



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



FÁBIO LUIZ SANTOS ORNELLAS

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE
TECNOLOGIAS EM SEMENTES ARBÓREAS NATIVAS DA
CAATINGA**

Feira de Santana - BA
2022

FÁBIO LUIZ SANTOS ORNELLAS

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÃO DE
TECNOLOGIAS EM SEMENTES ARBÓREAS NATIVAS DA
CAATINGA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para obtenção do título de Doutor em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Dra. Bárbara França Dantas
Co-orientador: Dr. Rafael Marani Barbosa

Feira de Santana - BA
2022

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Claudinéia Regina Pelacani Cruz
(Universidade Estadual de Feira de Santana - UEFS)



Prof. Dr. Manoel Abílio de Queiroz
(Universidade do Estado da Bahia - UNEB)



Profa. Dra. Elza Alves Correa
(Universidade Estadual Paulista - UNESP)



Profa. Dra. Juliana Müller Freire
(Embrapa Agrobiologia)



Profa. Dra. Bárbara França Dantas
(Embrapa Semiárido)
Orientadora e Presidente da Banca

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteado - UEFS

Ornellas, Fábio Luiz Santos

O81d Desenvolvimento e aplicação de tecnologias em sementes arbóreas nativas da caatinga / Fábio Luiz Santos Ornellas. - 2022.
90f. : il.

Orientadora: Bárbara França Dantas
Coorientador: Rafael Marani Barbosa

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2022.

1. Myracrodruon urundeuva. 2. Cenostigma pyramidale. 3. Amburana cearensis. 4. Pityrocarpa moniliformis. 5. Mimosa tenuiflora. 6. Etilômetro. 7. Pulso ultrassônico. I. Dantas, Bárbara França, orient. II. Barbosa, Rafael Marani, coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 581.48

DEDICATÓRIA

A Deus pela vida e saúde

Aos meus pais Adão e Nilzete pelo incentivo, dedicação e amor incondicional

Aos meus irmãos Pedro e Roberta pelo amor e apoio de sempre

Aos meus filhos Vítor, Martín Adão, e Maria Lílian pelo amor e compreensão

A minha esposa Aurizangela pelo amor dedicado, companheirismo e paciência

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) pelo suporte no desenvolvimento das atividades de pesquisa.

À Embrapa Semiárido pela disponibilização da infraestrutura para realização dos experimentos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Núcleo de Ecologia e Monitoramento Ambiental - NEMA/UNIVASF pela doação de sementes para realização da pesquisa.

Ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais (PPGRGV) representado pelos competentes funcionários: Alberto e Lia, pela receptividade, disposição, profissionalismo e auxílio ao desenvolvimento desse trabalho.

Aos professores e colaboradores da UEFS que tornaram essa etapa de aprendizado possível.

Aos amigos e colegas do LASESA (Embrapa Semiárido).

Aos amigos e colegas do curso de Recursos Genéticos Vegetais.

À pesquisadora Dra. Bárbara França Dantas, pela orientação, dedicação e suporte.

Ao professor Dr. Rafael Marani Barbosa, pela co-orientação, dedicação, ensinamentos e paciência.

Às professoras Dra. Claudinéia Pelacani e Dra. Marilza Neves, ambas coordenaram com excelência o colegiado e contribuíram muito com o desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus familiares que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 (This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001)

RESUMO

Testes rápidos que permitam a avaliação do potencial fisiológico são parâmetros essenciais para programas de produção de sementes e mudas com qualidade. No capítulo 1 foram estabelecidos os parâmetros de um método de avaliação do vigor de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, *Cenostigma pyramidale* e *Amburana cearensis* por meio da análise da produção de etanol, medida com etilômetro modificado. O teste de etanol mostrou ser rápido e preciso, permitindo diferenciar os lotes, assim como os testes de germinação e condutividade elétrica. No capítulo 2 foi avaliado a aplicação combinada de testes fisiológicos e bioquímicos para determinação do vigor de sementes de *Anadenanthera colubrina*, *Pityrocarpa moniliformis*, e *Mimosa tenuiflora*. Os lotes foram avaliados quanto ao teor de água, germinação e vigor (primeira contagem, condutividade elétrica e teste de etanol) com a medida da atividade da Desidrogenase Alcoólica (ADH). Os testes aplicados foram eficientes para identificação da qualidade fisiológica das sementes de *A. colubrina*, *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*, contribuindo com os agrupamentos das safras verificadas. No capítulo 3 foi avaliado o potencial do ultrassom como um tratamento de pré-semeadura capaz de expressar melhor o vigor de lotes de sementes nativas. Sementes de *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora* foram imersas em água destilada e submetidas a um pulso ultrassônico de 10 segundos com potências de 20W, 40W e 60W. O condicionamento ultrassônico foi capaz de aumentar significativamente a germinação e vigor de sementes que repercutiu também em um expressivo comprimento das plântulas.

Palavras-chave: *Myracrodruon urundeuva*. *Cenostigma pyramidale*. *Amburana cearensis*. *Pityrocarpa moniliformis*. *Mimosa tenuiflora*. Etilômetro. Ultrassônico.

ABSTRACT

Rapid tests that allow the assessment of physiological potential are essential parameters for quality seed and seedling production programs. In chapter 1, the parameters of a method for evaluating the vigor of seeds of *Myracrodruon urundeuva*, *Cenostigma pyramidale* and *Amburana cearensis* seeds were established through the analysis of ethanol production, measured with a modified ethylometer. The ethanol test proved to be fast and accurate, allowing batch differentiation, as well as germination and electrical conductivity tests. In chapter 2, the combined application of physiological and biochemical tests was evaluated to determine the vigor of seeds of *Anadenanthera colubrina*, *Pityrocarpa moniliformis*, and *Mimosa tenuiflora*. The lots were evaluated for water content, germination and vigor (first count, electrical conductivity and ethanol test) with the measurement of Alcoholic Dehydrogenase (ADH) activity. The tests applied were efficient to identify the physiological quality of *A. colubrina*, *P. moniliformis* and *M. tenuiflora* seeds, contributing to the groupings of the verified crops. In chapter 3, the potential of ultrasound as a pre-sowing treatment capable of better expressing the vigor of native seed lots was evaluated. *Pityrocarpa moniliformis* and *Mimosa tenuiflora* seeds were immersed in distilled water and subjected to an ultrasonic pulse of 10 seconds with powers of 20W, 40W and 60W. The ultrasonic conditioning was able to significantly increase the germination and vigor of seeds, which also affected an expressive length of the seedlings.

Keywords: *Myracrodruon urundeuva*. *Cenostigma pyramidale*. *Amburana cearensis*. *Pityrocarpa moniliformis*. *Mimosa tenuiflora*. Ethylometer. Ultrasonic.

SUMÁRIO

| | |
|------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 10 |
| REFERÊNCIAS | 12 |
| REVISÃO DA LITERATURA | 14 |
| REFERÊNCIAS | 18 |

CAPÍTULO 1: TESTE DE VIGOR DE SEMENTES FLORESTAIS BASEADO NA LIBERAÇÃO DE ETANOL

| | |
|---|----|
| 1.1 Introdução | 25 |
| 1.2 Material e Métodos | 27 |
| 1.2.1 Material vegetal | 27 |
| 1.2.2 Teor de água | 27 |
| 1.2.3 Teste de germinação e primeira contagem | 28 |
| 1.2.4 Condutividade elétrica | 28 |
| 1.2.5 Teste de etanol | 29 |
| 1.2.6 Procedimentos estatísticos | 29 |
| 1.3 Resultados | 30 |
| 1.3.1 Teor de água | 30 |
| 1.3.2 Qualidade fisiológica de sementes | 30 |
| 1.3.3 Teste de etanol | 32 |
| 1.4 Discussão | 38 |
| 1.5 Conclusões | 40 |
| 1.6 REFERÊNCIAS | 41 |

CAPÍTULO 2: TESTES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE *Anadenanthera colubrina*, *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora*

| | |
|-------------------------------|----|
| 2.1 Introdução | 48 |
| 2.2 Material e Métodos | 49 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.1 Material vegetal | 49 |
| 2.2.2 Teor de água | 50 |
| 2.2.3 Teste de germinação e primeira contagem | 50 |
| 2.2.4 Condutividade elétrica | 50 |
| 2.2.5 Teste de etanol | 51 |
| 2.2.6 Extração de proteínas solúveis totais | 51 |
| 2.2.7 Atividade da Desidrogenase Alcoólica (ADH) | 51 |
| 2.2.8 Procedimentos estatísticos | 52 |
| 2.3 Resultados | 53 |
| 2.4 Discussão | 62 |
| 2.5 Conclusões | 64 |
| 2.6 REFERÊNCIAS | 65 |

CAPÍTULO 3: POTENCIAL DO ULTRASSOM COMO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO EM SEMENTES DE *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora*

| | |
|---|-----------|
| 3.1 Introdução | 71 |
| 3.2 Material e Métodos | 73 |
| 3.2.1 Obtenção de lotes de sementes | 73 |
| 3.2.2 Condicionamento ultrassônico | 73 |
| 3.2.3 Teste de germinação e primeira contagem | 73 |
| 3.2.4 Porcentagem de plântulas normais e crescimento de plântulas | 74 |
| 3.2.5 Condutividade elétrica | 74 |
| 3.2.6 Procedimentos estatísticos | 74 |
| 3.3 Resultados | 75 |
| 3.4 Discussão | 80 |
| 3.5 Conclusões | 82 |
| 3.6 REFERÊNCIAS | 83 |
| 3.7 CONCLUSÕES GERAIS | 86 |

INTRODUÇÃO GERAL

A avaliação da qualidade fisiológica de sementes de espécies florestais nativas tem sido uma busca constante dos tecnologistas de sementes sendo de extrema importância para a produção e estabelecimento de mudas de qualidade, sendo geralmente, realizada por meio de teste de germinação e complementada por testes de vigor. No entanto, essas análises são demoradas e podem levar vários dias para obter os resultados. Nesse sentido, há a necessidade de integrar novas tecnologias que possibilitem a obtenção de resultados em um curto período de tempo (Al-Hammad e Al-Ammari, 2017). De acordo com Marcos-Filho (2005), um teste de vigor eficiente deve fundamentar-se em base teórica consistente, envolver procedimentos simples, de baixo custo, fornecer resultados confiáveis em um curto espaço de tempo.

O principal componente de um programa de controle de qualidade de sementes é a avaliação da qualidade fisiológica, pois além de estimar o desempenho das sementes, ela fornece informações que identificam e solucionam problemas ao longo do processo produtivo (Martins et al., 2014). Como consequência de boas práticas de avaliação, tem-se benefícios diretos para a tomada de decisão sobre o melhor momento para semeadura ou armazenamento das sementes. Assim programas de controle de qualidade de sementes que tem valorizado a utilização de testes rápidos como ferramenta imprescindível para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes, sendo alvo das atenções de tecnologistas, produtores de sementes e pesquisadores (Deminicis et al., 2009).

Diferentes metodologias são usadas para análise de qualidade de sementes, sendo agrupadas em testes físicos, fisiológicos, bioquímicos e moleculares. Os testes físicos determinam características das sementes como peso e tamanho, os testes fisiológicos compreendem a germinação e crescimento, que podem ser realizados em condições ambientais favoráveis ou adversas, os testes bioquímicos que medem a atividade de enzimas, e os testes moleculares que avaliam a integridade de sistema de reparos de ácidos nucleicos em estádios de deterioração, estimando a qualidade da semente (Shaban, 2013).

Estudos sobre a produção de etanol de sementes usam cromatografia gasosa ou outras técnicas laboratoriais que exigem significativos recursos. Análises de detecção e quantificação do etanol na presente proposta, é uma técnica rápida e relativamente barata, e segundo (Buckley e Huang, 2011), o potencial analítico do etilômetro é adequado para a análise de etanol produzido por sementes no início do processo de germinação.

Sementes deterioradas produzem níveis mais elevados de etanol do que sementes não deterioradas durante os estádios iniciais de germinação (Woodstock e Taylorson, 1981;

Gorecki, Harman e Mattick, 1985; Amable e Obendorf, 1986). A relação da produção diferencial de etanol por sementes em condições anaeróbicas e aeróbicas, e sua razão de produção, foi utilizada como um teste sensível de qualidade de sementes (Kataki e Taylor, 1997). Este valor unitário, portanto, permite a separação de lotes de sementes com base em sua qualidade e é considerado como um teste bioquímico de vigor (Kataki e Taylor, 1996a; Kataki e Taylor, 1996b; Taylor et al., 1999). Os lotes de sementes de alta qualidade apresentam uma baixa proporção de etanol, enquanto os lotes de baixa qualidade possuem uma proporção alta.

Devido a importância econômica e ambiental, existe uma tendência do aumento da demanda de mudas de espécies florestais, a qual tem sua propagação, quase que exclusivamente via seminal. Nesse sentido a obtenção de sementes de espécies florestais de elevada qualidade são promissoras para produtores de sementes, viveiristas, além de pequenos proprietários rurais e redes de coleta e comercialização de sementes.

Considerando que boa parte das espécies florestais apresentam sementes que exigem longo período para germinar, o desenvolvimento de testes rápidos e eficientes na avaliação da viabilidade de sementes mostra-se necessário.

Diante do exposto trabalho, o objetivo desta pesquisa foi, através de métodos inovadores, avaliar o vigor e condicionamento fisiológico para sementes arbóreas nativas da Caatinga.

REFERÊNCIAS

- AL-HAMMAD, B.A.; AL-AMMARI, B.S. Seed viability of five wild Saudi Arabian species by germination and x-ray tests. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 24, Issue 6, p. 1424-1429, 2017.
- ALVES, J. J. A.; ARAÚJO, M. A.; NASCIMENTO, S. S. Degradação da Caatinga: uma investigação ecogeográfica. **Revista Caatinga**. v. 22, n. 3, p. 126-135, 2009.
- AMABLE, R. A.; OBENDORF, R. L. Soybean seed respiration during simulated preharvest deterioration. **Journal of Experimental Botany**. v. 37, p. 1364-1375, 1986.
- BUCKLEY, W. T.; HUANG, J. A. Fast ethanol assay to detect seed deterioration. **Seed Science Research**. v. 39, n. 2, p. 510-526, 2011.
- DEMINICIS, B. B.; VIEIRA, H. D.; SILVA, R. F. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Clitoria ternatea* L. **Revista Brasileira de Sementes**. Londrina, v. 31, n. 2, p. 54-62, 2009.
- GOECKI, R. J.; HARMAN, G. E.; MATTICK, R. L. The volatile exudates from germinating pea seeds of different viability and vigor. **Canadian Journal of Botany**. v. 63, p. 1035-1039, 1985.
- KATAKI, P. K.; TAYLOR, A. G. Production of ethanol by germinating soybean and sweet corn seeds under aerobic and anaerobic conditions: An index of seed quality. **Search**, v. 30, p. 3-8, 1996a.
- KATAKI, P. K.; TAYLOR, A.G. The influence of exogenous glucose and seed coat integrity on ethanol production from aged cotton, lettuce and rice seeds: An index of seed quality. **Search**, v. 30, p. 9-13, 1996b.
- KATAKI, P. K.; TAYLOR, A.G. Ethanol. A respiratory by-product: An indicator of seed quality. In *Basic and Applied Aspects of Seed Biology: Proceedings of the Fifth International Workshop on Seeds*, eds. R.H. Ellis and M. Black, University of Reading, UK. **Kluwer Academica Publishers**. p. 421-427, 1997.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.
- MARTINS, A. B. N.; MARINI, P.; BANDEIRA, J. M. B.; BORBA, I. C. G.; QUINEPER, R. R.; MORAES, D. M.; VILELA, F. A. Vigor: separação de lotes de sementes pela atividade respiratória. **Revista Interciência**. v. 39, n. 4, p. 260-265, 2014.
- MORAES, M. G.; ALVES, J. D. OLIVEIRA, L. E. M. de. Efeitos da anaerobiose induzida por alagamento em plântulas de seis espécies herbáceas. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 25, p. 941-951, 2001.
- SHABAN, M. **Study on some aspects of seed viability and vigor**. 2013. 1692-1697p.

WOODSTOCK, L. W.; TAYLORSON, R. B. Ethanol and acetaldehyde in imbibing soybean seeds in relation to deterioration. **Plant Physiology**, v. 67, p. 424-428, 1981.

TAYLOR, A. G.; JOHNSON, C. F.; KATAKI, P.K.; OBENDORF, R.L. Ethanol production by hydrated seeds: A high resolution index of seed quality. **Acta Horticulture**, v. 504, p. 153-159, 1999.

REVISÃO DA LITERATURA

Teste de qualidade fisiológica de sementes

Avaliações que determinam a qualidade fisiológica de lotes de sementes são realizadas por diversos testes, e está relacionada a sua capacidade de desenvolver funções que envolve a germinação, vigor e longevidade, podendo ser influenciada pelas etapas de produção e condições ambientais enfrentadas pelas plantas no período de maturação, pós-maturação e pré-colheita. O ponto máximo de qualidade fisiológica é alcançado pelas sementes quando as mesmas adquirem maturidade fisiológica (Marcos-Filho, 2015). O teste de germinação é realizado em laboratórios para avaliar a qualidade fisiológica de sementes, mas esse método não reflete o comportamento das sementes em condições de campo e não detecta diferenças de qualidade entre lotes com alta germinação. Nesse intuito, tem sido desenvolvido testes de vigor objetivando identificar possíveis diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes, com características simples, porém, com rapidez, objetividade, economia e reprodutibilidade, fornecendo, assim, informações complementares às obtidas pela germinação (Caliari; Silva, 2001). O desenvolvimento de testes para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes, bem como a padronização destes, é essencial para constituir um eficiente controle de qualidade (Muniz et al., 2004). A análise de sementes avalia, através de procedimentos técnicos, a qualidade de um lote de sementes, no qual entende-se que a qualidade fisiológica dessas sementes esteja atribuída a um conjunto de características de natureza genética, física, fisiológica e sanitária que afetam a capacidade de originar plantas mais produtivas (Tillmann; Miranda, 2006), sendo que o sucesso de uma produção na área agrícola começa pela aquisição de sementes e/ou de mudas de boa qualidade (Albuquerque et al., 2009).

Teste de etanol

O teste de etanol é um método que avalia a qualidade fisiológica de sementes em função da liberação de etanol por sementes embebidas. A deterioração é um processo determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, que ocorre de maneira progressiva, determinando a queda da qualidade e culminando com a morte da semente ou da planta (Marcos-Filho, 2015). A sensibilidade de sementes viáveis às adversidades do campo é aumentada pelo seu grau de deterioração, resultando em distorções interpretativas dos resultados obtidos na avaliação da qualidade fisiológica. A deterioração das sementes está associada à concentração de exsudados que são resultados da decomposição da membrana (Copeland; McDonald, 1995). Desta forma, as

sementes que apresentam maior nível de degradação das membranas tendem a produzir maior quantidade de etanol. Portanto, o reconhecimento dos testes de vigor que melhor predizem o desempenho em campo possibilita o entendimento da real influência sobre o desempenho após a semeadura (Wendt et al., 2017).

Condicionamento ultrassônico

Tratamentos aplicando ondas ultrassônicas têm sido usados para induzir uma germinação de sementes uniforme e mais rápida, atuando como uma alternativa de tensão em células ou tecidos alterando a estrutura e função das moléculas biológicas. A ação estimulante do ultrassom sobre a germinação é produzida por modificações da membrana celular, resultando em melhor transporte de nutrientes e absorção dos elementos úteis (Risca, 2007). O ultrassom é um método físico que envolve a aplicação de som em faixas de frequências inaudíveis, e esta técnica, única entre os métodos de pré-tratamento de sementes existentes, vem sendo considerada simples, barata, ecologicamente correta e multifuncional (Goussous et al., 2010).

Atividades bioquímicas

Ao estudar as enzimas percebe-se que os produtos gerados são, de certa forma, influenciados pelo ambiente, sendo que os genes que controlam a expressão manifestam-se em determinados estádios do desenvolvimento, em órgãos e tecidos específicos, ou sob determinado estímulo (Ramirez; Calderon; Rocca, 1991). Diversas são as alterações metabólicas ou bioquímicas relacionadas à deterioração das sementes, mas as citadas com mais frequência na literatura são as mudanças na atividade respiratória e no metabolismo de reservas, as modificações na atividade enzimática e na síntese de proteínas, o acúmulo de substâncias tóxicas, os danos à integridade do DNA e aos sistemas de membranas, a peroxidação de lipídios e a lixiviação de solutos (Coolbear, 1995; McDonald, 1999; Cardoso, 2004; Santos et al., 2004; Marcos-Filho, 2005).

