

Nota Científica

Avaliação da Qualidade Fisiológica de Sementes de Imbuia pelo Teste do Tetrazólio

Antonio Nascim Kalil Filho⁽¹⁾, Alexandre Jacobus Lopes⁽¹⁾, Gizelda Maia Rêgo⁽¹⁾ e Adilson Tomachitz⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Florestas, Estrada da Ribeira Km 111, Caixa Postal 319, CEP 83411-000, Curitiba-PR. E-mail: kalil@cnpf.embrapa.br, alexandrej.lopes@gmail.com, gizelda@cnpf.embrapa.br, adilson@cnpf.embrapa.br.

Resumo - A propagação vegetativa da imbuia (*Ocotea porosa*) é desconhecida e a germinação de suas sementes é lenta, justificando o teste do tetrazólio, método mais rápido para verificação da viabilidade de sementes. Sementes oriundas de árvores nativas da região de Colombo, PR, foram tratadas com solução de tetrazólio a 0,1 %, 0,3 % e 0,5 % por 1 e 2 horas, apresentando variação percentual em viabilidade associada aos diferentes tratamentos. Não constatou-se diferenças estatisticamente significativas entre tratamentos. O percentual de sementes viáveis variou de 50 % a 85 %. Diante dos resultados obtidos, sugere-se a concentração de 0,5 % por uma hora como o tratamento mínimo para verificação da viabilidade das sementes de imbuia.

Termos para indexação: *Ocotea porosa*, espécie florestal, viabilidade.

Evaluation of Physiologic Quality of Imbuia Seeds by Tetrazolium Test

Abstract - Vegetative propagation of imbuia (*Ocotea porosa*) and the germination process of its seeds is slow, justifying tetrazolium test, that is faster for verifying viability of seeds. Seeds of Colombo (PR) native trees were collected and treated with 0.1 %, 0.3 % and 0.5 % tetrazolium solutions for one and two hours, presenting percentual variation associated with the different treatments. No statistical significant differences were observed among different treatments. Viable seeds varied among 50 % and 85 %. Tetrazolium 0.5 % for one hour was suggested as the minimum for verifying viability of imbuia seeds.

Index terms: *Ocotea porosa*, forest species, viability.

A imbuia (*Ocotea porosa* Nees ex. Martius), da família das Lauráceas, é uma espécie que ocorre desde São Paulo até o Rio Grande do Sul (LORENZI, 1992; BAITELLO, 1992; CARVALHO, 1994), estando na lista oficial das espécies ameaçadas de extinção (BRASIL, 1992a), necessitando urgentemente sua conservação (RIZZINI; MATTOS FILHO, 1986; CARVALHO, 1994). Devido ao desconhecimento de formas de propagação vegetativa, a propagação por sementes adquire grande importância para sua conservação. Neste sentido, estudos com sementes, embora escassos, são relevantes. A germinação da imbuia requer longo tempo para ser completada (KALIL FILHO et al., 2004). Estes autores observaram que sementes de diversas progênes, não tratadas para quebra de dormência, obtém níveis de germinação de 47 % a 71 % após 200 dias da sementeira, além da

ampla variação nos níveis de germinação entre progênes e entre procedências, evidenciando a necessidade de trabalhos posteriores de seleção para alto poder germinativo e germinação precoce. As espécies do grupo das “clímax”, como a imbuia, geralmente apresentam sementes com baixa longevidade (KAGEYAMA; VIANA, 1991).

Dentre os vários produtos químicos testados para avaliar a qualidade fisiológica de sementes por meio da coloração de seus tecidos vivos, o sal de tetrazólio (2,3,5 trifênil cloreto) é o mais utilizado (PIANA et al., 1992). Segundo Pasztor (1962/1963), Handro (1968) e Reis e Rena (1987), o teste do tetrazólio é um método mais rápido e utiliza menor quantidade de sementes que o teste de germinação. É de particular relevância para espécies com sementes de lenta germinação ou que não germinam por encontrarem-se dormentes (BRASIL, 1992b).

