO 2,3,5 -TRIFENILTETRAZOLIO CLORETO FR. COM 10GR, REF.T-8877, MARCA SIGMA. | 890,00             | 890,00          |

**CONDIÇÕES DE FORNECIMENTO**

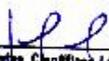
**-PREÇO LÍQUIDO PARA O MATERIAL POSTO EM BRASÍLIA-DF.**

**-PRAZO DE ENTREGA: IMEDIATO SALVO VENDA PREVIA.**

**-VALIDADE DA PROPOSTA: 15(QUINZE) DIAS.**

**-CONDICÕES DE PAGAMENTO: CONTRA APRESENTAÇÃO.**

ATENCIOSAMENTE,

  
BIO CIÊNCIA Produtos Científicos Ltda  
JOSÉ FERNANDES BEZERRA  
Ct. 089.252 - SSP/DF  
Diretor Comercial

SCN Q. 06, BLOCO "A", SALA 1207, ED. VENÂNCIO 3000 - CEP. 70.716-000 - BRASÍLIA - DF - BRASIL  
FONE: 061-3037-2414 - FAX: 061-3037-1447  
E-mail: [biociencia@biociencia.com.br](mailto:biociencia@biociencia.com.br) - [www.biociencia.com.br](http://www.biociencia.com.br)

## Orçamento do material utilizado para o Teste de pH de exsudato

### GENETICA COMERCIO IMPORTACAO E EXPORTACAO LTDA.

C.N.P.J. / M.F.: 00.596.529/0001-10  
 Insc.Estadual.: 0735203400140  
 Fone.: (61)3340-7646  
 Endereço.: Q SHCGN 716 BL - B L.J. 48, no. 48

Núm.: 10283  
 Orçamento.:  
 Processo.:  
 Abertura.: 16/12/08  
 Horas.: 16:53:36  
 Page 1 of 1

A(o)

JULIANA MARTINS DE MESQUITA MATOS

C.P.F. / M.F.: 860.057.151-00

Endereço.: SQN 309 BLOCO F APTº

Bairro.: ASA NORTE

Telefone.: (61)3877-6889

Cidade.: BRASILIA

UF.: DF Fax.:

CEP.: 70 755-060

| Item          | Quant UN | Cód. Descrição  | Embal.  | Fabricante | VI.Unitário | Valr. Total |
|---------------|----------|---|---------|------------|-------------|-------------|
| 1             | 1 FR     | 137.04 FENOLFTALEINA PA - FRASCO COM 25G              | 25G     | VETEC      | 16,64       | 16,64       |
| 2             | 1 FR     | 124.08 CARBONATO DE SÓDIO ANIDRO PA ACS - 500G        | 500G    | VETEC      | 12,34       | 12,34       |
| 3             | 1 FR     | 107.06 ÁLCOOL ETÍLICO ABSOLUTO 99,8% PA ACS 1L 1000ML |         | VETEC      | 26,92       | 26,92       |
| 4             | 2 UN     | 3070 CANULA DE VIDRO NARTZ P/ FRASCO DE UNIDADE 30ML  |         | FRASCOLEX  | 0,21        | 0,42        |
| 5             | 2 UN     | 4567 BULBO DE BORRACHA PIPETA CINZA - UN              | UNIDADE | FRASCOLEX  | 0,29        | 0,58        |
| Total Geral.: |          |   |         |            |             | 56,90       |

VALIDADE DA PROPOSTA.: 20 DIAS  
 PRAZO DE ENTREGA.: EM ATÉ 20 DIAS  
 FORMA DE PAGAMENTO.: 25 DIAS DA DATA  
 FRETE.: INCLUSO  
 IMPOSTOS.: INCLUSOS  
 FATURAMENTO MÍNIMO.: R\$ 200,00

ANNA MARIA

BRASÍLIA-DF, TERÇA-FEIRA, 16 DE DEZEMBRO DE 2008

DECLARAMOS TOTAL SUBMISSÃO AOS TERMOS DA PRESENTE COTAÇÃO.

ATENCIOSAMENTE.

GENETICA COMERCIO IMPORTACAO E EXPORTACAO LTDA.