Enzimas fermentativas

No processo de fermentação alcoólica o piruvato, primeiramente produzido na glicólise, é convertido a acetaldeído pela ação da enzima piruvato descarboxilase (PDC), e o acetaldeído reduzido a etanol pela desidrogenase alcoólica (ADH), que é umas das principais enzimas fermentativas, e considerado menos tóxico à planta além de poder se difundir para fora da célula (Taiz; Zeiger, 2017). A partir do ponto de maturidade fisiológica, as primeiras alterações

causadas pelo envelhecimento de sementes relacionam-se com problemas e lesões nas membranas celulares (McDonald, 1999), com notória importância aos danos ligados à membrana mitocondrial interna, assim, ocorrendo insuficiência do metabolismo aeróbico, redução da fosforilação oxidativa, e conseqüente, redução na produção de energia (Benamar et al., 2003). Algumas sementes ficam sob condições temporárias de baixa disponibilidade de O₂ (hipóxia) durante a embebição, nesse caso o etanol, produto da respiração anaeróbica, é acumulado no interior da semente (Bewley et al., 2012). O processo de acumulação de etanol envolve a oxidação de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina (NADH) e resulta na produção de pequenas quantidades de ATP, fundamental para a sobrevivência de várias espécies sob condições de hipóxia (Kennedy; Rumpho; Fox, 1992). O déficit de O₂ causado pelo excesso hídrico causa a repressão da síntese de polipeptídios aeróbicos e a indução da síntese de polipeptídeos anaeróbicos (Sachs et al., 1980), sendo a maioria desses polipeptídeos identificados como enzimas envolvidas na fermentação e metabolismo de açúcares-fosfatados, cuja síntese é regulada em nível de transcrição e de pós-transcrição (Drew, 1997). O oxigênio serve como aceptor de elétrons na fosforilação oxidativa que regenera o ATP, principal fonte de energia para o metabolismo aeróbico celular e na sua ausência, o metabolismo fermentativo é ativado com o propósito de manter a produção de energia e agentes redutores através da regeneração do Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina (NAD⁺) (Dennis et al., 2000), que junto à alocação de açúcares tem função crucial na sobrevivência de plantas sob anoxia (Bouny; Saglio, 1996; Drew, 1997).

Espécies estudadas

Dentre as espécies florestais da Caatinga, com seus múltiplos usos pode-se destacar:

- *Myracrodruon urundeuva* Allemão, conhecida popularmente como aroeira-do-sertão pertencente à família Anacardiaceae, espécie decídua, heliófita e seletiva xerófita. Capaz de suportar temperaturas altas, solos salinos, com baixa fertilidade e grande dessecação. O porte varia de acordo com o seu local de ocorrência, podendo atingir até 30 metros de altura, com floração dos meses de julho a setembro e a maturação dos frutos de setembro a outubro (Santin e Leitão-Filho 1991; Lorenzi 1992; Carvalho 1994; Gurgel-Garrido et al. 1997; Figueirôa et al. 2004; Andrade et al. 2013). Possui grande valor econômico devido à qualidade de sua madeira e pela presença de grandes quantidades de substâncias bioativas em sua entrecasca, a exemplo dos taninos, que possuem propriedades anti-inflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes (Teófilo et al. 2004; Dornelles et al. 2005).

- *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L.P.Queiroz, também conhecida como catingueira-verdadeira, é uma espécie arbórea endêmica do bioma Caatinga e uma das espécies de mais ampla dispersão, e mais exploradas, como fonte de lenha, carvão vegetal, bem como para fins medicinais e forrageiros (Figueirôa et al., 2005).
- *Amburana cearensis* (Allemão) A.C.Sm., popularmente conhecida como “umburana-de-cheiro”, pertence à família Fabaceae. Com grande contribuição para o bioma Caatinga, *A. cearensis* é comumente encontrada no Nordeste do Brasil. Pode crescer não apenas em ambientes semiáridos, mas também apresenta boa adaptação à floresta tropical. Possui importância comercial por suas diversas aplicações, amplamente utilizadas em carpintaria, perfumaria e fins farmacêuticos. Esse é um dos motivos pelos quais está listada como espécie em extinção (Hilton-Taylor, 2000).
- *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, da família Leguminosae – Mimosoideae, é conhecida popularmente como angico, e constitui umas das plantas do bioma Caatinga. É empregada no tratamento de gripe, asma, bronquite, tosse, anemia, difteria, gastrite, e distúrbios inflamatórios (Monteiro et al., 2006; Agra et al., 2008; Cartaxo et al., 2010).
- *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson, pertencente à família Leguminosae, e conhecida pelos nomes populares de angico-de-bezerro, é uma espécie arbórea sem espinhos, que normalmente atinge altura entre 4 e 10 m (Andrade-Lima, 1989; Maia, 2004). O angico-de-bezerro é considerado de alto valor apícola, indicado para recuperação de solos, combate a erosão e para a primeira fase de restauração florestal, ajudando no crescimento de outras espécies, inclusive de madeiras nobres. Ao mesmo tempo, fornece madeira, lenha, carvão e forragem (Lorenzi, 2002; Maia, 2004).
- *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poiret, pertencente à família Leguminosae-Mimosoideae, é conhecida popularmente como jurema-preta. Árvore que pode atingir de 4 a 6 m de altura, possui tronco de 20 a 30 cm de diâmetro (Lorenzi, 1998). Apresenta grande uso na terapêutica popular, pois o extrato da casca do tronco possui atividade antimicrobiana. Pode ser utilizada como produtora de taninos, em função da quantidade dessa substância nas cascas das árvores (17,74%). Demonstra um alto potencial para a produção de carvão vegetal, visto que obtêm um rendimento de 39% do produto em carvão vegetal. Sua madeira apresenta densidade igual a 0,91 g/cm³, carbono fixo de 71% e poder calorífico de 6.866 cal/g (Pereira Filho et al., 2003; Gonçalves et al., 2005; Paes et al., 2006; Oliveira et al., 2006).

REFERÊNCIAS

AGRA, M. D. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region northeast of Brazil. **Brazilian of Journal Pharmacognosy**. v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

ALBUQUERQUE, K. A. et al. Desenvolvimento de mudas de alface a partir de sementes armazenadas e enriquecidas com micronutrientes e reguladores de crescimento. **Bioscience Journal**. v. 25, n. 5, p. 56-65, 2009.

ANDRADE, A. P.; BRITO C. C.; SILVA JÚNIOR, J.; COCOZZA, F. D. M.; SILVA, M. A. V. Estabelecimento inicial de plântulas de *Myracrodruon urundeuva* Allemão em diferentes substratos. **Revista Árvore**. v. 37, p. 737-745, 2013.

ANDRADE-LIMA, D. **Plantas da Caatinga**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências. 1989. 243p.

BENAMAR, A.; TALLON, C.; MACHEREL, D. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. **Seed Science Research**. v. 13, p. 35-45, 2003.

BEWLEY, J. D.; NONOGAKI, H.; HILHORST, H. W. M.; BRADFORD, K. J. *Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy*. 3a edição. New York: **Springer-Verlag**, p. 392, 2012.

BOUNY, J. M.; SAGLIO, P. H. Glycolytic flux and hexokinase activities in anoxic maize root tips acclimated by hypoxic pretreatment. **Plant Physiology**. v. 111, n. 1, p. 87-94, 1996.

CALIARI, M. F.; SILVA, W. R. da. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 23, n. 1, p. 239-251, 2001.

CARDOSO, V. J. M. **Germinação**. In: Kerbauy, G. B. *Fisiologia Vegetal*. Koogan. p. 386-408, 2004.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A.; ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potencial used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal Ethnopharmacol**. v. 131, p. 326-342, 2010.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Embrapa/CNPq, Brasília. 1994. 640p.

COOLBEAR, P. **Mechanisms of seed deterioration**. In: Basra, A. S. (Ed.). *Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications*. New York: The Haworth Press Inc., p. 223-277, 1995.

COPELAND, L. O.; McDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. New York: Chapman e Hall. 3. ed. p. 409, 1995.

- DENNIS, E.S.; DOLFERUS, R.; ELLIS, M.; RAHMAN, M.; WU, Y.; HOEREN, F. U.; GROVER, A.; ISMOND, K. P.; GOOD, A. G.; PEACOCK, W. J. Molecular strategies for improving waterlogging tolerance in plants. **Journal Experimental Botany**. v. 51, n. 342, p. 89-97, 2000.
- DORNELLES, M. C.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Germinação de diásporos recém-colhidos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) ocorrente no cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 28, p. 399-408, 2005.
- DREW, M. C. Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**. v. 48, p. 223-250, 1997.
- FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Botânica Brasílica**. v. 18, p. 573-580, 2004.
- FIGUEIRÔA, J. M.; PAREYN, F. G. C.; DRUMON, M. A.; ARAÚJO, E. L. M. In: SAMPAIO E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C.; FIGUEIRÔA, J. M. de; SANTOS JÚNIOR, A. G. **Espécies da flora nordestina de importância econômica potencial**. Recife: APNE, p. 101-133, 2005.
- GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivo Instituto de Biociências**. São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.
- GOUSSOUS, S. J.; SAMARAH N. H.; ALQUDAH, A. M.; OTHMAN, M. O. Enhancing seed germination of four crop species using an ultrasonic technique. **Experimental Agriculture**. v. 46, n. 2, p. 231-242, 2010.
- GURGEL GARRIDO, L. M. A.; CRUZ, S. F.; FARIA, H. H.; GARRIDO, M. A. O.; VILAS BOAS, O. Efeitos do sombreamento no crescimento da aroeira – *Myracrodruon urundeuva*. **Revista do Instituto Florestal**. v. 9, p. 47-56, 1997.
- HILTON-TAYLOR, C. **IUCN Red List of Threatened Species**. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. (compiler), 2000.
- KENNEDY, R. A.; RUMPHO, M. E.; FOX, T. C. Anaerobic metabolism in plants. **Plant Physiology**. v. 100, n. 1, p. 1-6, 1992.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Plantarum, São Paulo. 368p., 1992.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. São Paulo: Nova Odessa, v. 2, 368p., 1998.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, p. 197, 2002.
- MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 1. ed. São Paulo: D & Z Computação Gráfica e Editora, 413 p., 2004.

- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Fealq. p. 495, 2005.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Abrates. p. 659, 2015.
- McDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**. v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.
- MUNIZ, M. F. B.; GONÇALVES, N.; GARCIA, D. C.; KULCZYNSKI, S. M. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de melão. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 26, n. 2, p. 144-149, 2004.
- OLIVEIRA, E.; VITAL B. R.; PIMENTA, A. S.; LUCIA R. M. D.; LADEIRA A. M. M.; CARNEIRO A. C. O..Estrutura anatômica da madeira e qualidade do carvão de *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 30, n. 2, p. 311-318, 2006.
- PAES, J. B.; FRANCO C. E. D.; MARINHO I. V.; LIMA, C. R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semiárido brasileiro. **Revista Cerne**, Lavras, v. 12, n. 3, p. 232-238, 2006.
- PEREIRA FILHO, J. M.; VIEIRA, E. L.; SILVA, A. M. A.; CEZAR, M. F.; AMORIM, F. U. Efeito do tratamento com hidróxido de sódio sobre a fração fibrosa, digestibilidade e tanino do feno de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. São Paulo, v. 32, n. 1, p. 70-76, 2003.
- RAMIREZ, H.; CALDERON, A.; ROCCA, W. **Técnicas moleculares para evaluar y mejorar el germoplasma vegetal**. In: Rocca, W.; Mroginski, L. (Ed). Cultivo de Tejidos en la Agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali, CIAT, p. 825-856, 1991.
- RISCA, I. M.; FARTAIS, L.; STIUCA, P. "Ultrasound effects contributions on the Norway spruce seeds germination (*Picea abies* (L.) Karsten)," **Genetics and Molecular Biology**. p. 87-88, 2007.
- SACHS, M. M.; FREELING, M.; OKIMOTO, R. The anaerobic proteins of maize. **A Cell Press Journal**. v. 20, p. 761-767, 1980.
- SANTIN, D. A.; LEITÃO FILHO, H. F. Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire Allemão (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**. v. 14, p. 133-145, 1991.
- SANTOS, C. M. R.; MENEZES, N. L.; VILLELA, F. A. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de feijão envelhecidas artificialmente. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 26, n. 1, 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, p. 888, 2017.
- TEÓFILO, E. M.; SILVA, S. O.; BEZERRA, A. M. E.; FILHO, S. M.; SILVA F. D. B. Qualidade fisiológica de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) em função

do tipo de embalagem, ambiente e tempo de armazenamento. **Revista Ciência Agronômica**. v. 35, p. 371-376, 2004.

TILLMANN, M. A.; MIRANDA, D. In: PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O.; BARROS, A. C. A. **Sementes: Fundamentos Científicos e tecnológicos**. p. 470, 2006.

WENDT, L.; MALAVASI, M. M.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; GOMES JUNIOR, F. G. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v. 12, n. 2, p. 166-171, 2017.

CAPÍTULO 1

TESTE DE VIGOR DE SEMENTES FLORESTAIS BASEADO NA LIBERAÇÃO DE ETANOL

RESUMO

Testes rápidos que permitam a avaliação do potencial fisiológico são parâmetros essenciais para programas de produção de sementes e mudas com qualidade. O objetivo do trabalho foi estabelecer os parâmetros de um método de avaliação do vigor de sementes de *Myracrodruon urundeuva*, *Cenostigma pyramidale* e *Amburana cearensis* por meio da análise da produção de etanol. Avaliou-se a eficiência do teste de etanol, medido com etilômetro modificado, como teste de vigor para sementes de espécies nativas. Num primeiro experimento foram testados seis lotes de *M. urundeuva*, com esquema fatorial (lotes \times pesos de sementes \times períodos de embebição). Para cada lote foram colocadas 1,0 e 2,0 g de sementes em frascos de vidro, acrescidos de 0,5 mL de água destilada, lacrados, e incubadas a 40 °C durante 2, 4, 6, 8 e 24 horas. Num segundo experimento testou-se sete lotes de *C. pyramidale*, e cinco lotes de *A. cearensis* em esquema fatorial (lotes \times volumes de água de embebição \times períodos de embebição), onde foram colocadas 20 sementes em frascos de vidro, acrescidos de 0,5 e 1,0 mL de água destilada, lacrados, e incubadas a 40 °C durante 2, 4, 6, 8 e 24 horas. A qualidade fisiológica das sementes foi avaliada, também, pelos testes de germinação e condutividade elétrica. A utilização de 1,0 g de sementes embebidas em 0,5 mL de água e avaliação de etanol em seis horas foi mais eficiente para distinguir lotes de *M. urundeuva* quanto ao vigor. Para as sementes de *C. pyramidale*, e de *A. cearensis*, 20 sementes embebidas em 1,0 mL de água em 6 horas se mostrou mais eficiente. O teste de etanol mostrou ser rápido e preciso, permitindo diferenciar os lotes, assim como os testes de germinação e condutividade elétrica.

Palavras-chave: *Myracrodruon urundeuva*, *Cenostigma pyramidale*, *Amburana cearensis*, Etilômetro, Qualidade fisiológica.

ABSTRACT

Rapid tests that allow the assessment of physiological potential are essential parameters for quality seed and seedling production programs. The objective of this work was to establish the parameters of a method to evaluate the vigor of *M. urundeuva*, *C. pyramidale* and *A. cearensis* seeds through the analysis of ethanol production. The efficiency of the ethanol test, measured with a modified Ethylometer, was evaluated as a vigor test for seeds of native species. In a first experiment, six lots of *Myracrodruon urundeuva* were tested, with a factorial scheme (lots \times seed weights \times soaking periods). For each batch, 1,0 and 2,0 g of seeds were placed in glass flasks, added to 0,5 ml of distilled water, sealed, and incubated at 40 °C for 2, 4, 6, 8 and 24 hours. In a second experiment, seven lots of *Cenostigma pyramidale* and five lots of *Amburana cearensis* were tested in a factorial scheme (lots \times volumes of soaking water \times soaking periods), where 20 seeds were placed in glass flasks, plus 0,5 and 1,0 mL of distilled water, sealed, and incubated at 40 °C for 2, 4, 6, 8 and 24 hours. The physiological quality of the seeds was also evaluated by germination and electrical conductivity tests. The use of 1,0 g of seeds soaked in 0,5 mL of water and ethanol evaluation in six hours was more efficient to distinguish *M. urundeuva* lots in terms of vigor. For *C. pyramidale* and *A. cearensis*, 20 seeds soaked in 1,0 mL of water in six hours proved to be more efficient. The ethanol test proved to be fast and accurate, allowing batch differentiation, as well as germination and electrical conductivity tests.

Keywords: *Myracrodruon urundeuva*, *Cenostigma pyramidale*, *Amburana cearensis*, Ethylometer, Physiological quality.

1.1 INTRODUÇÃO

Para a regeneração das florestas, a fim de combater as mudanças climáticas e a perda de diversidade (Gilroy et al., 2014), é de fundamental importância o conhecimento da germinação e propagação de sementes (Scalon, et al. 2012). Uma germinação expressiva, rápida e uniforme de espécies florestais, é extremamente necessária para fins de semeadura devido ao interesse de sua utilização em reflorestamentos (Bandeira et al., 2017).

A qualidade fisiológica de sementes florestais está atrelada a diversos fatores, sendo caracterizada pelos aspectos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos (Gomes et al., 2013). A avaliação da qualidade fisiológica em sementes florestais é de extrema importância para a conservação e restauração, pois determina o valor das sementes de uma matriz antes de selecioná-las como doadora de sementes (Lima et al., 2014).

A partir do ponto de maturidade fisiológica, a semente atinge a sua máxima qualidade fisiológica: vigor, germinação, tamanho e peso de matéria seca (Carvalho e Nakagawa, 2012), então realizar a coleta antes da maturidade fisiológica pode acarretar em sementes com o desenvolvimento incompleto do eixo embrionário, com conseqüente redução da viabilidade e vigor das sementes (Dornelas et al., 2015).

Os índices de maturação são parâmetros práticos que permitem inferir sobre o estágio de desenvolvimento das sementes e podem ser utilizados quando se deseja a determinação da época adequada de colheita de uma dada espécie (Agustini et al., 2015), onde a deterioração de sementes envolve mudanças biológicas, fisiológicas e bioquímicas, metabolismo dos ácidos nucleicos, estrutura da membrana e permeabilidade, atividades enzimáticas, intensidade da respiração, peroxidação de lipídios, acúmulo de espécies reativas de oxigênio, e mecanismo de reabilitação (Wang et al., 2012). Nesse caso, ocorre insuficiência do metabolismo aeróbio, redução da fosforilação oxidativa, e conseqüente redução na produção de energia (Benamar et al., 2003). Sob tais condições de deterioração, as células podem produzir energia por fermentação anaeróbica, que gera como produto final o etanol e o ácido láctico (Kennedy et al., 1992).

A produção de etanol por sementes embebidas é um potencial indicador do vigor, visto que a produção de etanol por sementes deterioradas é superior em relação às sementes de alto vigor (Buckley e Buckley, 2009). A produção de etanol é iniciada, ou então aumentada, pela perda de integridade da membrana mitocondrial, e a quantificação pelo teste de etanol tem um bom potencial para examinar o nível de deterioração das sementes. O etanol pode ser quantificado com métodos de pesquisa, equipamento analítico e facilmente medidos com

bafômetros (etilômetros) (Kodde et al., 2012), tornando-se um bom candidato prático para avaliar o vigor de sementes.

As florestas secas possuem cerca de 691 espécies reconhecidas, incluindo 350 espécies vegetais ameaçadas de extinção (MMA, 2016), entretanto, grande parte da diversidade e de seus serviços ecossistêmicos estão sob ameaças (Manhães et al., 2016), já tendo sido removidos quase 46% da cobertura vegetal original (MMA, 2017). A restauração tem sido de grande importância na recuperação das populações vegetais deste ambiente, no entanto, o sucesso das ações depende de planejamentos em escalas mais amplas, permitindo avaliar quais áreas responderão de forma eficiente às intervenções, e que apresentarão maiores probabilidades de irradiar os benefícios dessas ações para o sistema (Crouzeilles e Curran, 2016).

Dentre as espécies florestais, pode-se destacar, por sua importância biológica e uso múltiplo, *Myracrodruon urundeuva* Allemão, *Cenostigma pyramidale* Tul., e *Amburana cearensis* Allemão A.C.Smith. Essas espécies arbóreas, com potencial tanto para exploração madeireira e frutos, são ferramentas de estudos, que visam o aperfeiçoamento de técnicas para o seu desenvolvimento, destacando assim, a qualidade das sementes para alcançar o sucesso na produção de mudas (Pinheiro et al., 2016). Essas espécies também são amplamente utilizadas para fins medicinais, podendo constituir um dos únicos recursos terapêuticos em regiões mais carentes (Coradin et al., 2018).

Desta forma, o objetivo dessa pesquisa foi estabelecer os parâmetros de um método de avaliação do vigor de sementes de *M. urundeuva*, *C. pyramidale* e *A. cearensis* por meio da análise da produção de etanol.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Material vegetal

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Análises de Sementes (LASESA) da Embrapa Semiárido, município de Petrolina-PE.

Lotes de sementes foram coletados em diferentes anos e acondicionados em sacos de pano em câmara fria (10 ± 1 °C, UR_{ar} de 40%) até o início do experimento (Tabela 1). As diferenças entre os lotes quanto ao ano da safra e origem são desejadas para melhorar a representação e variabilidade para explicar os resultados.