O 2,3,5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio se reduz ao entrar em contato com os tecidos vivos da semente (BRASIL, 1992b) de formas incolores e solúveis para *formazans* (substratos cromogênicos artificiais para desidrogenases, tal como o MTT) coloridos e insolúveis (KUHN; JERCHEL, 1941), conferindo cor avermelhada aos tecidos vivos da semente, enquanto os tecidos mortos não se colorem (PIÑA-RODRIGUES; VALENTINI, 1995). Assim, o teste do tetrazólio detecta as sementes viáveis (que estão respirando) existentes no lote, ou seja, a viabilidade e não a germinabilidade das sementes. Esta reação é afetada por fatores prévios como umedecimento das sementes, colocação em temperatura adequada, pH, concentração da solução de tetrazólio e período de imersão das sementes na solução.

Piña-Rodrigues e Santos (1988) relataram que o teste de tetrazólio não era muito difundido para as espécies florestais nativas, embora apresentasse excelentes condições de uso, uma vez que sementes de muitas espécies necessitam de longo período para germinar.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de sementes de imbuia por meio do teste do tetrazólio.

Frutos de imbuia coletados de 40 árvores no Município de Colombo, PR, foram despulpados, suas sementes extraídas e armazenadas em câmara úmida a 90 % de umidade e 5° C de temperatura pelo período de 30 dias. Decorrido este período, as sementes, com 32 % de umidade, foram embebidas em água por 16 horas. Posteriormente, foi retirada a casca das sementes e feito um corte longitudinal, separando-se os cotilédones, para expor o eixo embrionário. Foi utilizado, para fins de avaliação, o cotilédone que possuía maior porção do eixo embrionário, descartando-se a metade que não continha o embrião (DELOUCHE et al, 1976; SILVA; AGUIAR, 1998). Feito este procedimento, as sementes foram embebidas em soluções de tetrazólio a 0,1 %, 0,3 % e 0,5 % por uma ou duas horas, totalizando seis tratamentos. Foram utilizadas cinco sementes por tratamento com quatro repetições, num total de 20 sementes por tratamento, em delineamento experimental inteiramente casualizado.

Após tratadas, as sementes foram incubadas no escuro a 40 °C por 1 ou 2 horas, conforme Delouche et al. (1976) e Associação de Analistas Oficiais de Sementes (1976). Em seguida, foi feita a contagem das sementes com embriões de coloração avermelhada, consideradas viáveis. As sementes viáveis foram expressas em percentuais e estes dados foram transformados em arc

seno “ x%”. Foi procedida a análise de variância dos dados e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Tabela 1. Percentuais de sementes viáveis de imbuia submetidas a diferentes concentrações e tempos de exposição ao tetrazólio.

Concentração e tempo de imersão em solução de tetrazólio	Sementes viáveis (%)
0,1 % 1 h	50
0,1 % 2 h	75
0,3 % 1 h	60
0,3 % 2 h	75
0,5 % 1 h	65
0,5 % 2 h	85

Tabela 2. Resumo da análise de variância de tratamentos com solução de tetrazólio aplicados a sementes de imbuia da procedência Colombo, PR.

	GL	SQ	QM	F
Tratamentos	5	0,1400	0,0280	0,27 n.s.
Resíduo	18	1,8552	0,1030	
Total	23	1,9952		

De acordo com a análise de variância, não houve diferenças significativas entre tratamentos. Entretanto, observou-se maiores percentuais absolutos de sementes viáveis dentro de cada concentração de tetrazólio utilizada, quando dobrou-se o tempo de exposição (75 % por 2 h x 50 % por 1 h na concentração de 0,1 %; 75 % por 2 h x 60 % por 1 h na concentração de 0,3 % e 85 % por 2 h x 65 % por 1 h na concentração de 0,5 %).

Observou-se, também, que dentro de cada tempo de exposição, os percentuais de sementes viáveis aumentaram com o aumento da concentração do sal de tetrazólio (50 % x 60 % x 65 %, respectivamente, nas concentrações de 0,1 %, 0,3 % e 0,5 % em uma hora de exposição, e 75 % x 75 % x 85 % nas concentrações de 0,1 %, 0,3 % e 0,5 % em duas horas de exposição).