Tabela 1. Lotes de sementes utilizados no experimento. Espécie, origem, coordenadas geográficas das matrizes, safras e identificações atribuídas às safras.

| Espécies | Origem | Coordenadas | Safras | ID* |
|-------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|--------|----------------|
| <i>Myracrodruon urundeuva</i> | Distrito Jutaí - Petrolina - PE | 8°34'13.1" S e 40°11'02.2" W | 2010 | Jutaí 2010 |
| | | | 2012 | Jutaí 2012 |
| | | | 2013 | Jutaí 2013 |
| | | | 2014 | Jutaí 2014 |
| | | | 2015 | Jutaí 2015 |
| | | | 2016 | Jutaí 2016 |
| <i>Cenostigma pyramidale</i> | Distrito Massaroca - Juazeiro - BA | 9°52'09" S e 40°16'00" W | 2012 | Massaroca 2012 |
| | | | 2013 | Massaroca 2013 |
| <i>Cenostigma pyramidale</i> | Distrito Juremal - Juazeiro - BA | 9°43'51.12" S e 40°21'02.52" W | 2010 | Juremal 2010 |
| | | | 2011 | Juremal 2011 |
| | | | 2014 | Juremal 2014 |
| <i>Cenostigma pyramidale</i> | Distrito Salitre - Juazeiro - BA | 9°42'30.89" S e 40°34'48.89" W | 2015 | Salitre 2015 |
| | | | 2016 | Salitre 2016 |
| <i>Amburana cearensis</i> | Lagoa Grande - PE | 8°34'04.00" S e 40°10'18.00" W | 2009 | Lagoa 2009 |
| | | | 2012 | Lagoa 2012 |
| | | | 2014 | Lagoa 2014 |
| | | | 2016 | Lagoa 2016 |
| | | | 2017 | Lagoa 2017 |

*ID - Denominação atribuída às safras.

1.2.2 Teor de água (TA)

O teor de água foi determinado com duas repetições de 50 sementes de cada lote de *M. urundeuva*, *C. pyramidale*, e *A. cearensis*. As sementes foram pesadas inicialmente, e em seguida colocadas em estufa a 105 ± 3 °C, durante 24 horas. Após o período, as sementes foram pesadas novamente e os resultados foram expressos em porcentagem, na base úmida (Brasil, 2009).

$$\% \text{ de Umidade } (U) = \frac{100(P - p)}{P - t}$$

Onde: % de Umidade (U) = Teor de água da semente; P = peso inicial; p = peso final; t = tara.

Unidade: %

1.2.3 Teste de germinação (GE) e primeira contagem (PC)

Os testes de germinação, primeira contagem (*M. urundeuva* – 14 dias, *C. pyramidale* – 7 dias, *A. cearensis* – 10 dias, após instalação do teste de germinação) e contagem da germinação final (*M. urundeuva* – 25 dias, *C. pyramidale* - 10 dias, *A. cearensis* – 30 dias, após instalação do teste de germinação) foram avaliados em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes por lote. Para as sementes de *M. urundeuva*, diferentes lotes foram semeados em caixas acrílicas (11cm × 11cm × 3,5cm), utilizando-se como substrato duas folhas de papel mata-borrão. As sementes de *M. urundeuva* foram germinadas em câmara B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas (Brasil, 2013). Para *C. pyramidale* e *A. cearensis*, foi utilizado papel de germinação embebido em água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes de *C. pyramidale* foram germinadas em câmara B.O.D. a 25 °C e *A. cearensis* a 30 °C sob fotoperíodo de 12 horas (Brasil, 2013).

$$G = \left(\frac{N}{A}\right) \times 100$$

Onde: G= Germinação (%); N = número de sementes germinadas; A = número de sementes na amostra. Unidade: %

1.2.4 Condutividade elétrica (CE)

A condutividade elétrica de *M. urundeuva*, foi avaliada utilizando, com quatro repetições de 50 sementes embebidas em 25 mL de água destilada durante 24 horas a 25 °C (Vieira e Carvalho, 1994). Para sementes de *C. pyramidale*, e *A. cearensis* foram quatro repetições de 25 sementes embebidas em 75 mL de água deionizada durante 24 horas a 25 °C (Vieira e Krzyzanowski, 1999).

$$CE = \frac{L - B}{M}$$

Onde: CE = condutividade elétrica; L = leitura da amostra no condutivímetro de bancada expressos em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; B = leitura do “branco”, água deionizada, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; M = massa da amostra em gramas.

1.2.5 Teste de etanol (ET)

A formação de etanol foi avaliada, com etilômetro modificado Dräger Alcotest® 6810, em delineamento experimental inteiramente casualizado de acordo com a espécie. Para sementes de *M. urundeuva* usou-se esquema fatorial 6×2×5 (lotes × pesos de sementes × períodos de embebição) com quatro repetições. Foram colocadas 1,0 e 2,0 g de sementes em frascos de vidro tipo penicilina (30 mL), acrescidos de 0,5 mL de água destilada, lacrados, e incubadas a 40 °C durante 2, 4, 6, 8 e 24 horas. Para as sementes de *C. pyramidale*, usou-se esquema fatorial 7×2×5 (lotes × volumes de água de embebição × períodos de embebição) com quatro repetições. Foram colocadas 20 sementes em frascos de vidro tipo penicilina (30 mL), acrescidos de 0,5 mL e 1,0 mL de água destilada, lacrados, e incubadas a 40 °C durante 2, 4, 6, 8 e 24 horas. Para as sementes de *A. cearensis*, usou-se esquema fatorial 5×2×5 (lotes × volumes de água de embebição × períodos de embebição) com três repetições que foram colocadas 20 sementes em frascos de vidro tipo penicilina (30 mL), acrescidos de 0,5 e 1,0 mL de água destilada, lacrados, e incubadas a 40 °C durante 2, 4, 6, 8 e 24 horas (Ornellas et al., 2019). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g.L}^{-1}$ após a leitura estabilizada.

1.2.6 Procedimentos estatísticos

A normalidade e homocedasticidade dos dados dos testes de qualidade fisiológica foram testadas e analisadas. Para o teste de etanol, as médias dos fatores lotes e quantidade de sementes, foram agrupadas pelo Teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR® 5.3 (Ferreira, 2011). Foi realizada, através do software PAleontological STatistics 3.20 (PAST 3.20), a correlação de Pearson (r), considerando todas as variáveis.

1.3 RESULTADOS

1.3.1 Teor de água

O teor de água inicial das sementes de *M. urundeuva*, *C. pyramidale* e *A. cearensis* apresentou uniformidade entre os lotes. Em sementes de *M. urundeuva*, os lotes Jutaí 2012 e Jutaí 2016 apresentaram teor de água de 11,3%, sendo superior aos demais lotes (Tabela 2). Nas sementes de *C. pyramidale*, o lote Massaroca 2012 apresentou teor de água de 10,2%, sendo inferior aos demais lotes (Tabela 2). Em sementes de *A. cearensis*, o lote Lagoa 2014 apresentou teor de água de 10,3%, sendo superior aos demais lotes (Tabela 2).

1.3.2 Qualidade fisiológica de sementes

O lote de sementes de *M. urundeuva* coletado em Jutaí 2010 apresentou 62,7% de germinação, enquanto o lote Jutaí 2016 obteve germinação de 85%. Entre os lotes Jutaí 2012 e Jutaí 2013 não foi observada diferença significativa nos valores de germinação (Tabela 2). Para a primeira contagem da germinação, o lote Jutaí 2010 apresentou menor porcentagem de plântulas normais, seguindo os resultados do teste de germinação (Tabela 2). Entre os lotes Jutaí 2014, Jutaí 2015 e Jutaí 2016 não foi observada diferença significativa nos valores de germinação (Tabela 2). Quanto à condutividade elétrica das sementes de *M. urundeuva*, houve maior perda de eletrólitos no lote de Jutaí 2010, e não houve diferença significativa entre os lotes Jutaí 2012, Jutaí 2013, Jutaí 2014 e Jutaí 2015 (Tabela 2).

A germinação dos lotes de *C. pyramidale* de Juremal 2011, Massaroca 2012, Juremal 2014, e Salitre 2016, foram superiores aos lotes de Juremal 2010 e Massaroca 2013. A germinação do lote Juremal 2014 com 97%, mostrou um valor significativamente mais elevado quando comparado aos lotes Juremal 2010 e Massaroca 2013. Os lotes Juremal 2011 e Massaroca 2012, apesar do longo período de armazenamento, apresentaram germinação com 80% e 88%, respectivamente (Tabela 2). A maior expressão do vigor foi obtida pelo aumento da velocidade de formação das plântulas, sendo que os valores de primeira contagem da germinação, de sementes coletadas em Juremal 2014, diferiu estatisticamente dos demais lotes (Tabela 2). Em sementes de *C. pyramidale*, houve maior quantidade de eletrólitos liberados nos lotes Juremal 2010 e Salitre 2015, enquanto o lote Juremal 2014 apresentou maior vigor devido a menor quantidade de eletrólitos liberados, conseguindo assim diferenciar os lotes (Tabela 2).

As sementes de *A. cearensis* não apresentaram diferença estatística nos altos valores de germinação entre os lotes de Lagoa 2016 e Lagoa 2017. Os lotes Lagoa 2012 e Lagoa 2014 não apresentaram diferenças de germinação, e o lote Lagoa 2009 não obteve germinação (Tabela

2). Para a primeira contagem de germinação, o lote Lagoa 2016 apresentou maior porcentagem de plântulas normais quando comparados com os demais lotes (Tabela 2). O teste de condutividade elétrica confirmou diferenças entre as sementes de *A. cearensis*. Foi possível diferenciar os lotes mais vigorosos que mostraram menor condutividade elétrica que foram Lagoa 2016 e 2017, enquanto sementes do lote 2009 foram classificados de baixo vigor, devido à alta condutividade elétrica e maior liberação de lixiviados (Tabela 2).

Tabela 2. Teor de água (TA), germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de *M. urundeuva*, *C. pyramidale* e *A. cearensis*.

| <i>M. urundeuva</i> | | | | |
|----------------------|-------------|---------|---------|--|
| Lote | TA | GE | PC | CE |
| | -----%----- | | | $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ |
| Jutaí 2010 | 11,1 | 62,7 b | 62,7 b | 120,2 b |
| Jutaí 2012 | 11,3 | 77,3 ab | 72,0 ab | 102,7 ab |
| Jutaí 2013 | 11,2 | 77,3 ab | 68,7 ab | 97,0 ab |
| Jutaí 2014 | 11,1 | 83,3 a | 78,7 a | 104,7 ab |
| Jutaí 2015 | 11,0 | 85,3 a | 82,0 a | 100,2 ab |
| Jutaí 2016 | 11,3 | 85,0 a | 79,0 a | 99,0 a |
| CV (%) | - | 8,4 | 7,7 | 10,3 |
| <i>C. pyramidale</i> | | | | |
| Lote | TA | GE | PC | CE |
| | -----%----- | | | $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ |
| Juremal 2010 | 10,4 | 40 e | 40 e | 80,2 a |
| Juremal 2011 | 10,7 | 80 bc | 79 bc | 67,2 b |
| Massaroca 2012 | 10,2 | 88 ab | 88 ab | 63,8 b |
| Massaroca 2013 | 10,6 | 66 d | 65 d | 65,0 b |
| Juremal 2014 | 10,7 | 97 a | 96 a | 48,7 c |
| Salitre 2015 | 10,7 | 73 cd | 70 cd | 85,7 a |
| Salitre 2016 | 10,4 | 89 ab | 88 ab | 69,7 b |
| CV (%) | - | 6,3 | 6,3 | 11,5 |
| <i>A. cearensis</i> | | | | |
| Lote | TA | GE | PC | CE |
| | -----%----- | | | $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ |
| Lagoa 2009 | 10,2 | 0 c | 0 c | 21,2 a |
| Lagoa 2012 | 9,9 | 7,5 b | 1,5 c | 9,5 b |
| Lagoa 2014 | 10,3 | 7,5 b | 0,25 c | 9,7 b |
| Lagoa 2016 | 10,2 | 93 a | 31,5 a | 5,0 c |
| Lagoa 2017 | 9,0 | 96 a | 23 b | 5,1 c |
| CV (%) | - | 3,85 | 19,4 | 35,3 |

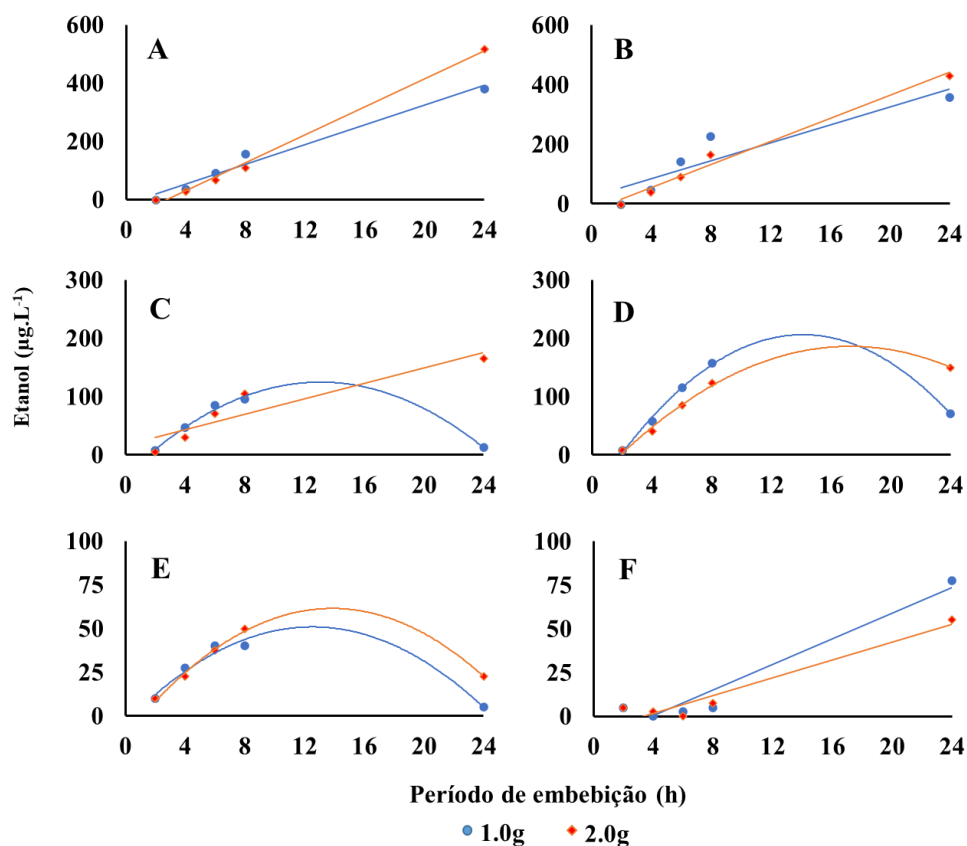
*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

1.3.3 Teste de etanol

Na avaliação do vigor de sementes de *M. urundeuva*, por meio do teste de etanol, os lotes de sementes colhidas em Jutai 2010 e Jutai 2012 apresentaram maior liberação de etanol que nos demais lotes. O teste de etanol é um método promissor capaz de distinguir lotes de sementes com diferentes níveis de vigor, e para essa espécie, utilizando 1,0 g de sementes, embebidas em 0,5 mL de água destilada, conseguiu distinguir os níveis de qualidade fisiológica nos lotes com resultados que podem ser avaliados a partir de seis horas de embebição (Figuras 1A e 1B).

Em sementes de *C. pyramidale*, o lote Juremal 2010, com 1,0 mL de água destilada, a partir do período de seis horas de embebição, mostrou maior liberação de etanol, diferindo significativamente dos demais lotes (Figura 2A). Os lotes Juremal 2011, Massaroca 2012, Massaroca 2013, e Juremal 2014, as sementes embebidas com 1,0 mL de água destilada, a partir do período de seis horas de embebição, mostraram altos teores de liberação de etanol (Figuras 2B-E). Por outro lado, as sementes dos lotes Massaroca 2012, Massaroca 2013, Juremal 2014, Salitre 2015, e Salitre 2016, quando embebidas, em 0,5 mL de água destilada, apresentaram respostas semelhantes (Figuras 2C-2G).

Para as sementes de *A. cearensis*, nos lotes Lagoa 2009, Lagoa 2012 e Lagoa 2014, com sementes embebidas, a partir de seis horas, e em 1,0 mL de água destilada, houve maior liberação de etanol, significativamente, quando comparados aos demais lotes, sendo então detectado os estágios iniciais de deterioração, que ocorrem de maneira progressiva, e determinando a queda da qualidade fisiológica das sementes (Figuras 3A, 3B, 3C).



A – Jutai 2010

$$1.0g - \hat{y} = 16.992x - 15.026; R^2 = 99.59^{**}$$

$$2.0g - \hat{y} = 24.08x - 65.907; R^2 = 99.99^{**}$$

B – Jutai 2012

$$1.0g - \hat{y} = 15.078x + 23.316; R^2 = 98.78^{**}$$

$$2.0g - \hat{y} = 19.394x - 24.171; R^2 = 99.61^{**}$$

C – Jutai 2013

$$1.0g - \hat{y} = -0.9396x^2 + 24.556x - 35.799; R^2 = 99.42^{**}$$

$$2.0g - \hat{y} = -1.3051x + 60.984; R^2 = 99.29^{**}$$

D – Jutai 2014

$$1.0g - \hat{y} = -1.3857x^2 + 39.076x - 69.473; R^2 = 99.85^{**}$$

$$2.0g - \hat{y} = -0.7877x^2 + 27.189x - 48.615; R^2 = 99.89^{**}$$

E – Jutai 2015

$$1.0g - \hat{y} = -0.3493x^2 + 8.7447x - 3.8373; R^2 = 96.42^{**}$$

$$2.0g - \hat{y} = -0.3776x^2 + 10.462x - 10.997; R^2 = 98.91^{**}$$

F – Jutai 2016

$$1.0g - \hat{y} = 3.669x - 14.288; R^2 = 99.84^{**}$$

$$2.0g - \hat{y} = 2.5389x - 8.342; R^2 = 99.04^{**}$$

Figura 1. Teor de etanol liberado por 1,0 e 2,0 g de sementes de *M. urundeuva* em 0,5 mL de volume de água de embebição em função do período nos diferentes lotes. (A) Jutai 2010, (B) Jutai 2012, (C) Jutai 2013, (D) Jutai 2014, (E) Jutai 2015, (F) Jutai 2016.

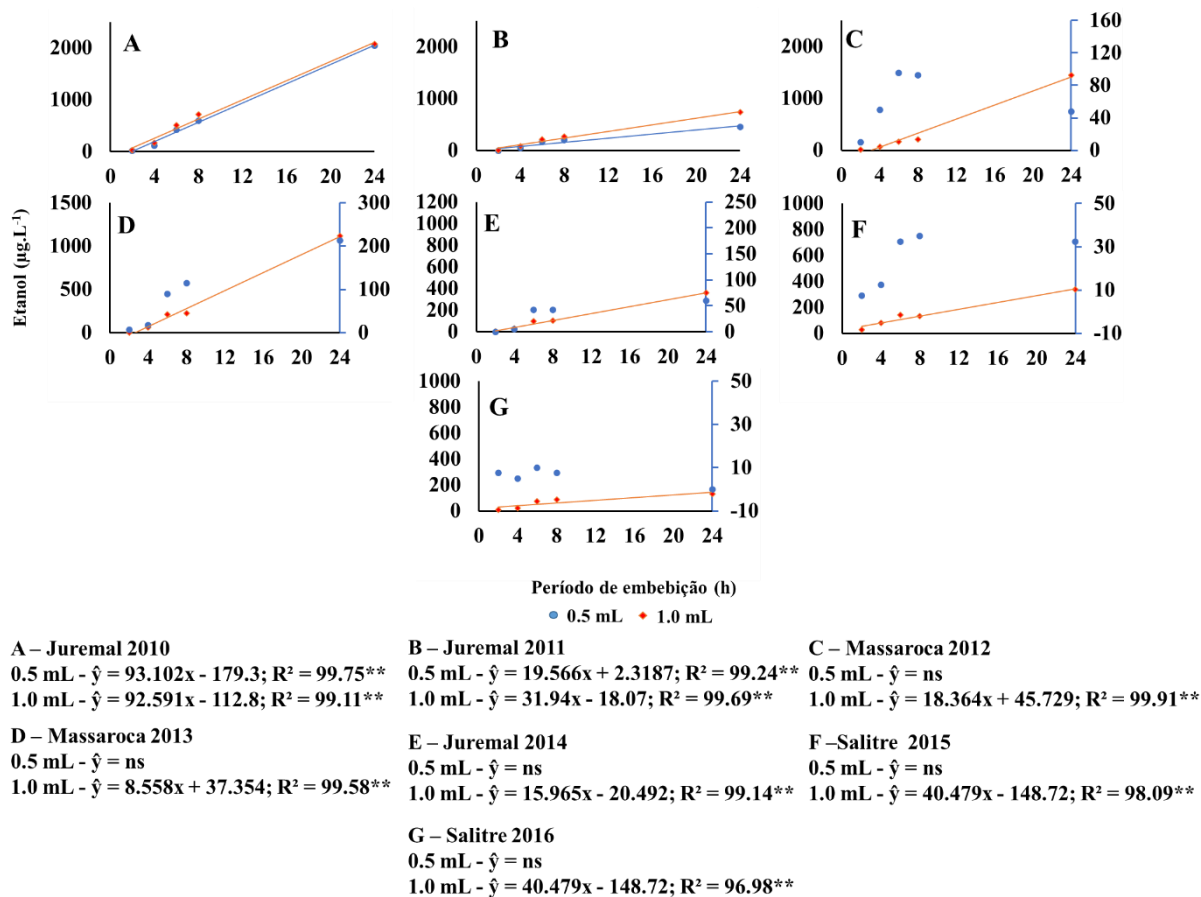
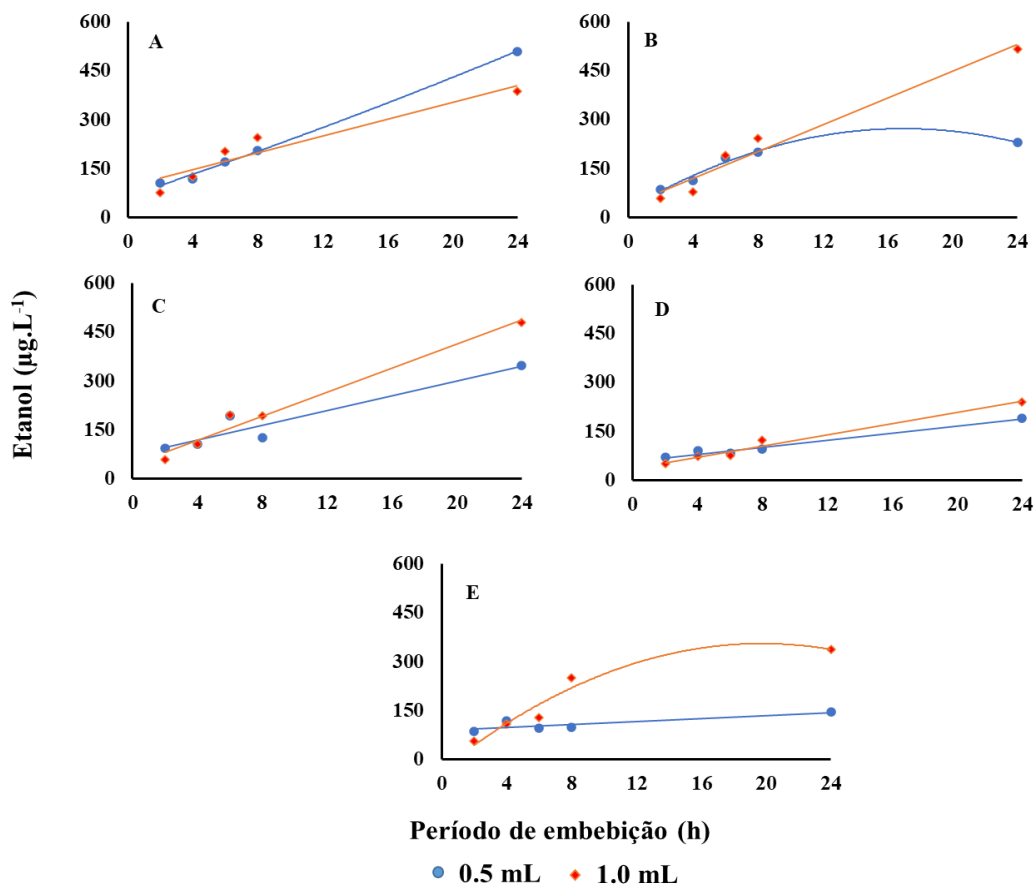


Figura 2. Teor de etanol liberado por 20 sementes de *C. pyramidale* em 0,5 e 1,0 mL de volume de água de embebição em função do período nos diferentes lotes. (A) Juremal 2010, (B) Juremal 2011, (C) Massaroca 2012, (D) Massaroca 2013, (E) Juremal 2014, (F) Salitre 2015, (G) Salitre 2016.



A – Lagoa 2009

0.5 mL - $\hat{y} = 0.0831x^2 + 16.54x + 65.41$; $R^2 = 99.66^{**}$

1.0 mL - $\hat{y} = 12.893x + 94.537$; $R^2 = 99.73^{**}$

C – Lagoa 2014

0.5 mL - $\hat{y} = 11.269x + 74.158$; $R^2 = 90.22^{**}$

1.0 mL - $\hat{y} = 18.364x + 45.729$; $R^2 = 97.78^{**}$

B – Lagoa 2012

0.5 mL - $\hat{y} = -0.8555x^2 + 29.016x + 26.402$; $R^2 = 96.77^*$

1.0 mL - $\hat{y} = 20.513x + 37.479$; $R^2 = 96.52^{**}$

D – Lagoa 2016

0.5 mL - $\hat{y} = 5.4059x + 58.426$; $R^2 = 97.99^{**}$

1.0 mL - $\hat{y} = 8.558x + 37.354$; $R^2 = 97.91^{**}$

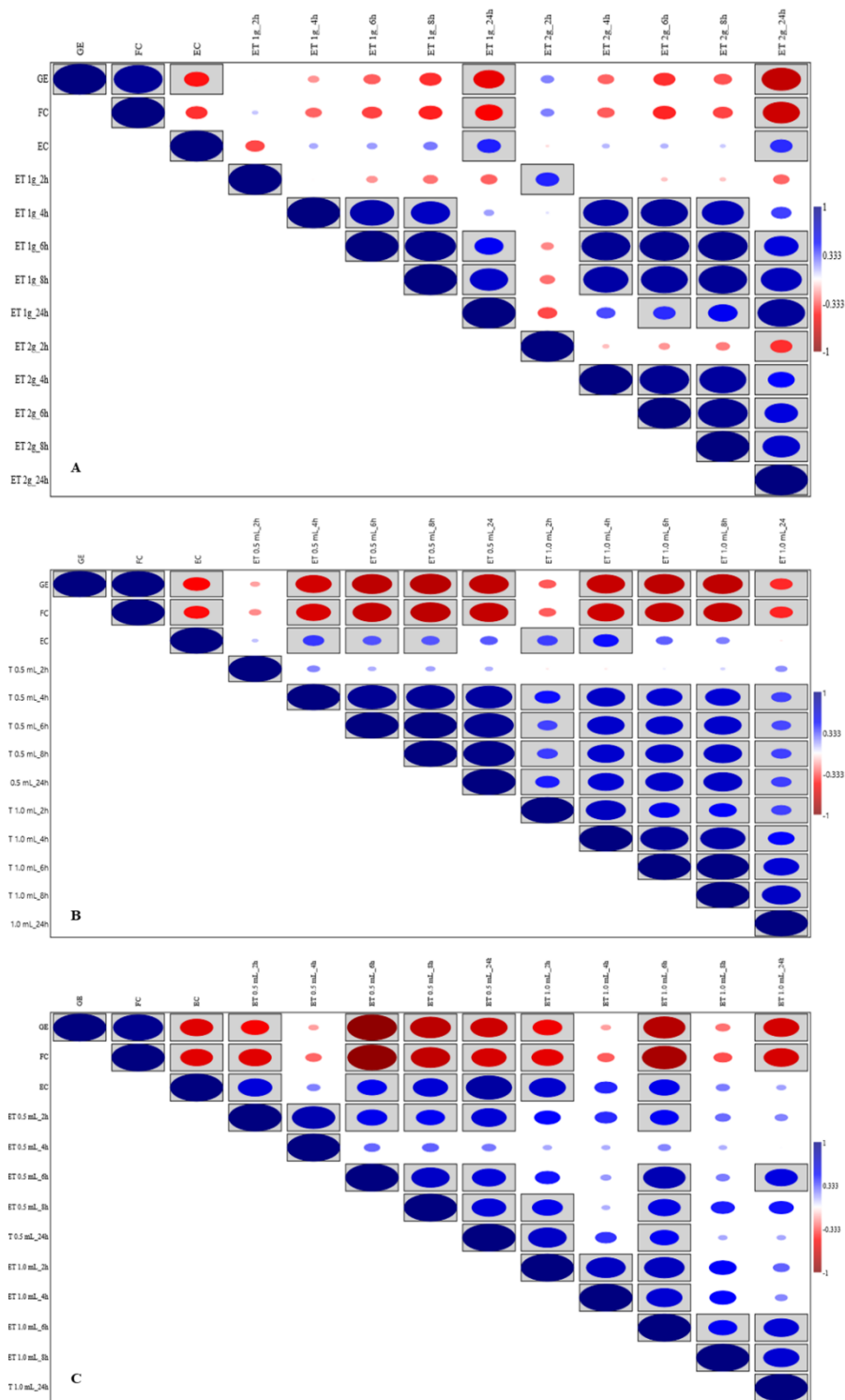
E – Lagoa 2017

0.5 mL - $\hat{y} = 2.3099x + 89.669$; $R^2 = 72.70^*$

1.0 mL - $\hat{y} = -0.9891x^2 + 39.012x - 28.952$; $R^2 = 94.99^{**}$

Figura 3. Teor de etanol liberado por 20 sementes de *A. cearensis* em 0,5 e 1,0 mL de água destilada em função do período nos diferentes lotes. (A) Lagoa 2009, (B) Lagoa 2012, (C) Lagoa 2014, (D) Lagoa 2016 e (E) Lagoa 2017.

Correlações de Pearson entre as avaliações de qualidade fisiológica de sementes de *M. urundeuva*, *C. pyramidale*, *A. cearensis* e o teste de etanol foram analisadas. Nas sementes de *M. urundeuva*, foram observadas correlações negativas entre o teste de etanol e os testes de germinação e primeira contagem, e correlações positivas entre o teste de etanol e o teste de condutividade elétrica, quando foi utilizado 1,0 g de sementes embebidas (0,5 mL) em água destilada, durante 24h (Figura 4A). Nas sementes de *C. pyramidale*, houve altas correlações negativas entre o teste de etanol e os testes de germinação e primeira contagem, contendo 20 sementes embebidas em 0,5 mL de água destilada, nos períodos de tempo de 4, 6, 8, e 24h, e pequenas correlações positivas entre o teste de etanol e o teste de condutividade elétrica, contendo 20 sementes embebidas em 0,5 mL de água destilada, nos períodos de 4, 6, e 8h (Figura 4B). Nas sementes de *A. cearensis*, houve alta correlação negativa entre o teste de etanol e os testes de germinação e primeira contagem, contendo 20 sementes embebidas em 0,5 mL de água destilada, no período de seis horas, e alta correlação positiva entre o teste de etanol e o teste de condutividade elétrica, contendo 20 sementes embebidas em 0,5 mL de água destilada, no período de tempo de 24h (Figura 4C).



*Azul – correlação positiva; Vermelho – correlação negativa; Tamanho das elipses – intensidade da correlação; Retângulos – correlação significativa ao nível de 5% de probabilidade.

Figura 4. Correlação entre o teste de etanol (ET), primeira contagem (PC), germinação (GE), condutividade elétrica (CE) de sementes de (A) *M. urundeuva*, (B) *C. pyramidale*, (C) *A. cearensis*.

1.4 DISCUSSÃO

O grau de umidade da semente influencia a atividade metabólica da mesma, interferindo nos processos de germinação e deterioração (Peske, 2003). Quanto maior o grau de umidade em sementes maior será a velocidade do processo de deterioração, pois a formação de produtos que acarretam danos imediatos às células, a exemplo dos radicais livres, havendo assim necessidade de testar os lotes quanto ao seu teor de água, objetivando uma menor variação possível (Marcos-Filho, 2015).

O teste de germinação é o mecanismo mais utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de várias espécies de sementes florestais. A primeira contagem do teste de germinação, expressa melhor as diferenças de velocidade de germinação entre lotes do que os índices de velocidade de germinação (Medeiros et al., 2014). Adicionalmente, testes de vigor são ferramentas importantes para avaliar a qualidade fisiológica de sementes florestais, sendo aprimorados constantemente. Um dos objetivos fundamentais dos testes de vigor é detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes de sementes com germinação semelhante, de forma a complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação (Marcos-Filho, 2015). O teste de condutividade elétrica, por apresentar maior rapidez, facilidade de execução e possibilidade de ser padronizado como teste de rotina devido a sua alta reprodutibilidade, pode ser utilizado para obter eficiência para separação de lotes de sementes quanto ao seu vigor, sendo considerado um dos testes mais importantes (Lemes et al., 2015), por isso a necessidade de estudos para padronização em espécies florestais.

Em sementes de melão os resultados foram semelhantes, pois as sementes com menor vigor apresentaram maior produção de etanol, havendo uma relação da enzima desidrogenase alcoólica (ADH) com a respiração anaeróbica, que catalisa a conversão de acetaldeído em etanol, e vice-versa, no metabolismo fermentativo, levado pela falta de integridade das membranas e, principalmente, das mitocôndrias, sendo que a quantificação do etanol produzido e liberado pode fornecer informações importantes relacionados à qualidade fisiológica de sementes (Ornellas et al., 2019). Moncaleano-Escandon et al. (2013) afirmam que sementes de alto vigor mantém estruturada suas membranas celulares, dificultando a entrada e saída de solutos, provenientes da alta seletividade das membranas. Nesse contexto, as sementes menos vigorosas tendem a apresentar membranas com menor integridade, facilitando assim a saída do etanol de forma mais rápida quando comparado com as sementes mais vigorosas. Acredita-se que o etanol seja o produto final menos tóxico da fermentação, pois ele pode se difundir para

fora da célula, enquanto o lactato se acumula e promove a acidificação do citossol (Taiz et al., 2017). O teste de etanol permitiu observar a eficiência, rapidez e confiabilidade do método.

1.5 CONCLUSÃO

O teste de etanol, por etilômetro modificado, para *M. urundeuva* quando realizado com 1,0 g de sementes, embebidas em 0,5 mL de água destilada, por seis horas, e para *C. pyramidale* e *A. cearensis* quando realizado com 20 sementes, embebidas em 1,0 mL de água destilada, por seis horas, é um método rápido e eficiente, podendo distinguir o vigor dos lotes.

1.6 REFERÊNCIAS

Association of Official Seed Analysis – AOSA. Seed vigour handbook. In: AOSA. *The handbook of seed testing*. East Lansing: AOSA; 1983.

AGUSTINI, M. A. B.; WENDT, L.; PAULUS, C.; MALAVASI, M. M. Maturidade fisiológica de sementes de *Moringa oleifera* (LAM). *Revista Inova Ciência & Tecnologia*. n. 1, p. 11-17, 2015.

<file:///C:/Users/fornella/Downloads/inova,+Maturidade+fisiol%C3%B3gica+de+sementes+de+Moringa+oleifera.pdf>

BANDEIRA, A. S.; NUNES, R. T. C.; JUNIOR, E. P.; MORAIS, O. M. Avaliação do potencial fisiológico das unidades de propagação de aroeira (*Myracrodruon urundeuva*), com e sem exocarpo e mesocarpo, em diferentes substratos. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 40, n. 1, p. 53-60, 2017. <http://dx.doi.org/10.19084/RCA15040>

BARBOSA, R. M.; SILVA, C. B.; MEDEIROS, M. A.; CENTURION M. A. P. C.; VIEIRA, R. D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. *Ciência Rural*, 2012. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33123298008>

BENAMAR, A.; TALLON, C.; MACHEREL, D. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated ageing. *Seed Science Research*, Wallingford, v. 13, n. 1, p. 35-45, 2003. <https://doi.org/10.1079/SSR2002122>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, SDA, p. 395, 2009. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instruções para análise de sementes de espécies florestais*, de 17 de janeiro de, Brasília: MAPA, p. 98, 2013. http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/florestal_documento_pdf-ilovepdf-compressed.pdf

BUCKLEY, W. T.; BUCKLEY, K. E. Low-molecular-weight volatile indicators of canola seed deterioration. *Seed Science and Technology*, Wallingford, v. 37, p. 676-690, 2009. <https://doi.org/10.15258/sst.2009.37.3.15>

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. 5 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. *Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste*. Brasília, DF: MMA, 2018. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/142-serie-biodiversidade.html>, Acesso em: 09 de setembro de 2019.

CROUZEILLES, R.; CURRAN, M. Which landscape size best predicts the influence of forest cover on restoration success? - A global meta-analysis on the scale of effect. *Journal of Applied Ecology*. v. 53. p. 440–448, 2016. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2664.12590>

DORNELAS, C. S. M.; ALMEIDA, F. A. C.; NETO, A. F.; SOUSA, D. M. M.; EVANGELISTA, A. P. Desenvolvimento na maturação de frutos e sementes de Urucum (*Bixa orellana* L.). *Scientia Plena*, v. 11, n. 1, 2015. <https://www.scienciaplena.org.br/sp/article/view/2072/1107>

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. 35, p. 1039-1042, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

GILROY, J. J.; WOODCOCK, P.; EDWARDS, F. A.; WHEELER, C.; BAPTISTE, B. L. G.; MEDINA URIBE, C. A.; HAUGAASEN, T.; EDWARDS, D. P. Cheap carbon and biodiversity co-benefits from forest regeneration in a hotspot of endemism. *Nature Clim Change* v. 4, p. 503–507, 2014. <https://doi.org/10.1038/nclimate2200>

GOMES, J. P.; OLIVEIRA, L. M.; SALDANHA, A. P.; MANFREDI, S.; FERREIRA, P. I. Secagem e classificação de sementes de *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret – Myrtaceae quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento. *Floresta e Ambiente*, v. 20, n. 2, p. 207-215, 2013. <http://dx.doi.org/10.4322/floram.2013.018>

KENNEDY, R. A.; RUMPHO, M. E.; FOX, T. C. Anaerobic metabolism in plants. *Plant Physiology*, Bethesda, v. 100, n. 1, p.1-6, 1992. <https://doi.org/10.1104/pp.100.1.1>

KODDE, J.; BUCKLEY, W. T.; GROOT, C. C.; RETIERE, M.; ZAMORA, A. M. V.; GROOT, S. P. C. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. *Seed Science Research*, v. 22, p. 55-62, 2012. <https://doi.org/10.1017/S0960258511000274>

LEMES, E. S.; OLIVEIRA, S.; RODRIGUES, R. R.; ALMEIDA, A. S.; MENEGHELLO, G. E.; TUNES, L. M. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de aveia preta por meio do teste de condutividade elétrica. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*. v. 9, p. 5-10, 2015. <http://revistatca.pb.gov.br/edicoes/volume-09-2015/volume-9-numero-2-abril-2015/tca9202.pdf>

LIMA, C. R.; BRUNO, R. L. A.; SILVA, K. R.G.; PACHECO M. V.; ALVES, E. U. Qualidade fisiológica de sementes de diferentes árvores matrizes de *Poincianella pyramidalis* (Tul.) L. P. Queiroz. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza – CE, v. 45, n. 2, p.370-378, 2014. <http://ccarevista.ufc.br/seer/index.php/ccarevista/article/view/2983/950>

MARCOS-FILHO, J. *Fisiologia de sementes de plantas cultivadas*. Londrina: ABRATES, 2015. 659p.

MEDEIROS, M. A.; TORRES, S. B.; NEGREIROS, M. Z.; MADALENA, J. A. S. Testes de estresse termico em sementes de melao. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v. 9, n. 1, p. 7-13, 2014. <https://doi.org/10.5039/agraria.v9i1a2393>

MMA (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE). *Áreas prioritárias para conservação, uso sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade brasileira – Caatinga* (Portaria MMA nº 223, de 21 de junho de 2016). Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/MMA/PT0223-210616.pdf>. Acesso em 11/07/2019.

MMA (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE). *Caatinga – monitoramento do desmatamento dos biomas brasileiros por satélite*. Relatório técnico 2010-2011. Brasília, DF. 2017. Disponível em:

http://www.mma.gov.br/images/arquivo/80120/HEX_RelatorioBiomaCaatinga_2010-2011_V2%20-%20MMA.pdf. Acesso em 11/07/2019.

MANHÃES, A. P.; MAZZOCHINI, G. G.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; GANADE, G.; CARVALHO, A. R. Spatial associations of ecosystem services and biodiversity as a baseline for systematic conservation planning. *Diversity and Distributions*, v. 22, p. 932–943, 2016. <https://doi.org/10.1111/ddi.12459>

MONCALEANO-ESCONDON, J.; SILVA, B. C. F.; SILVA, S. R. S.; GRANJA, J. A. A.; ALVES, M. C. J. L.; POMPELLI, M. F. Germination responses of *Jatropha curcas* L. seeds to storage and aging. *Industrial Crops and Products*, v. 44, p. 684-690, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.08.035>

ORNELLAS, F. L. S.; SOUSA, A. O.; PIROVANI, C. P.; ARAÚJO, M. N.; COSTA, D. S.; DANTAS, B. F.; BARBOSA, R. M. Gene expression, biochemical and physiological activities in evaluating melon seed vigor through ethanol release. *Scientia Horticulturae*. v. 261, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108884>

PESKE, S. T.; ROSENTHAL, M. D.; ROTA G. R. M., *Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos*. p. 321, 2003.