Em não havendo diferença entre os tratamentos, a embebição de sementes em solução de tetrazólio a 0,1 % por uma hora seria o mais econômico. Entretanto, o tratamento mínimo aplicado que permite discriminar

sementes viáveis com maior nitidez foi a partir da concentração de 0,5 % aplicada durante uma hora. Assim sendo, recomenda-se a aplicação destas concentrações e tempo para a avaliação da viabilidade de sementes de imbuia.

Embora seja prescrito pelas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992a) que o teste de tetrazólio seja realizado com duas amostras de 100 sementes ou quatro amostras de 50 sementes, foram utilizadas quatro amostras de dez sementes, que eram as sementes disponíveis, tendo em vista que outras sementes foram utilizadas em experimentos de germinação. Entretanto, França Neto (1994) sugere que o teste de tetrazólio seja realizado com menor número de sementes, quando as condições em que estas são submetidas ao teste são homogêneas, o que aconteceu neste caso.

No presente trabalho, todas as concentrações de tetrazólio e tempos de exposição foram suficientes para colorir, em média, de 50 % a 85 % das sementes de imbuia. Em solução de tetrazólio a 0,1 % por uma ou duas horas, Silva e Aguiar (1998) não conseguiram sucesso com sementes de *Ocotea catharinensis*. Estes autores, entretanto, conseguiram 100 % de sementes viáveis nas soluções a 0,3 % e 0,5 % por uma ou duas horas.

Wetzel et al. (1992) não conseguiram sementes viáveis de *Hevea brasiliensis* mantidas por duas a três horas em solução de tetrazólio a 0,1 % a 40 °C. A 25 °C por duas horas e a 35 °C por duas horas e meia, estes autores obtiveram 60,5 % de sementes viáveis, resultados semelhantes aos obtidos por Botelho et al. (1995) com *Peltophorum dubium* e Davide et al. (1995) com *Platycomus regnellii*.

Neste trabalho, em valores absolutos, a maior percentagem de sementes viáveis de imbuia foi encontrada quando as sementes foram expostas em tetrazólio a 0,5 % por duas horas, embora este tratamento não tenha sido significativamente superior aos demais. Trabalhando com *Hevea brasiliensis*, também encontraram 100 % de sementes viáveis, utilizando solução de tetrazólio a 0,5 % por duas horas, desde que o tempo prévio de embebição em água fosse de 18 horas. Quando o tempo de embebição caiu para seis horas, o tempo de exposição em tetrazólio precisou ser de três horas para uma boa coloração de sementes de *Hevea brasiliensis*.

Silva e Aguiar (1998) recomendam a pré-embebição por cinco horas e a imersão na solução de tetrazólio a

0,3 % por uma hora para avaliar a viabilidade de sementes de *Ocotea catharinensis*, pois 0,3 % por uma hora foi tão eficiente quanto 0,5 % por duas horas.

As médias obtidas permitem concluir que a imersão de sementes de imbuia por duas horas na solução de tetrazólio a 0,5 % foi o tratamento que apresentou o maior número de sementes viáveis. À medida que as concentrações e o tempo de exposição foram aumentados, o percentual de sementes viáveis aumentou (T1 0,1% por 1 h – 50 % até T6 0,5 % por 2 h – 85 %).

Não houve diferença entre as concentrações de tetrazólio e os tempos de imersão das sementes de imbuia.

Agradecimentos

Ao Sr. Antonio Sadao Kodama, pela valiosa colaboração na coleta das sementes no Município de Colombo, PR.

Referências

- ASSOCIAÇÃO DE ANALISTAS OFICIAIS DE SEMENTES. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 85 p.
- BAITELLO, J. B. *Ocotea catharinensis*. In: *Centúria plantarum brasiliensium extinctions miniatota*. Rio de Janeiro. Sociedade Botânica do Brasil. p.167. 1992.
- BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M.; OLIVEIRA, L.M. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de angico-amarelo (*Peltophorum dubium*) (Spreng.) Taub) Informativo ABRATES, Brasília, v. 5, n. 2, p.172. 1995.
- BRASIL Portaria nº 06-N Lista oficial da flora brasileira ameaçadas de extinção. Diário Oficial. Brasília. 23.01.92. p. 870-872. 1992a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Coordenação de Laboratório Vegetal. 1992b. 365 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Colombo: Embrapa CNPF; Brasília: SPI, 1994. 639p.
- DAVIDE, S.A.; BOTELHO, M.M.; MALAVASI, M.M.; OLIVEIRA, M.M. Avaliação da viabilidade de sementes de pau-pereira (*Platycomus regnellii*/ Benth.) **Informativo Abrates**. Brasília, v. 5, n.2, p. 178. 1995.
- DELOUCHE, J. C.; STILL, T. W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste de tetrazólio para viabilidade da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura. AGIPLAN, 1976.