PINHEIRO, G. C.; LAZAROTTO, M.; MUNIZ, M. F. B.; REDIN, C. G.; SANTOS, M. V. Efeito da assepsia superficial na germinação e incidência de fungos em sementes de espécies florestais. *Pesquisa Florestal Brasileira*, Colombo, v. 36, n. 87, p. 253-260, 2016. <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.87.1234>

RUDNICK, D. A.; RYAN, S. J.; BEIER, P.; CUSHMAN, S. A.; DIEFFENBACH, F.; EPPS, C. W.; GERBER, L. R.; HARTTER, J.; JENNESS, J. S.; KINTSCH, J.; MERENLENDER, A. M.; PERKL, R. M.; PREZIOSI, D. V.; TROMBULAK, S. C. The role of landscape connectivity in planning and implementing conservation and restoration priorities. *Issues in Ecology*. Report n°. 16. *Ecological Society of America*. Washington, DC. p. 1-20. 2012. https://www.fs.fed.us/rm/pubs_other/rmrs_2012_rudnick_d001.pdf

SCALON, S. P. Q.; SCALON FILHO, H.; MASETTO, T. E. Aspectos da germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de aroeira. *CERNE*, v. 18, n. 4, p. 533-539, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602012000400002>

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888p.

TOOROP, P. E.; CUERVA, R. C.; BEGG, G. S.; LOCARDI, B.; SQUIRE, G. R.; IANNETTA, P. P. Co-adaptation of seed dormancy and flowering time in the arable weed *Capsella bursa-pastoris* (shepherd's purse). *Annals of botany*, v.109, p. 1481-489, 2012. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr301>

VAZQUEZ, G.H.; BERTOLIN, D. C.; SPEGIORIN, C. N. Testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de sorgo (*Sorghum*

bicolor (L.) Moench). *Revista Brasileira de Biociências*, p. 18-24, 2011.
<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1504/993>

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164p.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: Abrates, cap. 4, 1999, p. 1-26.

WANG, L.; MA, H.; SONG, L.; SHU, Y.; GU, W. Comparative proteomics analysis reveals the mechanism of pre-harvest seed deterioration of soybean under high temperature and humidity stress. *Journal Proteomics*, p. 2109-2127, 2012.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.01.007>

CAPÍTULO 2

TESTES FISIOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS PARA A CARACTERIZAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES DE *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan, *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W. Jobson e *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.

RESUMO

As espécies *Anadenanthera colubrina*, *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora* são nativas e amplamente distribuídas no território brasileiro e conhecidas popularmente como angico, angico-de-bezerro, e jurema-preta, respectivamente. Faz-se necessário ampliar o conhecimento acerca do potencial fisiológico e bioquímico das sementes dessas espécies. O objetivo do trabalho foi avaliar a aplicação combinada de testes fisiológicos e bioquímicos para determinação do vigor de sementes de *A. colubrina*, *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*. Foram utilizados cinco lotes de sementes de *A. colubrina*, três lotes de sementes de *P. moniliformis* e dois lotes de sementes de *M. tenuiflora*. Os lotes foram avaliados quanto ao teor de água, germinação e vigor (primeira contagem, condutividade elétrica e teste de etanol com a medida da atividade da Desidrogenase Alcoólica (ADH)). Os testes aplicados foram eficientes para identificação da qualidade fisiológica das sementes de *A. colubrina*, *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*, contribuindo de maneira muito próxima para os agrupamentos das safras verificadas.

Palavras-chave: ADH, Qualidade fisiológica, Teste de etanol.

ABSTRACT

The species *Anadenanthera colubrina*, *Pityrocarpa moniliformis* and *Mimosa tenuiflora* are native and widely distributed in Brazil and popularly known as angico, angico-de-bezerro, and jurema-preta, respectively. It is necessary to expand the knowledge about the physiological and biochemical potential of the seeds of these species. The objective of this work was to evaluate the combined application of physiological and biochemical tests to determine the vigor of *A. colubrina*, *P. moniliformis* and *M. tenuiflora* seeds. Five lots of *A. colubrina* seeds, three lots of *P. moniliformis* seeds and two lots of *M. tenuiflora* seeds were used. The lots were evaluated for water content, germination and vigor (first count, electrical conductivity and ethanol test with the measurement of Alcoholic Dehydrogenase (ADH) activity). The tests applied were efficient to identify the physiological quality of *A. colubrina*, *P. moniliformis* and *M. tenuiflora*, contributing very closely to the groupings of the verified crops.

Keywords: ADH, Physiological quality, Ethanol test.

2.1 INTRODUÇÃO

As espécies florestais apresentam inúmeros potenciais de uso. Além disso, desempenham um papel ecológico de importância na conservação e restauração da biodiversidade (Carvalho, 2003).

Um dos grandes desafios para a restauração de áreas degradadas é a utilização de sementes de alta qualidade genética, fisiológica e física, para que produzam plântulas vigorosas que se estabeleçam de forma rápida e uniforme no campo (Brancalion et al., 2015). A utilização de espécies nativas na restauração ambiental não tem sido empregada em virtude da ausência de conhecimento consolidado sobre a biologia, ecologia, técnicas de propagação e manejo dessas espécies (Ranieri et al., 2003), sendo de grande importância o estudo da germinação e de métodos de avaliação de vigor de sementes de espécies nativas para definir práticas de manejo adequadas e o melhor aproveitamento, uso e exploração dessas espécies (Cabral et al., 2003).

Há necessidade de se obter um teste rápido para determinar a qualidade dessas sementes. As sementes podem acumular danos durante o armazenamento ou tratamentos, e o grau de deterioração varia através da quantidade de estresse impostas por esses processos, podendo resultar na redução da germinação e vigor. Durante a deterioração das sementes, as membranas mitocondriais são danificadas, prejudicando a fosforilação oxidativa e, por consequência, o piruvato formado pela via glicolítica se dá pela via fermentativa para produção de etanol (Kodde et al., 2012). A quantificação do etanol produzido e liberado pode fornecer informações importantes relacionados a qualidade fisiológica de sementes, constituindo um potencial indicador de vigor, sendo uma alternativa eficiente, rápida e relativamente econômica.

A ausência de oxigênio leva a um aumento na atividade da enzima álcool desidrogenase (ADH) à medida que o metabolismo é deslocado das vias aeróbicas para as fermentativas (John e Greenway 1976; Maricle et al. 2006; Caudle e Maricle 2012). A ADH catalisa a etapa terminal na fermentação do etanol, reduzindo o acetaldeído a etanol (Drew 1997; Maricle et al. 2006). Os aumentos na atividade do ADH são interpretados como indicativos de deficiência de oxigênio à medida que as proteínas da respiração anaeróbica se tornam mais ativas (John e Greenway 1976; Mendelsohn, McKee e Patrick 1981).

Diante do exposto trabalho, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a aplicação combinada de testes fisiológicos e bioquímicos para determinação do vigor de sementes de *A. colubrina*, *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Material vegetal

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia, no Centro Multidisciplinar da Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB), município de Luís Eduardo Magalhães-BA.

Lotes de sementes foram fornecidas pela Rede de Sementes do Projeto de Integração do São Francisco – Núcleo de Ecologia e Monitoramento Ambiental (NEMA – Petrolina/PE) e nomeados segundo o ano de coleta. Como representação de lotes de sementes nativas temos: angico (*A. colubrina*), angico-de-bezerra (*P. moniliformis*), e jurema-preta (*M. tenuiflora*). As diferenças entre os lotes quanto ao ano da safra são desejadas para melhorar a representação e variabilidade para explicar os resultados.

Tabela 1. Relação de espécies, origem, latitude, longitude, altitude e safras das matrizes de sementes nativas selecionadas para o estudo.

| Espécie | Origem | Latitude | Longitude | Altitude | Safra |
|---------------------------------|------------------|-------------|-------------|----------|-------|
| <i>Anadenanthera colubrina</i> | Penaforte - CE | -7,74487536 | -39,0555835 | 466 | 2015 |
| <i>Anadenanthera colubrina</i> | Salgueiro - PE | -8,20353983 | -39,2473939 | 431 | 2016 |
| <i>Anadenanthera colubrina</i> | Sento Sé - BA | -9,79611798 | -41,1687426 | 459 | 2017 |
| <i>Anadenanthera colubrina</i> | Verdejante - PE | -7,88236254 | -39,0295925 | 531 | 2018 |
| <i>Anadenanthera colubrina</i> | Sertânia - PE | -8,05537226 | -37,2716402 | 599 | 2019 |
| <i>Pityrocarpa moniliformis</i> | Petrolina - PE | -9,32673111 | -40,5474705 | 398 | 2016 |
| <i>Pityrocarpa moniliformis</i> | Petrolândia - PE | -8,82252958 | -38,3757248 | 331 | 2017 |
| <i>Pityrocarpa moniliformis</i> | Petrolina - PE | -9,32673111 | -40,5474705 | 398 | 2018 |
| <i>Mimosa tenuiflora</i> | Petrolina - PE | -9,29987713 | -40,5411718 | 398 | 2017 |
| <i>Mimosa tenuiflora</i> | Sertânia - PE | -8,17624369 | -37,266314 | 611 | 2019 |

2.2.2 Teor de água (TA)

O teor de água foi determinado com duas repetições de 50 sementes de cada lote de *A. colubrina*, *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*. As sementes foram pesadas inicialmente, e em seguida colocadas em estufa a 105 ± 3 °C, durante 24 horas. Após o período, as sementes foram pesadas novamente e os resultados foram expressos em porcentagem, na base úmida (Brasil, 2009).

$$\% \text{ de Umidade (U)} = \frac{100(P - p)}{P - t}$$

Onde: % de Umidade (U) = Teor de água da semente; P = peso inicial; p = peso final; t = tara.

Unidade: %

2.2.3 Teste de germinação (GE) e primeira contagem (PC)

Os testes de germinação, primeira contagem e contagem da germinação final foram avaliados em um delineamento experimental inteiramente casualizado. As sementes de *A. colubrina* foram avaliadas com quatro repetições de 100 sementes por lote, as sementes de *P. moniliformis* com oito repetições de 50 sementes por lote, e *M. tenuiflora* com quatro repetições de 100 sementes por lote.

As sementes foram germinadas em câmara B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas (Brasil, 2013). As sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora* foram semeadas em caixas acrílicas (11cm × 11cm × 3,5cm), utilizando-se como substrato duas folhas de papel mata-borrão embebidas em água destilada com quantidade equivalente a 2,5 vezes a sua massa, e para as sementes de *A. colubrina* usou-se como substrato três folhas de papel de germinação tipo germitest, embebidas em água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco.

$$G = \left(\frac{N}{A}\right) \times 100$$

Onde: G= Germinação (%); N = número de sementes germinadas; A = número de sementes na amostra. Unidade: %

2.2.4 Condutividade elétrica (CE)

A condutividade elétrica, para sementes de *P. moniliformis*, *M. tenuiflor*, e *A. colubrina*, foram avaliadas em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, com quatro repetições de 50 sementes embebidas em 75 mL de água destilada durante 24 horas a 25 °C (Vieira e Krzyzanowski, 1999).

$$CE = \frac{L - B}{M}$$

Onde: CE = condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\text{ g}^{-1}$); L = leitura da amostra no condutivímetro, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; B = leitura do “branco”, água deionizada, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; M = massa da amostra em gramas.

2.2.5 Teste de etanol (ET)

A formação de etanol foi avaliada, em $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, com etilômetro modificado Dräger Alcotest® 6810, com delineamento experimental inteiramente casualizado, que para sementes de *P. moniliformis* usou-se esquema fatorial $3\times 2\times 5$ (lotes \times volumes de água de embebição \times períodos de embebição) com quatro repetições. Para as sementes de *M. tenuiflora* usou-se esquema fatorial $2\times 2\times 5$ (lotes \times volumes de água de embebição \times períodos de embebição) com quatro repetições e para *A. colubrina* usou-se esquema fatorial $5\times 2\times 5$ (lotes \times volumes de água de embebição \times períodos de embebição) com quatro repetições. Foram colocadas 20 sementes em frascos de vidro tipo penicilina (30 mL), acrescidos de 0,5 mL e 1,0 mL de água destilada, lacrados, e incubadas a 40 °C durante 2, 4, 6, 8 e 24 horas (Ornellas et al., 2019). Após as leituras, as sementes avaliadas foram armazenadas a -20 °C para posterior obtenção do extrato de proteínas solúveis totais e medidas da atividade da enzima ADH.

2.2.6 Extração de proteínas solúveis totais

Sementes de *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* e *A. colubrina* provenientes do teste de etanol (embebidas em 0,5 mL de água destilada) foram agrupadas como um *pool* das repetições dos tempos específicos. Para a espécie de *A. colubrina* foi usado ~300 mg do *pool* do período de embebição de 8h e para as demais espécies foram usados ~100 mg dos *pools* dos períodos de embebição de 4h. Os *pools* foram macerados em presença tampão de extração gelado composto por 50 mM Tris-HCl, pH 8,0, acrescido de 15 mM DTT. Após completa maceração, o material foi centrifugado a 12.000 g durante 15 min a 4°C. O sobrenadante obtido (extrato solúvel total) foi quantificado pelo Método de Bradford ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) utilizando a albumina bovina (BSA) como padrão (Bradford, 1976) e mantido em banho de gelo para as avaliações bioquímicas posteriores.

2.2.7 Atividade da Desidrogenase Alcoólica (ADH) – EC: 1.1.1.1

A atividade de ADH foi determinada de acordo a metodologia de Chung; Ferl (1999) com modificações. O extrato bruto proteico foi usado em quatro repetições experimentais para as medidas realizadas. O tampão de reação da ADH foi composto por 50 mM de Tris-HCl (pH 9,0) e NAD^+ 900 μM . A reação enzimática foi iniciada pela adição de etanol (concentração

final de 20 % (v/v) à mistura. As leituras foram acompanhadas a cada 15 segundos por 1 minuto com absorvância de 340 nm em espectrofotômetro. A atividade da enzima ADH foi expressa como $\mu\text{mol}/\mu\text{g}$ de proteína/min.

2.2.8 Procedimentos estatísticos

Os dados foram testados quanto a normalidade e homoscedasticidade, e analisados em delineamento inteiramente casualizado para os testes de qualidade fisiológica. Para o teste de etanol foi adotado o esquema fatorial (lotes \times quantidades de sementes \times períodos de embebição) com quatro repetições. Foi realizada a análise de regressão para os períodos de leitura. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico AgroEstat (Barbosa e Maldonado Júnior, 2015). A análise de componentes principais (PCA) foi realizada por meio do software PAleontological STatistics 4.03 (PAST 4.03).

2.3 RESULTADOS

O teor de água inicial das sementes de *A. colubrina*, *P. moniliformis*, *M. tenuiflora* apresentaram uniformidade entre os lotes. Sementes de *A. colubrina* pertencentes ao lote 2019 apresentaram teor de água médio de 9,96%, sendo superior aos demais lotes avaliados (Tabela 2). Verificou-se ainda que para as sementes de *P. moniliformis* o lote 2018 apresentou teor de água médio de 8,73% (Tabela 3), e para as sementes de *M. tenuiflora* o lote de 2019 apresentou teor de água médio de 8,01% (Tabela 4). Os teores de água de todas as espécies tiveram uma pequena variação entre os lotes dentro de um mesmo estado de coleta (Tabelas 2-4).

Os testes de germinação, das sementes de *A. colubrina*, permitiu diferenciar os lotes em três níveis de significância, sendo os lotes 2015, 2016 e 2019 com germinação de 93,2%, 96,0% e 89,5% respectivamente, e o lote 2017 com germinação intermediária com 69,2%, e o lote 2018 mostrou-se inferior com germinação de 25,0%, e primeira contagem menor que 24% (Tabela 2). As sementes de *P. moniliformis* distinguiram níveis de lotes, sendo que o lote 2016 obteve níveis mais elevados de germinação final e primeira contagem, quando comparados aos do lote de 2018 (Tabela 3). As sementes de *M. tenuiflora* não obtiveram diferença, estatisticamente, entre os lotes, tanto na germinação final quanto na primeira contagem (Tabela 4).

No teste de condutividade elétrica, para as sementes de *A. colubrina*, o lote 2018, de forma significativa, apresentou maior quantidade de eletrólitos lixiviados, quando comparados com os demais lotes (Tabela 2). Para as sementes de *P. moniliformis* não houve diferença significativa entre os lotes (Tabela 3). Para as sementes de *M. tenuiflora* observou-se que o lote 2019 apresentou maiores quantidades de exsudados (Tabela 4).

Tabela 2. Teor de água (TA), germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de *A. colubrina*.

| Lote | TA (%) | GE (%) | PC (%) | CE ($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) |
|--------|--------|--------|--------|---|
| 2015 | 8,7 | 93,2 a | 93,2 a | 182,0 d |
| 2016 | 7,7 | 96,0 a | 96,0 a | 138,5 e |
| 2017 | 9,8 | 69,2 b | 68,2 b | 303,7 b |
| 2018 | 8,0 | 25,0 c | 24,7 c | 442,2 a |
| 2019 | 9,9 | 90,7 a | 89,5 a | 254,0 c |
| CV (%) | - | 7,2 | 6,9 | 6,3 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 3. Teor de água (TA), germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de *P. moniliformis*.

| Lote | TA (%) | GE (%) | PC (%) | CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) |
|--------|--------|---------|---------|---|
| 2016 | 6,6 | 25,3 a | 22,6 a | 69,6 a |
| 2017 | 7,6 | 19,7 ab | 16,1 ab | 60,0 a |
| 2018 | 8,7 | 17,7 b | 12,0 b | 76,0 a |
| CV (%) | - | 46,7 | 4,2 | 27,5 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 4. Teor de água (TA), germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de *M. tenuiflora*.

| Lote | TA (%) | GE (%) | PC (%) | CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) |
|--------|--------|--------|--------|---|
| 2017 | 6,7 | 24,7 a | 8,0 a | 59,5 b |
| 2019 | 8,0 | 26,2 a | 12,0 a | 221,0 a |
| CV (%) | - | 13,0 | 16,8 | 27,8 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

No teste de etanol, para avaliação do vigor de sementes de *A. colubrina*, os lotes de sementes 2017 e 2018 apresentaram maior liberação de etanol que nos demais lotes a partir de seis horas, embebidas em 0,5 mL de água destilada (Figuras 1C e 1D). Após quatro horas de embebição, as sementes do lote 2017 apresentaram, através da leitura no etilômetro, liberação de etanol crescente até o final do período de avaliação (Figura 1C). Para as sementes de *P. moniliformis* observou-se que todos os lotes, a partir de quatro horas, embebidas em 0,5 mL de água destilada, apresentaram maiores teores de etanol liberado (Figura 2). Para as sementes de *M. tenuiflora* a liberação de etanol foi expressiva e constante, a partir de 4h, embebidas em 0,5 mL de água destilada, pelo lote 2017, quando comparada com o lote 2019, que também apresentou liberação de etanol, a partir de quatro horas, embebidas em 0,5 mL de água destilada (Figura 3).

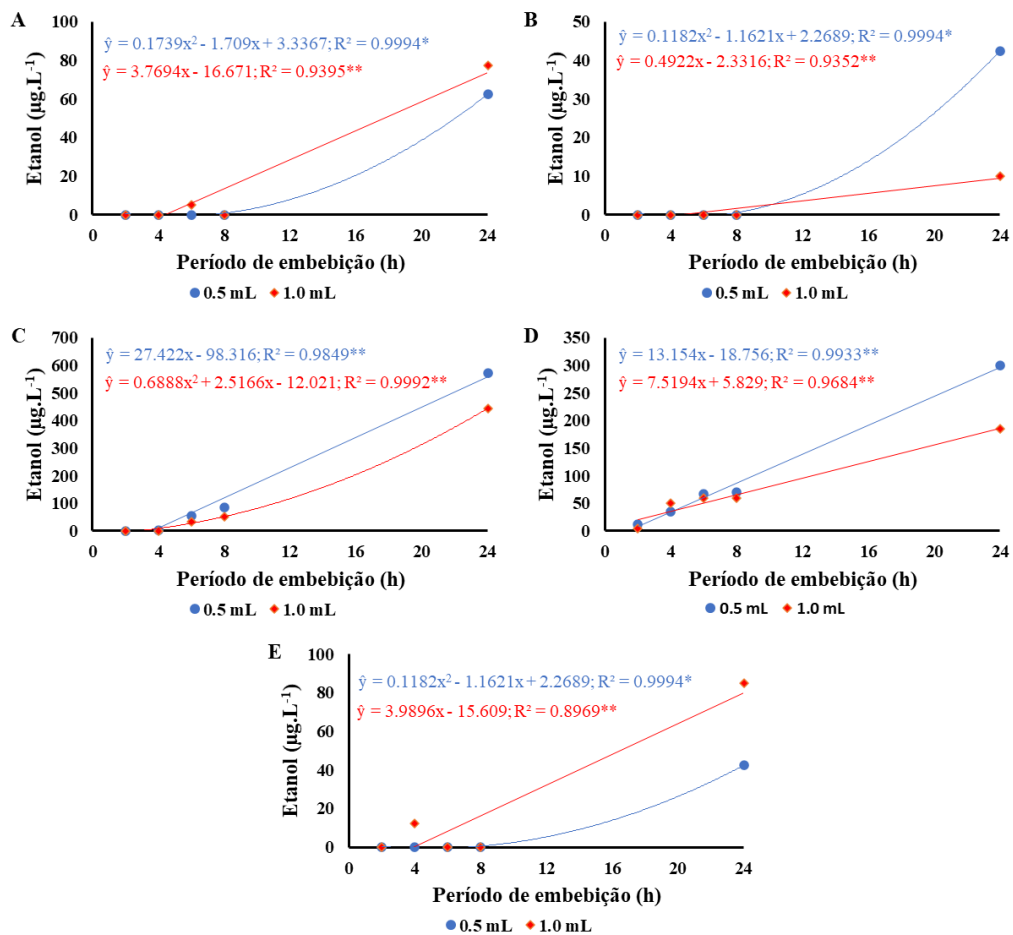


Figura 1. Teor de etanol liberado por 20 sementes de *A. colubrina* em 0,5 e 1,0 mL de volume de água de embebição em função do período nos diferentes lotes. (A) 2015, (B) 2016, (C) 2017, (D) 2018, (E) 2019.

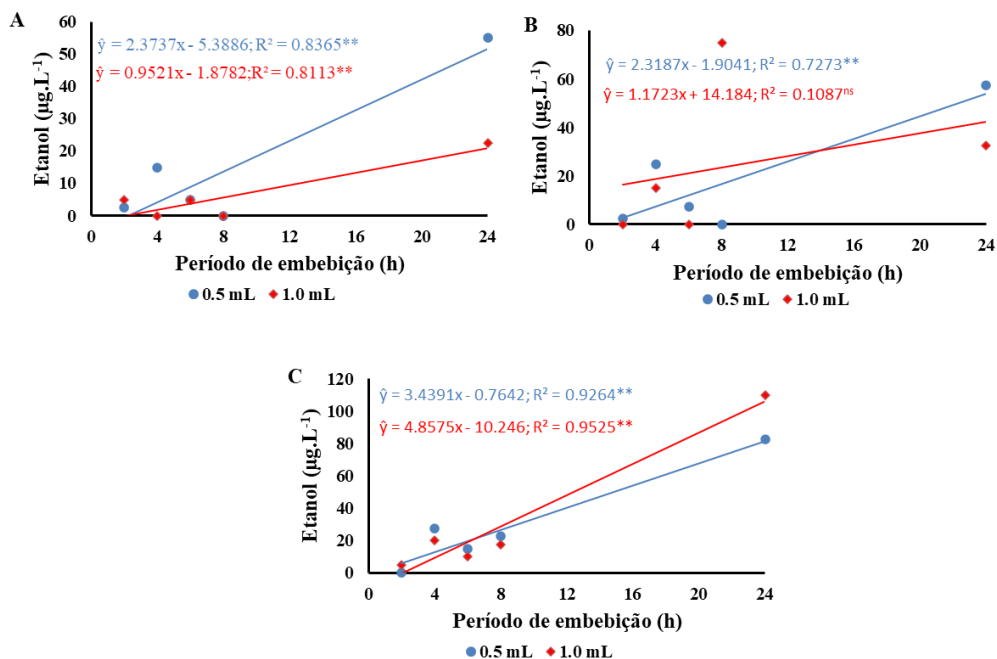


Figura 2. Teor de etanol liberado por 20 sementes de *P. moniliformis* em 0,5 e 1,0 mL de volume de água de embebição em função do período nos diferentes lotes. (A) 2016, (B) 2017, (C) 2018.

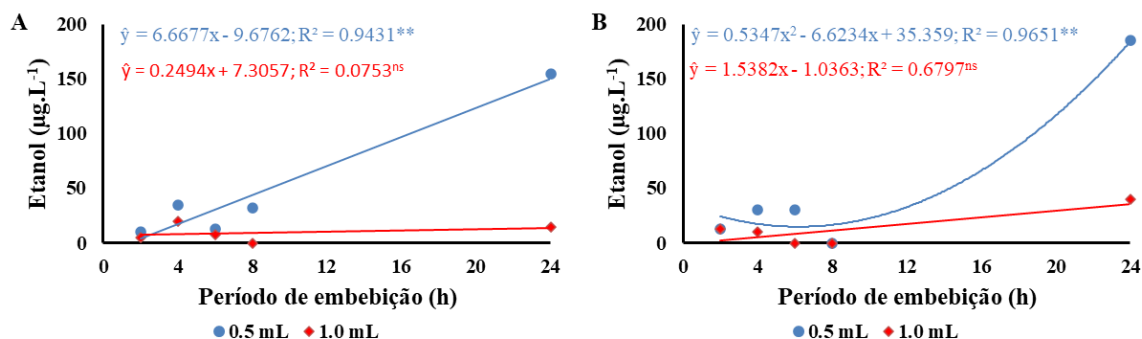


Figura 3. Teor de etanol liberado por 20 sementes de *M. tenuiflora* em 0,5 e 1,0 mL de volume de água de embebição em função do período nos diferentes lotes. (A) 2017, (B) 2019.

As sementes embebidas e usadas para a medida do teor de etanol foram direcionadas para a verificação da atividade da ADH. Os tempos de embebição foram selecionados após análise de regressão apresentada anteriormente e os tempos escolhidos foram: oito horas para angico e quatro horas para *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*. Dessas sementes foram obtidos os extratos brutos que foram quantificados pelo método de Bradford, e deles foi medido a atividade da ADH pela conversão do etanol ao acetaldeído. Verificou-se a atividade da enzima que tem relação direta com a liberação do etanol medido (Figuras 4-6).

Para as sementes de *A. colubrina*, montou-se o gráfico com as medidas do teor de etanol nos lotes e o resultado da atividade ADH e assim obteve-se o perfil Etanol-ADH. As medidas de etanol são dadas em $\mu\text{g/L}$ e da ADH em $\mu\text{M}/\text{min}/\mu\text{g}$ de proteína total. Esse é o perfil para os lotes de *A. colubrina* e nele notou-se que a atividade da ADH nas sementes com oito horas de embebição segue um padrão que é muito próximo daquilo que foi verificado com as medidas do teor de etanol. Com a embebição a enzima torna-se ativa e é mais notada justamente nos lotes que mostraram maior liberação de etanol. Havendo então, o que até aqui, podemos considerar como uma correlação entre os dois experimentos (Figura 4).

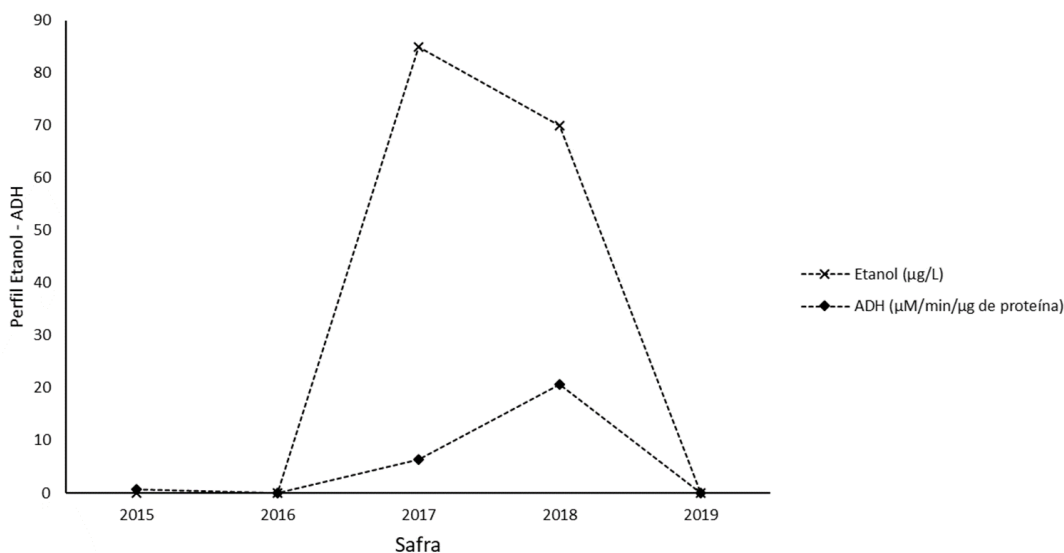


Figura 4. Perfil da atividade enzima desidrogenase alcoólica (ADH) e do teor de etanol em sementes de *A. colubrina* no período de embebição de oito horas - safras 2015, 2016, 2017, 2018 e 2019.

Novamente corroborando com o que foi dito sobre a relação entre a liberação de etanol e ação da ADH, para as sementes de *P. moniliformis* também se notou o surgimento de um padrão no perfil Etanol-ADH. Chama atenção aqui o fato dessas sementes estarem com quatro horas de embebição e a medida da atividade da enzima foi obtida de forma rápida e com a alta sensibilidade (Figura 5).

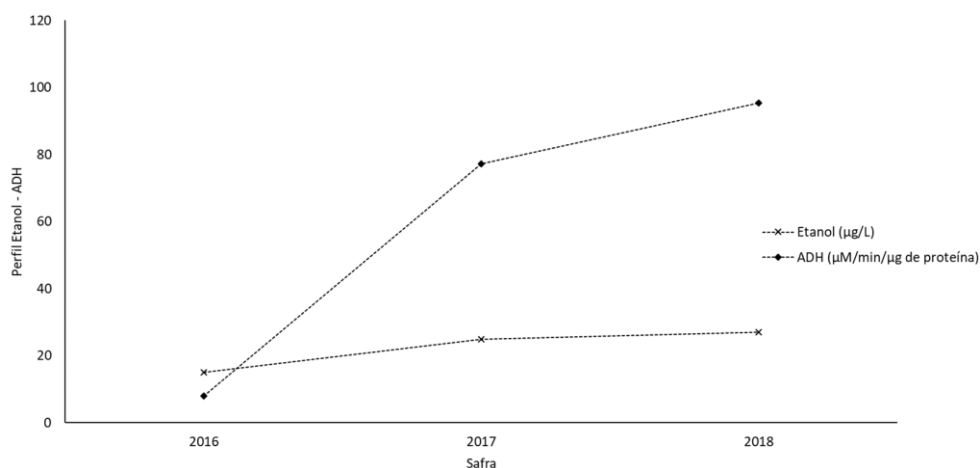


Figura 5. Perfil da atividade enzima desidrogenase alcoólica (ADH) e do teor de etanol em sementes de *P. moniliformis* no período de embebição de quatro horas - safras 2016, 2017 e 2018.

Para as sementes de *M. tenuiflora*, o perfil etanol-ADH pôde ter sido alcançado, mesmo usando apenas dois lotes, sendo possível distinguir sobre a qualidade fisiológica das safras quatro horas após a embebição das sementes (Figura 6).

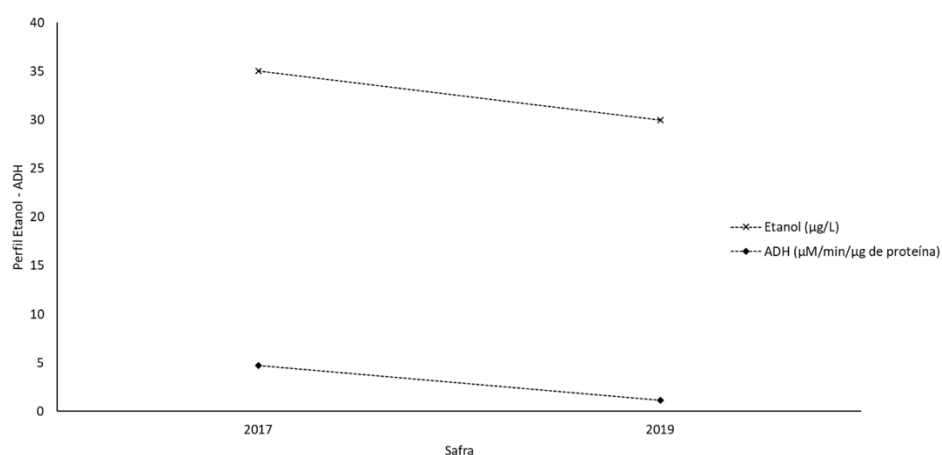


Figura 6. Perfil da atividade enzima desidrogenase alcoólica (ADH) e do teor de etanol em sementes de *M. tenuiflora* no período de embebição de quatro horas - safras 2017 e 2019.

Com a realização de todos os testes, montou-se o arranjo para a PCA. Nessa análise foi considerado todos os dados obtidos para os testes e observou-se com o *plot* como os lotes se agrupam e quais as variáveis, ou seja, os testes que mais se destacaram para o arranjo obtido (Figuras 7-9).

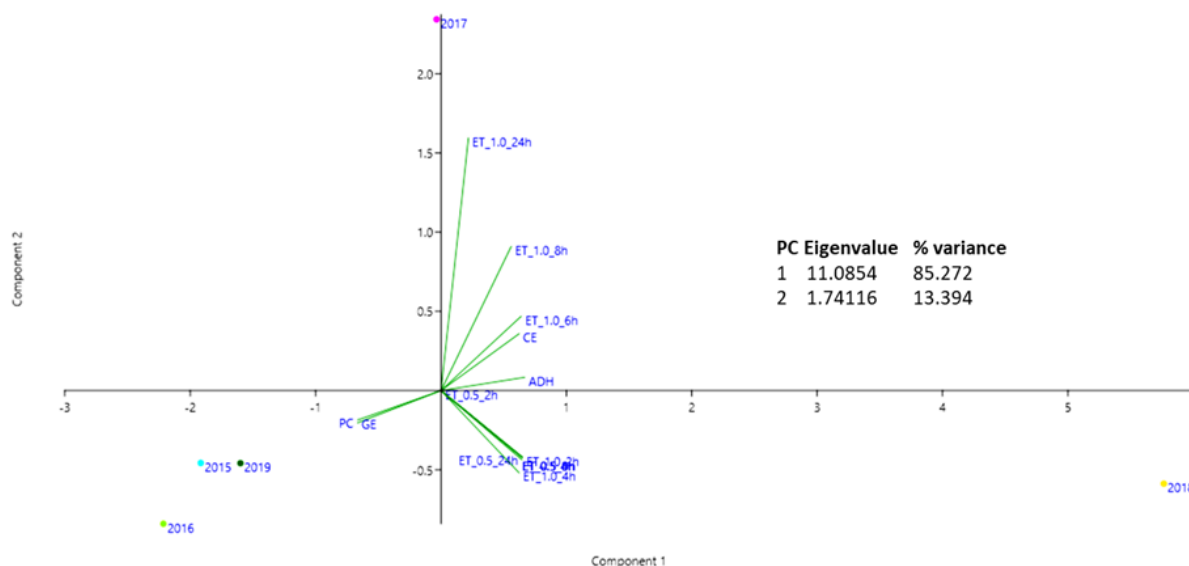


Figura 7. Análise de componentes principais. Biplot mostrando a projeção das variáveis nos dois primeiros componentes principais com a discriminação da GE, PC, CE e Teste de etanol no período de 2, 4, 6, 8, e 24 horas de embebição em 0,5 e 1,0 mL de água e para a atividade enzimática (ADH) no período de oito horas de embebição em sementes *A. colubrina* nas safras 2015, 2016, 2017, 2018 e 2019.

Para *A. colubrina* foram formados três agrupamentos distintos dentro dos quadrantes das componentes principais 1 e 2. Observando os raios das variáveis, foi verificado que, com exceção de etanol 24h, usando 1,0 mL para embebição, todos os demais testes contribuem de forma muito parecida para o agrupamento dos quadrantes, seja positivo ou negativo, dos dois componentes, sendo que a componente 1 foi capaz de explicar mais de 85% da variância (Figura 7).

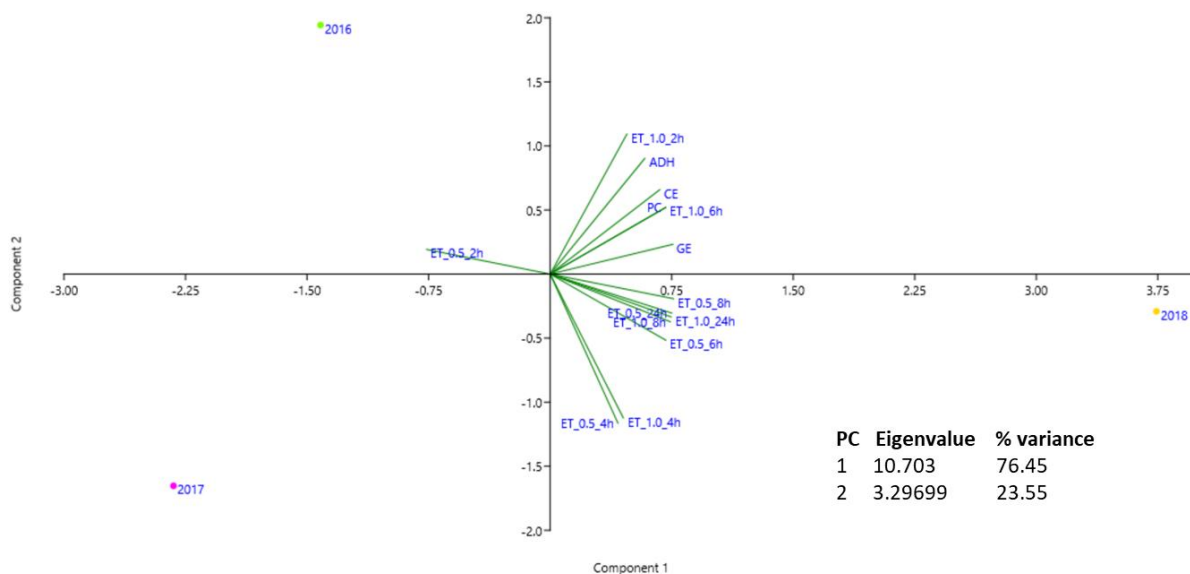


Figura 8. Análise de componentes principais. Biplot mostrando a projeção das variáveis nos dois primeiros componentes principais com a discriminação da GE, PC, CE e Teste de etanol no período de 2, 4, 6, 8, e 24 horas de embebição e para a atividade enzimática (ADH) no período de quatro horas de embebição em sementes *P. moniliformis* nas safras 2016, 2017 e 2018.

Para *P. moniliformis*, aplicando a mesma análise, foi obtido três agrupamentos. Observando a distribuição das variáveis dentro dos quadrantes, é visto que, para o componente 1, os testes se distribuem de maneira muito similar, a exceção do teste de etanol duas horas com 0,5 mL (Figura 8).

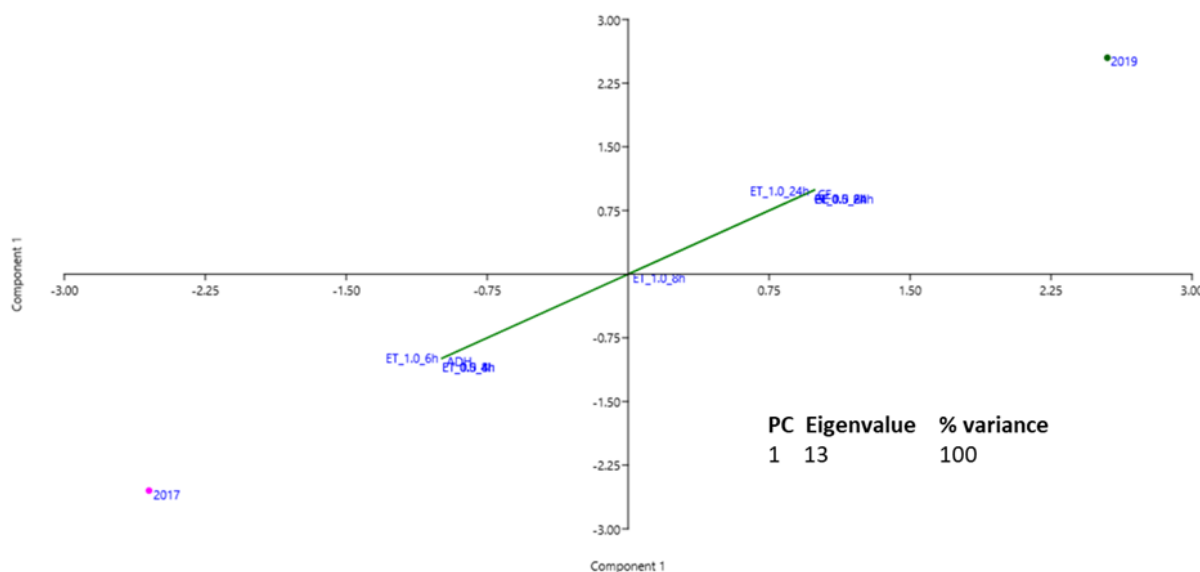


Figura 9. Análise de componentes principais. Biplot mostrando a projeção das variáveis no primeiro componente principal com a discriminação da GE, PC, CE e Teste de etanol no período de 2, 4, 6, 8, e 24 horas de embebição e para a atividade enzimática (ADH) no período de quatro horas de embebição em sementes *M. tenuiflora* nas safras 2017 e 2019.