- FRANÇA NETO, J. B. O teste do tetrazólio em sementes de soja; **In: VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. Testes de vigor em sementes** Jaboticabal, FUNEP, p. 87-102. 1994.
- HANDRO, W. Contribuição ao estudo da unidade de dispersão e da plântula de *Andira humilia* Mart. ex. Benth. (Leguminosae-Lotoideae). São Paulo. Universidade de São Paulo. 189p. (Tese de Doutorado). 1968.
- KAGEYAMA, P. Y.; VIANA, V. M. Tecnologia de sementes e grupos ecológicos de espécies arbóreas tropicais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE TECNOLOGIA DE SEMENTES FLORESTAIS, 2, Atibaia, SP out. 16-19, 1989. Anais... São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Instituto Florestal, p. 197-215. 1991.
- KALIL FILHO, A. N.; SOUSA, V. A. DE; MARZOLLO, L. G.; HIRANO, E.; Dinâmica da germinação de sementes de progênies de populações de imbuia (*Ocotea porosa* Nees et Martius ex. Nees, Lauraceae) do Paraná e de Santa Catarina. **Boletim de Pesquisa Florestal** n. 48 p. 121-128. jan./jun. 2004.
- KUHN, R.; JERCHEL, D. Über invertseifen. VIII: Mit, reduction von tetrazoliumsalzen durch Bakterien, gärende Hefe und Keimende Samen. **Ber. Deutschland Chemical Gesellschaft**, v. 74. p. 949-952. 1941.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa. Editora Plantarum Ltda. 352 p. 1992.
- PASZTOR, Y. de C. Teste abreviado de germinação de *Araucária angustifolia* – embriões nus. **Silvicultura em São Paulo**. São Paulo. v. 2, p. 285-290. 1962/1963.
- PIANA, Z.; TILLMANN, M. A.; SILVA, W. R. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes através de testes rápidos. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 3, n. 1, p. 37-46. 1992.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; SANTOS, N. R. F. Teste de tetrazólio. In: PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. (coord.). **Manual de análise de sementes florestais**. IF. Série Regional, Campinas, Fundação Cargill, p. 91-100. 1988.
- PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; VALENTINI, S. R. T. Aplicação do teste de tetrazólio. In: SILVA, A.D.A.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M. FIGLIOLIA, M.B. (coord.). **Manual Técnico de Sementes Florestais**. IF Série Regional, v. 14. p. 61-73. 1995.
- REIS, G. G.; RENA, A. B. Estudo sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth.): viabilidade, perda e absorção de água, respiração e presença de inibidores. **Revista Árvore**. Viçosa. v. 2, n. 2. p. 105-119. 1987. RIZZINI, C. T.;
- MATTOS FILHO, A. Espécies vegetais em extinção. **Boletim FBCN**. Rio de Janeiro. v. 21. p. 99-103. 1986.
- SILVA, A. da; AGUIAR, I. B. de Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de canela-preta (*Ocotea catharinensis* Mez – Lauraceae pela cultura *in vitro* de eixos embrionários e pelo teste de tetrazólio. **Revista do Instituto Florestal**. São Paulo, v. 10, n. 1. 1998.
- WETZEL, M. M. V. S.; CICERO, S. M.; FERREIRA, B. C. S. Aplicação do teste de tetrazólio em sementes de seringueira. **Revista Brasileira de Sementes**. Brasília., v. 14, n. 1. p. 83-88. 1992.

Recebido em 15 de agosto de 2008 e aprovado em 18 de dezembro de 2008