A PCA para *M. tenuiflora* foi montada, mesmo havendo apenas as duas amostras e como pode ser visto, essas safras se agruparam em quadrantes diferentes, formando dois agrupamentos distintos e com os testes influenciando da mesma maneira para esses agrupamentos. Nesse caso, a PCA teve apenas um componente que explicou 100% da variância dos nossos dados (Figura 9).

2.4 DISCUSSÃO

A determinação do teor de água é de extrema importância para execução do teste de etanol e demais testes de vigor, pois de acordo com Tunes et al. (2011), quando o teor de água das sementes é relativamente baixo e homogêneo, é possível obter uma maior confiabilidade aos resultados obtidos nos testes de qualidade fisiológica, porque enzimas hidrolíticas tornam-se mais eficientes à medida que as sementes alcançam um teor de água próximo ao necessário para o início da germinação. Marcos Filho (2015a) relatou que lotes de sementes com diferenças de teores de água entre 1 e 2% não apresentam nenhum comprometimento para as sementes. Torres e Marcos-Filho (2001) mencionaram que a variação dentro destes limites proporciona segurança na execução dos testes, considerando-se que a uniformização do teor de água das sementes é imprescindível para a padronização das avaliações e obtenção de resultados consistentes.

O resultado do teste de germinação isoladamente nem sempre apresenta valores condizentes com o verdadeiro potencial de qualidade de um determinado lote, pois o referido teste é realizado em condições ótimas, impossibilitando a detecção de pequenas variações no potencial de desempenho (Hampton e Tekrony, 1995), o que pode levar à superestimação da qualidade dos lotes, havendo assim a necessidade de uma complementação dessas informações pelos resultados de testes de vigor.

As variáveis: primeira contagem e condutividade elétrica, são ferramentas de fundamental importância para a separação de lotes com alto potencial fisiológico. De acordo com Wrasse (2006), a primeira contagem da germinação é um teste conduzido em condições totalmente favoráveis podendo beneficiar lotes de médio a alto vigor. Mesmo assim, pode ser considerado um teste de vigor, pois sabe-se que, com a deterioração da semente, a velocidade de germinação é reduzida e isso é possível de ser verificado antes de se observar a porcentagem final de germinação (Silveira et al., 2002). O teste de condutividade elétrica é um teste bioquímico baseado no princípio de que um processo de deterioração leva à lixiviação dos constituintes celulares devido à perda de integridade dos sistemas de membrana celular e redução da velocidade de reparo da membrana (Vieira e Krzyzanowski, 1999; Ma et al., 2020). Ao avaliar a condutividade elétrica, observou-se que a quantidade de exsudados aumentou progressivamente na direção dos lotes mais degradados. Cavalcante et al. (2017), através de seus estudos científicos, mostraram que inversamente proporcional ao dano às membranas celulares, o aumento da condutividade elétrica indica que houve uma redução gradativa no vigor das sementes. Sementes com baixo vigor e, portanto, alta condutividade elétrica (Ma et al.,

2020), apresentam baixo desempenho na retomada das atividades metabólicas para a germinação. Isso se deve ao baixo número de mitocôndrias durante a reativação do metabolismo e consequente baixa taxa de respiração e produção de energia (Borella et al., 2013), apresentando assim relevante poder de discriminação de lotes.

De acordo Marcos-Filho (2015b), a relação da produção de etanol entre os lotes e os períodos de leitura deve ser observada como fator fundamental para padronização da metodologia do teste de vigor, que tem como um dos princípios básicos a precocidade dos resultados as funções de um teste de vigor, então além de complementar as informações do teste de germinação, têm a finalidade de comparar lotes com germinação aceitável e semelhante. Baixa liberação ou nula de etanol evidenciado nos lotes menos deteriorados, se justifica ao fato de que sementes com maior vigor, ao iniciar o processo de embebição, apresentarem eficiente mecanismo de reparo de membranas, ácidos nucleicos e outras macromoléculas envolvidas nas sínteses metabólicas em direção à germinação (Bewley et al., 2013). Em contrapartida, sementes deterioradas apresentam baixo desempenho na retomada das atividades metabólicas rumo à germinação, devido ao baixo número de mitocôndrias durante a reativação do metabolismo com a embebição, reduzindo a eficiência do processo resultando em baixas taxas de respiração e consequentemente baixa produção de energia na forma de trifosfato de adenosina (ATP) (Borella et al., 2013; Marcos-Filho, 2015a).

A técnica de componentes principais tem sido utilizada para a caracterização de diversas culturas, e tem levado a identificação de características importantes para serem avaliadas por meio de estudos prévios, permitindo descartar caracteres de pouca contribuição e, dessa forma, é possível reduzir mão de obra, tempo e custos (Tobar-Tosse et al., 2015). Esta técnica tem sido empregada nos trabalhos de tecnologia de sementes, visando esclarecer as relações entre as diferentes variáveis de avaliação do potencial fisiológico.

2.5 CONCLUSÕES

Todos os testes aplicados foram eficientes para identificação da qualidade fisiológica das sementes de *Anadenanthera colubrina*. Para as sementes de *Pityrocarpa moniliformis*, os testes de germinação, o teste de etanol e a avaliação da atividade ADH mostraram eficiência para distinguir as safras quanto a qualidade fisiológica das sementes. As sementes de *Mimosa tenuiflora* obtiveram resultados eficientes dos testes de condutividade elétrica, teste de etanol e avaliação da atividade ADH. Todas as espécies contribuíram de maneira muito próxima para os agrupamentos das safras verificadas. A escolha do teste mais adequado irá depender da infraestrutura, recursos e tempo disponíveis para a análise.

2.6 REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos.** 1998. 574p.
- BARBOSA, J. C; MALDONADO JUNIOR, W. **AgroEstat – Sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos.** Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396p.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy.** 3ed. New York: Springer, 2013. 392p.
- BORELLA J., DURIGON M. A., AMARANTE L., EMYGDIO B. M. Fermentative enzymes activity in soybean roots and nodules under hypoxia and post-hypoxia conditions. **Ciência Rural.** v. 43, n. 6, p. 970-977, 2013.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry.** v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRANCALION, P. H. S.; GANDOLFI, S.; RODRIGUES, R. R. **Restauração Florestal.** São Paulo, Oficina de Textos, 2015. 431p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes.** Secretaria de Defesa Agropecuária – Mapa/ACS, 2009. 395p.
- BRASIL. **Instruções para análise de sementes de espécies florestais.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) {Instructions for analyzing seeds of forest species. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Secretariat for Agricultural Defense (SDA)}. Brasília, DF: MAPA/CGAL. 2013.
- CABRAL, E. L.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Armazenamento e germinação de sementes de *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. F. ex. S. Moore. **Acta Botanica Brasílica.** v. 17, n. 4, p. 609-617, 2003.
- CARVALHO, P. E. R. Angico-branco: *Anadenanthera colubrina*. In: Espécies arbóreas brasileiras. Colombo: **Embrapa Florestas.** p. 91-97, 2003.
- CAVALCANTE J. A.; TERNUS R. M.; ALMEIDA T. L. D.; REOLON F.; ARAÚJO A. D. S.; GADOTTI G. I.; MORAES D. M. D. Ethanol vigor test to assess physiological quality of annual ryegrass seeds. **Espacios.** v. 38, n. 47, p. 10-18, 2017.
- CAUDLE, K. L.; MARICLE, B. R. Effects of flooding on photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and oxygen stress in plants of varying flooding tolerance. **Transactions of the Kansas Academy of Science.** v. 115, p. 5-18, 2012.
- CHUNG H-J.; FERL R. J. Arabidopsis Alcohol Dehydrogenase Expression in Both Shoots and Roots Is Conditioned by Root Growth Environment. **Plant Physiology.** p. 429-436, 1999.

DREW, M.C. Oxygen deficiency and root metabolism: Injury and acclimation under hypoxia and anoxia. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 48, p. 223-250, 1997.

HAMPTON J. G.; TEKRONY D. M., **Handbook of vigour test methods**. ISTA, Zurich, p. 117, 1995.

JOHN, C. D.; GREENWAY, H. Alcoholic fermentation and activity of some enzymes in rice roots under anaerobiosis. **Australian Journal of Plant Physiology**. v. 3, p. 325-336, 1976.

KODDE, J.; BUCKLEY, W. T.; GROOT, C. C.; RETIERE, M.; ZAMORA, A. M.; GROOT, S. P. C. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. **Seed Science Research**. v. 22, p. 55-62, 2012.

ORNELLAS, F. L. S.; SOUSA, A. O.; PIROVANI, C. P.; ARAÚJO, M. N.; COSTA, D. S.; DANTAS, B. F.; BARBOSA, R. M. Gene expression, biochemical and physiological activities in evaluating melon seed vigor through ethanol release. **Scientia Horticulturae** v. 261, 2019.

MA W. G.; ZHANG Z. H.; ZHENG Y. Y.; PAN W.; QIU T.; GUAN Y. J.; HU J.; Determination of tobacco (*Nicotiana tabacum*) seed vigour using controlled deterioration followed by a conductivity test. **Seed Science and Technology**. v. 48, n. 1, p. 1-10, 2020. DOI: 10.15258/sst.2020.48.1.01

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2ed. Londrina: ABRATES, 2015a. 660p.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**. v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015b.

MARICLE, B. R.; CROSIER, J. J.; BUSSIÈRE, B. C.; LEE, R. W. Respiratory enzyme activities correlate with anoxia tolerance in salt marsh grasses. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**. v. 337, p. 30-37, 2006.

MENDELSSOHN, I. A.; McKEE, K. L.; PATRICK, W. H. Oxygen deficiency in *Spartina alterniflora* roots: Metabolic adaptation to anoxia. **Science**. v. 214, p. 439-441, 1981.

RANIERI, B. D. et al. Germinação de sementes de *Lavoisiera cordata* Cogn. e *Lavoisiera francavillana* Cogn. (Melastomataceae), espécies simpátricas da Serra do Cipó, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**. v. 17, n. 4, p. 523-530, 2003.

SILVEIRA, M. A. M.; RAMOS, E. J. M.; MORAIS, G. B. Comparação de métodos para avaliação da qualidade fisiológica em sementes de calêndula. **Revista Brasileira de Sementes**. v. 24, n. 2, p. 24-30, 2002.

TORRES, S. B.; MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**. v. 23, n. 2, p. 108- 112, 2001.

TUNES, L. M.; PEDROSO, D. C.; BARBIERI, A. A. P.; CONCEIÇÃO, G. M.; ROETHING, E.; MUNIZ, M. F. B.; BARROS, A. C. S. A. Envelhecimento acelerado modificado para

sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e sua correlação com outros testes de vigor. **Revista Brasileira Biociências**. v. 9, n. 2, p. 12-17, 2011.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C.; Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANCA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Abrates, Londrina, p. 1-26, 1999.

VIEIRA R. D.; KRZYZANOWSKI F. C.; Teste de condutividade elétrica {Electrical conductivity test}. In: KRZYZANOWSKI F. C.; VIEIRA R. D.; FRANÇA NETO J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. ABRATES, Londrina, p .218, 1999.

WRASSE, C. F. **Testes de vigor alternativos em sementes de arroz**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Santa Maria, RS. 2006.

CAPÍTULO 3

POTENCIAL DO ULTRASSOM COMO CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora*.

RESUMO

O armazenamento de sementes de espécies nativas de forma adequada pode influenciar na manutenção da qualidade fisiológica destas, afetando o seu vigor, germinação e estabelecimento das plantas. O vigor de sementes é um fator importante para que se tenha germinação uniforme e estande ideal de plantas. O ultrassom aparece como um potencial condicionador fisiológico, por ser de fácil aplicação e rápida operação. Entre os efeitos associados com o condicionamento ultrassônico tem-se: térmico, estrutural e químico. Assim, se propõe neste trabalho avaliar o potencial do ultrassom como um tratamento de pré-semeadura capaz de expressar o vigor de lotes de sementes nativas. Para tanto, sementes de *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora* foram imersas em 100 mL de água destilada e submetidas a um pulso ultrassônico de 10 segundos com potências de 20W, 40W e 60W. As sementes tratadas foram colocadas para germinar em 25 °C, fotoperíodo de 12 horas em B.O.D. Após 21 dias e 14 dias da semeadura avaliou-se a porcentagem e velocidade de germinação e comprimento de plântulas de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*, respectivamente. Os resultados foram comparados com sementes sem tratamento ultrassônico. O condicionamento ultrassônico induziu resultados e foi capaz de aumentar significativamente a germinação e vigor de sementes que repercutiu também em maior comprimento das plântulas. Dessa forma, o condicionamento ultrassônico se apresenta como uma ferramenta promissora para a biotecnologia na aplicação ambiental e expressão de vigor de sementes.

Palavras-chave: Germinação, Vigor, Ultrassônico.

ABSTRACT

The proper storage of seeds of native species can influence the maintenance of their physiological quality, affecting their vigor, germination and establishment of plants. Seed vigor is an important factor for uniform germination and an ideal plant stand. Ultrasound appears as a potential physiological conditioner, as it is easy to apply and quick to operate. Among the effects associated with ultrasonic conditioning are: thermal, structural and chemical. Thus, it is proposed in this work to evaluate the potential of ultrasound as a pre-sowing treatment capable of expressing the vigor of native seed lots. Therefore, seeds of *Pityrocarpa moniliformis* and *Mimosa tenuiflora* were immersed in 100 mL of distilled water and subjected to an ultrasonic pulse of 10 seconds with powers of 20W, 40W and 60W. The treated seeds were placed to germinate at 25°C, photoperiod of 12 hours in B.O.D. After 21 days and 14 days of sowing, the percentage and speed of germination and seedling length of *P. moniliformis* and *M. tenuiflora* were evaluated, respectively. The results were compared with seeds without ultrasonic treatment. Ultrasonic conditioning induced results and was able to significantly increase seed germination and vigor, which also resulted in greater seedling length. Thus, ultrasonic conditioning is presented as a promising tool for biotechnology in the environmental application and expression of seed vigor.

Keywords: Germination, Vigor, Ultrasonic.

3.1 INTRODUÇÃO

A maior parte da área do Nordeste brasileiro é composta pelo bioma Caatinga, sendo caracterizada por um clima semiárido, com altas temperaturas e baixa umidade, com chuvas irregulares distribuídas em um curto período, de três a seis meses. Esse bioma está sob forte pressão extrativista, pois possui espécies vegetais de grande relevância econômica com multiplicidade de usos, como para a produção de mel, forragem, madeira, energia, ornamentação e produtos fitoterápicos. Uma alternativa de manejo da Caatinga para a redução dos impactos das atividades humanas e preservação do bioma é o plantio de espécies florestais nativas (Velloso et al., 2002). As sementes em geral, em decorrência do armazenamento, podem apresentar-se deterioradas com baixo vigor. As consequências ambientais e comerciais disso são a perda de diversidade genética, a redução da germinação ou a geração de plântulas com anormalidades, levando à redução do estabelecimento das plantas em campo (Kaneko et al., 2002). A deterioração das sementes está associada a alterações no metabolismo bioquímico celular, incluindo ativação/inativação de enzimas, aumento da peroxidação de lipídios, falta de integridade da membrana e mesmo danos ao material genético (Diwir et al., 2011). O vigor das sementes é um dos principais atributos da qualidade fisiológica a ser considerado na implantação de uma cultura. O alto vigor pode assegurar adequada população de plantas sobre uma ampla variação de condições ambientais de campo encontradas durante a emergência, e possibilitar aumento na produção quando a densidade de plantas é menor que a requerida (Tekrony e Egli, 1991). Sementes com baixo vigor, por outro lado, podem levar à redução da velocidade de emergência, da uniformidade, da emergência total, fatores esses que podem influenciar a acumulação de matéria seca, e assim afetar o rendimento (Kolchinski, 2005), e consequentemente produtividade.

Algumas práticas, como o uso de ultrassom, podem ser aplicadas como tratamento de pré-semeadura, visando promover melhores taxas de germinação e qualidade de produção de sementes sob condições de estresse ou envelhecidas pelo longo período de armazenamento (Yaldagard et al., 2008). Para alcançar o efeito desejado para o condicionamento fisiológico com o ultrassom (US) sobre a germinação é necessário observar parâmetros como intensidade, frequência e duração da US, além do genótipo das plantas. A correta associação desses parâmetros e genótipos pode resultar em melhor transporte de nutrientes pela modificação da parede celular, com melhor absorção dos elementos úteis para o processo de germinação das sementes (Risca Fartais e Stiuca, 2007). Considerando que as sementes são importantes não apenas para as grandes culturas agrícolas, mas também para a manutenção da diversidade de

espécies nativas de plantas, consideramos neste trabalho, como objetivo, avaliar o potencial do ultrassom como um tratamento de pré-semeadura capaz de expressar o vigor de lotes de sementes de *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Obtenção de lotes de sementes

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Biotecnologia, no Centro Multidisciplinar da Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB), município de Luís Eduardo Magalhães-BA.

Lotes de sementes de *Pityrocarpa moniliformis* e *Mimosa tenuiflora* foram doadas em 2020 pela Rede de Sementes do Projeto de Integração do São Francisco – Núcleo de Ecologia e Monitoramento Ambiental (NEMA – Petrolina/PE) onde se mantiveram armazenadas em câmara fria (10 ± 1 °C, UR_{ar} de 40 %) até o início do experimento em 2021. Em 2021 o teor de água das sementes variou entre 6,64 %, 7,6 % e 8,73 % para as sementes de *P. moniliformis* nas safras 2016, 2017 e 2018, respectivamente. Para as sementes de *M. tenuiflora* o teor de água variou entre 6,74 % na safra de 2017 e 8,01 % na safra de 2019. Como representação de lotes de sementes nativas temos as diferenças quanto ao ano da safra onde são desejadas para aumentar a representação e variabilidade.

3.2.2 Condicionamento ultrassônico

A irradiação ultrassônica foi produzida com um gerador de ultrassom (Ultroniqui Q800W) com frequência fixa de 40 kHz, em temperatura ambiente e com potência ultrassônica determinada. Foram usadas três potências ultrassônicas (20W; 40W e 60W), com tempo de 10 segundos aplicados em um único pulso. Após a separação e pesagem das sementes, foram colocadas em recipientes contendo 100 mL de água destilada. A sonda geradora de ultrassom foi colocada em contato com o líquido do recipiente, evitando o contato direto com as sementes imersas. Todos os tratamentos foram realizados seguindo o número de sementes e repetições determinados com o protocolo do teste de germinação da espécie. Para cada tratamento foi incluído um controle sem tratamento ultrassônico (Liu et al., 2016).

3.2.3 Teste de germinação (GE) e primeira contagem (PC)

Os testes de germinação, primeira contagem e germinação final, foram avaliados em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com oito repetições de 50 sementes por lote de sementes de *P. moniliformis*, e quatro repetições de 100 sementes por lote para sementes de *M. tenuiflora*. As sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora* foram semeadas em caixas acrílicas (11cm × 11cm × 3,5cm), utilizando-se como substrato duas folhas de papel mata-borrão embebidas em água destilada com quantidade equivalente a 2,5 vezes a sua massa.

As sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora* foram germinadas em câmara B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand) a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas (Brasil, 2013).

$$G = \left(\frac{N}{A}\right) \times 100$$

Onde: G = percentual de germinação; N = número de sementes germinadas; A = número de sementes na amostra. Unidade: %

3.2.4 Porcentagem de plântulas normais e crescimento inicial

Além da porcentagem final de plântulas normais, avaliou-se o comprimento médio de dez plântulas normais obtidas após o vigésimo primeiro dia das sementes de *P. moniliformis*, e décimo quarto dia das sementes de *M. tenuiflora* (Nakagawa, 1999).

Procedeu-se a medição da raiz (RZ), hipocótilo (Parte Aérea – PA) e do cotilédone (CO) das plântulas normais, com paquímetro, e os resultados foram expressos em centímetros (cm).

3.2.5 Condutividade elétrica (CE)

A condutividade elétrica, para sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*, foram avaliadas em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, com quatro repetições de 50 sementes embebidas em 75 mL de água destilada durante 24 horas a 25 °C (Vieira e Krzyzanowski, 1999).

$$CE = \frac{L - B}{M}$$

Onde: CE = condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$); L = leitura da amostra no condutivímetro, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; B = leitura do “branco”, água deionizada, em $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$; M = massa da amostra em gramas.

3.2.6 Procedimentos estatísticos

A normalidade e homocedasticidade dos dados dos testes de qualidade fisiológica foram analisadas, e as diferenças das médias comparadas pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa estatístico AgroEstat (Barbosa e Maldonado Júnior, 2015).

3.3 RESULTADOS

Os efeitos da estimulação ultrassônica na germinação e comprimentos de raiz, parte aérea e cotilédone de sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora* foram estudados. As intensidades ultrassônicas afetaram significativamente a germinação e comprimento de plântulas. Os resultados foram mostrados nas Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7.

O condicionamento ultrassônico interferiu no potencial fisiológico das sementes dos lotes avaliados. As sementes de *P. moniliformis* do lote 2016, oriundas de todos os tratamentos com US, apresentaram percentual de primeira contagem e germinação final superiores ao controle. Para os demais lotes, o efeito sobre a germinação foi positivo e proporcional ao potencial ultrassônico aplicado (Tabela 2).

Não houve efeito significativo na primeira contagem da germinação das sementes dos lotes 2017 e 2019 de *M. tenuiflora* (Tabelas 3 e 4). No entanto, para essas amostras, o tratamento com potencial ultrassônico de 60W do lote 2019 se mostrou mais efetivo sobre a expressão do vigor das sementes quando comparado com o controle. Para a condutividade elétrica a qualidade das sementes foi avaliada indiretamente através da determinação da quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes (Tabela 3).

Para esse estudo, a condutividade elétrica de lotes de sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora* não apresentaram valores com diferenças estatísticas quanto a liberação de exsudatos em solução (Tabelas 2, 3, 4 e 5).

Tabela 2. Germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de sementes de *P. moniliformis* submetidos a tratamento ultrassônico em diferentes potências.

| Lote | Potencial ultrassônico (W) | GE (%) | PC (%) | CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) |
|--------|----------------------------|---------|---------|---|
| 2016 | 0 | 25,3 b | 22,6 b | 69,6 a |
| | 20 | 33,0 a | 33,0 a | 53,2 a |
| | 40 | 38,0 a | 38,0 a | 59,9 a |
| | 60 | 39,2 a | 39,2 a | 45,5 a |
| CV (%) | | 14,3 | 14,9 | 38,6 |
| 2017 | 0 | 19,7 c | 16,1 c | 60,0 a |
| | 20 | 31,0 ab | 31,0 ab | 33,7 a |
| | 40 | 25,7 bc | 25,7 b | 41,4 a |
| | 60 | 35,0 a | 35,0 a | 44,5 a |
| CV (%) | | 18,3 | 16,9 | 46,9 |
| 2018 | 0 | 17,7 c | 12,0 c | 76,0 a |
| | 20 | 20,7 bc | 20,7 b | 75,4 a |
| | 40 | 29,5 a | 29,5 a | 83,2 a |
| | 60 | 26,7 ab | 26,7 ab | 70,5 a |
| CV (%) | | 20,5 | 21,5 | 33,0 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 3. Germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de sementes de *M. tenuiflora* submetidos a tratamento ultrassônico em diferentes potências.

| Lote | Potencial ultrassônico (W) | GE (%) | PC (%) | CE ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) |
|--------|----------------------------|---------|--------|---|
| 2017 | 0 | 24,7 b | 8,0 a | 59,5 a |
| | 20 | 40,5 a | 9,0 a | 79,9 a |
| | 40 | 39,5 a | 12,0 a | 60,1 a |
| | 60 | 42,5 a | 5,5 a | 47,3 a |
| CV (%) | | 16,1 | 50,6 | 38,6 |
| 2019 | 0 | 26,2 b | 12,0 a | 221,0 a |
| | 20 | 36,0 ab | 15,0 a | 403,4 a |
| | 40 | 40,5 ab | 13,5 a | 329,0 a |
| | 60 | 50,5 a | 6,0 a | 383,5 a |
| CV (%) | | 21,5 | 59,6 | 38,6 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 4. Diferença Mínima Significativa (DMS) e Teste F dos testes de germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de sementes de *P. moniliformis*.

| <i>P. moniliformis</i> | | | |
|------------------------|-------|------|---------|
| Lote | Teste | DMS | Teste F |
| 2016 | GE | 6,6 | 13,3** |
| | PC | 6,7 | 18,5** |
| | CE | 46,2 | 0,8 NS |
| 2017 | GE | 6,9 | 13,3** |
| | PC | 6,2 | 25,6** |
| | CE | 44,3 | 1,0 NS |
| 2018 | GE | 6,6 | 9,5** |
| | PC | 6,5 | 20,8** |
| | CE | 53,0 | 0,1 NS |

Tabela 5. Diferença Mínima Significativa (DMS) e Teste F dos testes de germinação (GE), primeira contagem (PC), e condutividade elétrica (CE) de diferentes lotes de sementes de *M. tenuiflora*.

| <i>M. tenuiflora</i> | | | |
|----------------------|-------|-------|---------|
| Lote | Teste | DMS | Teste F |
| 2017 | GE | 12,5 | 7,4** |
| | PC | 9,1 | 1,5 NS |
| | CE | 50,0 | 1,2 NS |
| 2019 | GE | 17,3 | 5,9** |
| | PC | 14,5 | 1,2 NS |
| | CE | 271,4 | 1,6 NS |

O condicionamento ultrassônico realizado com as sementes do lote de *P. moniliformis* influenciou positivamente no desenvolvimento das plântulas oriundas deste tratamento (tabela 6). Para essas plântulas, quando comparadas ao controle, observou-se o aumento do comprimento médio de todas as partes medidas em todos os lotes, sendo que nos lotes 2016, 2017 e 2018 o comprimento de raízes foram consideravelmente superiores em todas as potências quando comparado com o controle. No lote 2016 foi observado um maior comprimento de raiz e parte aérea com potência de 40W, no lote 2017 foi obtido um comprimento maior de cotilédone na potência de 60W, e no lote 2018 foi observado que todos os comprimentos de plântulas (raiz, parte aérea e cotilédone) diferiram estatisticamente do

controle. Isso indica que o condicionamento ultrassônico foi capaz de melhor expressar o vigor das sementes de *P. moniliformis* (Tabela 6).

Em sementes de *M. tenuiflora*, no lote de 2017, o condicionamento ultrassônico teve efeito positivo para o desenvolvimento de raiz e parte aérea com a potência de 40W e 60W, quando comparado ao tratamento controle. A parte aérea do lote 2019 apresentou redução de medidas de comprimento com o condicionamento ultrassônico das sementes (Tabela 7).

Tabela 6. Comprimento de plântulas (Raiz, Parte Aérea e Cotilédone) de diferentes lotes de sementes de *P. moniliformis* submetidos a tratamento ultrassônico em diferentes potências.

| Lote | Potencial ultrassônico (W) | Comprimento de Plântulas (cm) | | |
|--------|----------------------------|-------------------------------|-------------|------------|
| | | Raiz | Parte Aérea | Cotilédone |
| 2016 | 0 | 21,5 c | 30,8 b | 9,7 c |
| | 20 | 63,3 b | 43,4 a | 10,4 b |
| | 40 | 76,3 a | 50,5 a | 11,3 a |
| | 60 | 71,9 ab | 49,2 a | 11,4 a |
| CV (%) | | 35,8 | 30,5 | 10,4 |
| 2017 | 0 | 23,0 b | 30,0 b | 9,7 b |
| | 20 | 56,7 a | 47,5 a | 10,2 ab |
| | 40 | 62,1 a | 46,8 a | 10,5 a |
| | 60 | 59,6 a | 47,8 a | 10,6 a |
| CV (%) | | 32,1 | 26,3 | 12,7 |
| 2018 | 0 | 19,7 c | 30,1 b | 9,7 b |
| | 20 | 82,7 a | 50,2 a | 11,0 a |
| | 40 | 71,6 b | 49,7 a | 11,1 a |
| | 60 | 82,2 ab | 45,8 a | 11,1 a |
| CV (%) | | 28,8 | 26,8 | 11,8 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 7. Comprimento de plântulas (Raiz, Parte Aérea e Cotilédone) de diferentes lotes de sementes de *M. tenuiflora* submetidos a tratamento ultrassônico em diferentes potências.

| Lote | Potencial ultrassônico (W) | Comprimento de Plântulas (cm) | | |
|--------|----------------------------|-------------------------------|-------------|------------|
| | | Raiz | Parte Aérea | Cotilédone |
| 2017 | 0 | 8,6 c | 24,9 b | 5,1 c |
| | 20 | 20,0 b | 20,8 b | 6,1 b |
| | 40 | 36,3 a | 30,4 a | 7,1 a |
| | 60 | 23,6 b | 21,1 b | 7,3 a |
| CV (%) | | 33,9 | 37,2 | 16,1 |
| 2019 | 0 | 11,7 c | 29,4 a | 6,3 c |
| | 20 | 27,8 b | 23,9 b | 6,9 b |
| | 40 | 29,8 ab | 27,1 ab | 8,1 a |
| | 60 | 32,9 a | 24,8 b | 8,4 a |
| CV (%) | | 29,9 | 28,3 | 12,2 |

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

3.4 DISCUSSÃO

O ultrassom é uma forma de energia mecânica, vibracional, que pode ter ação deletéria ou indutora do desenvolvimento em tecidos vivos dependendo da intensidade, do tempo de exposição, da frequência de aplicação e da distância do transdutor ao alvo (Hebling; Silva, 1995). Yaldagard et al. (2008a) relataram a utilidade das ondas ultrassônicas, como um novo método, para melhorar a germinação de sementes e o crescimento das plantas.

Os testes de vigor têm sido instrumentos de uso cada vez mais rotineiros para determinação da qualidade fisiológica de sementes usadas na aplicação ambiental na recuperação de áreas degradadas, ou ainda com aplicação científica nos bancos de germoplasma. A determinação do teor de água presente nas sementes é um dos parâmetros tratados nos testes de vigor. O teor de água das sementes influencia diretamente vários aspectos de sua qualidade fisiológica, por isso a sua determinação é fundamental em testes de qualidade de lotes de sementes. A disponibilidade de água desempenha um papel significativo nas reações enzimáticas, na solubilidade e transporte de metabólitos, e como reagente na quebra hidrolítica de proteínas, lipídios e carboidratos nos tecidos de sementes em germinação (Bewley e Black, 1994). Uma célula vegetal é aumentada quando o vacúolo central é preenchido com água. A água para ser transferida para o vacúolo central precisa passar pela parede celular e pela membrana plasmática. Então quando as sementes são expostas a ondas ultrassônicas as paredes celulares sofrem algumas alterações pelas quais sua rigidez é perdida e a água é melhor absorvida pelas sementes (Pour et al., 2016).

Para a germinação resultados semelhantes foram obtidos em sementes de orquídeas e girassol onde observou-se a eficácia do tratamento ultrassônico (Shin et al., 2011; Machikowa et al., 2013) originando a indução de microfissuras na superfície das sementes e melhorando a embebição de umidade para aumentar a taxa de germinação (O'Donnell et al., 2010). Para apoiar isso, Yaldagard et al. (2008b) mostraram que a atividade de α -amilase de sementes de cevada aumentou significativamente por ondas ultrassônicas. A α -amilase é uma enzima pela qual o amido é hidrolisado. O aumento na atividade da α -amilase seguido por mais hidrólise do amido pode suportar uma transferência de nutrientes mais rápida e mais alta para o embrião, resultando em germinação. A primeira contagem da germinação avalia a porcentagem de plântulas normais que são obtidas por ocasião da primeira contagem do teste de germinação na amostra em análise, sendo eficiente para determinar o vigor das sementes (Nakagawa, 1999). Um dos conceitos mais antigos de vigor de sementes está relacionado à velocidade de germinação. E embora os lotes de sementes apresentem porcentagens de germinação finais semelhantes,

frequentemente registram-se diferenças na velocidade de germinação, sugerindo que existem diferenças de vigor entre eles, sendo mais vigorosas, portanto, aquelas sementes com maior velocidade de germinação. Assim, o teste de primeira contagem de germinação tem como objetivo determinar o vigor relativo do lote de sementes, avaliando a porcentagem de plântulas normais presentes na primeira contagem de germinação (Krzyzanowski et al., 1999).

O teste de comprimento de plântulas estima o vigor de um lote de sementes, pois sementes mais vigorosas originam plântulas com maiores taxas de crescimento e com maior fornecimento de reservas dos tecidos de armazenamento (Bays et al., 2007). As diferenças entre plântulas são, na maioria das vezes, bastante visíveis, todavia há a necessidade de se estabelecer valores numéricos para qualificar aquelas mais vigorosas. Para isso, a determinação do comprimento médio das plântulas normais ou partes destas é realizada. As amostras que apresentam os maiores valores médios de comprimento são consideradas as mais vigorosas (Nakagawa, 1999). De acordo Yaldagard et al. (2008a), relataram que o tratamento com ondas ultrassônicas pode fragmentar a casca da semente produzindo maior porosidade, conseqüentemente proporcionando uma maior retenção de água, resultando assim numa melhor hidratação. No entanto, é possível que a modificação do endosperma, incluindo a degradação do amido por meio de ultrassom, pode levar o aumento da taxa de reações de hidrólise catalisadas por enzimas dentro das sementes. Uma maior atividade enzimática de hidrólise pode levar a germinação e crescimento mais rápido do embrião após o tratamento ultrassônico. A intensidade e duração adequada de ondas ultrassônicas aumentam as atividades enzimáticas, promovendo células de crescimento e estimulando as atividades fisiológicas, acarretando numa maior porcentagem de comprimento de plântulas (Barton, 1996; Liu et al., 2003; Pitt, 2003; Yaldagard et al. (2008b).

3.5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados nesta pesquisa, pôde-se notar a eficiência do condicionamento ultrassônico na fisiologia das sementes, alterando positivamente a qualidade das sementes. Foi possível estabelecer os parâmetros para sementes de *P. moniliformis* e *M. tenuiflora* com frequência de 40kHz e potência ultrassônica de 60W para germinação e comprimento de plântulas (raiz, parte aérea e cotilédone) em sementes de *P. moniliformis* e 40W para comprimento de plântulas (raiz, parte aérea e cotilédone) em sementes de *M. tenuiflora*. Dessa forma o condicionamento ultrassônico se apresenta como uma ferramenta promissora para a biotecnologia com aplicação ambiental e para estimular e expressar o de vigor de sementes.

3.6 REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JUNIOR, W. *AgroEstat – Sistema para análises estatísticas de ensaios agrônômicos*. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 2015. 396p.
- BARTON, S.; BULLOCK, C.; WEIR, D. The effects of ultrasound on the activities of some glucosidase enzymes of industrial importance. *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 18, p. 190-194, 1996. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(95\)00092-5](https://doi.org/10.1016/0141-0229(95)00092-5)
- BAYS, R.; BAUDET, L.; HENNING, A.; LUCCA FILHO, O. Recobrimento de sementes de soja com micronutrientes, fungicida e polímero. *Revista Brasileira de Sementes*. v. 29, n. 2, p. 60-67, 2007. <https://www.scielo.br/j/rbs/a/dqy55t5LtZyG59bKmQvbhTK/?format=pdf&lang=pt>
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: Physiology of development and germination*. 2nd ed. Plenum Press, New York, 1994. 445p.
- BOURKE, P.; TIWARI, B.; O'DONNELL, C.; CULLEN, P. J. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science and Technology*, Vol. 21, Issue 7, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.007>
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA, p. 395, 2009. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/2946_regras_analise_sementes.pdf
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instruções para análise de sementes de espécies florestais*, de 17 de janeiro de, Brasília: MAPA, p. 98, 2013. http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/arquivos-publicacoes-laboratorio/florestal_documento_pdf-ilovepdf-compressed.pdf
- DEWIR, Y. H.; EL-MAHROUK, M. El-S.; NAIDOO, Y. Effects of some mechanical and chemical treatments on seed germination of *Sabal palmetto* and *Thrinax morrisii* palms. *Australian Journal of Crop Science*, vol. 5, n. 3, p. 248-253, 2011. http://www.cropj.com/dewir_5_3_2011_248_253.pdf
- HEBLING, S.A.; SILVA, W.R. Efeitos do ultra-som de baixa intensidade na germinação de sementes de milho (*Zea mays* L.) sob diferentes condições de disponibilidade hídrica. *Scientia Agricola*. Piracicaba, v. 52, n. 3, p. 514-520, 1995. <https://doi.org/10.1590/S0103-90161995000300017>
- KANEKO, M.; ITOH, H.; UEGUCHI-TANAKA, M.; ASHIKARI, M.; MATSUOKA, M. The alpha-amylase induction in endosperm during rice seed germination is caused by gibberellin synthesized in epithelium. *Plant Physiology*, vol. 128, p. 1264-1270, 2002. <https://doi.org/10.1104/pp.010785>
- KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. 218p.

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intra-específica em soja. *Ciência Rural*, v. 35, n. 6, p. 1248-1256, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000600004>

LIU, J; WANG, Q; KARAGIĆ, D; LIU, X; CUI, J; GUI, J; GU, M; GAO, W. Effects of ultrasonication on increased germination and improved seedling growth of aged grass seeds of tall fescue and Russian wildrye. *Scientific Reports*, v. 6, n. 22403, p. 1-12, 2016. <https://doi.org/10.1038/srep22403>

LIU, Y.; TAKATSUKI, H.; YOSHIKOSHI, A.; WANG, B.C.; SAKANISHI, A. "Effects of ultrasound on the growth and vacuolar H⁺-ATPase activity of aloe *arborescens* callus cells," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 32, p. 105-116, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0927-7765\(03\)00150-4](https://doi.org/10.1016/S0927-7765(03)00150-4)

MACHIKOWA T.; KULRATTANARAK T.; WONPRASAID S. Effects of Ultrasonic Treatment on Germination of Synthetic Sunflower Seeds. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, v. 7, n. 1, p. 1-3, 2013. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1328510>

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. *Testes de vigor em sementes*. Jaboticabal: FUNEP, 1999. p. 49-85.

PITT, W. G.; ROSS, S. A. Ultrasound increases the rate of bacterial cell growth. *Biotechnol. Prog.*, vol. 19, p. 1038-1044, 2003. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1361254/pdf/nihms7649.pdf>

POUR, M. E.; HOBBI, M.; GHASEMI, H.; NAZARI, M. Plausible mechanisms by which ultrasonic waves affect seeds. *Plant Breeding and Seed Science*. v. 74, 2016. <http://archive.sciendo.com/PLASS/plass.2016.74.issue-1/plass-2016-0017/plass-2016-0017.pdf>

RISCA, I-M.; FARTAIS, L.; STIUCA, P. Ultrasound effects contributions on the Norway spruce seeds germination (*Picea abies* (L.) Karsten). *Genetics and Molecular Biology*, p. 87-88, 2007. http://www.jemb.bio.uaic.ro/old_pdfs/2007/1/2007_Anale_GBM_VIII_f1_115.pdf

SARMENTO, H. G. S.; DAVID, A. M. S. S.; BARBOSA, M. G.; NOBRE, D. A. C.; AMARO, H. T. R. Determinação do teor de água em sementes de milho, feijão e pinhão-manso por métodos alternativos. *Energia na Agricultura*, v. 30, n. 3, p. 250-256, 2015. <https://doi.org/10.17224/EnergAgric.2015v30n3p250-256>

SHIN Y. K.; BAQUE M. A.; ELGHAMEDI S.; LEE E. J.; PAEK K. Y. Effects of activated charcoal, plant growth regulators and ultrasonic pretreatments on in vitro germination and protocorm formation of *Calanthe* hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, vol. 5, no. 5, pp. 582-588, 2011. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.1067.6064&rep=rep1&type=pdf>

TEKRONY, D. M; EGLI, D. B. Relationship of seed vigor to crop yield: A review. *Crop Science*, v. 31, p. 816-822, 1991. <https://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100030054x>

VELLOSO, A. I.; SAMPAIO, E. V. S. B.; PAREYN, F. G. C. *Ecorregiões: propostas para o Bioma Caatinga*. Recife, PE: Associação de Plantas do Nordeste; Instituto de Conservação Ambiental, 2002. 80p.
<http://www.bibliotecaflorestal.ufv.br/bitstream/handle/123456789/5391/Ecorregioes-Propostas-para-o-bioma-da-caatinga.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Vieira, R. D.; Krzyzanowski, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: Kryzanowski, F. C.; Vieira, R. D.; Franca Neto, J. B. (Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: Abrates, 1999. cap. 4, p. 1-26.

YALDAGARD, M.; MORTAZAVI, S. A.; TABATABAIE, F. Influence of ultrasonic stimulation on the germination of barley seed and its alpha-amylase activity. *African Journal of Biotechnology*. v. 7, n. 14, p. 2465-2471, 2008a. <file:///C:/Users/fornella/Downloads/59035-Article%20Text-106198-1-10-20100906.pdf>

YALDAGARD, M.; MORTAZAVI, S. A.; TABATABAIE, F. The effect of ultrasound in combination with thermal treatment on the germinated barley's alpha-amylase activity. *Korean Journal Chemical. Engineering*, vol. 25, p. 517-523, 2008b. <https://doi.org/10.1007/s11814-008-0087-1>

3.7 CONCLUSÕES GERAIS

O estabelecimento desses parâmetros contribui para o avanço do conhecimento na área de tecnologia de sementes, em especial para as espécies avaliadas - *M. urundeuva*, *C. pyramidale*, *A. cearensis*, *A. colubrina*, *P. moniliformis* e *M. tenuiflora*.

A aplicação de métodos inovadores para a verificação do vigor e condicionamento fisiológico de sementes arbóreas da Caatinga podem melhorar as proposições da produção de mudas mais vigorosas.